



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS DE INJERTO DE N-VINILCAPROLACTAMA Y 4-VINILPIRIDINA PARA INMOVILIZACIÓN DE ENZIMAS Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. VICTOR HUGO PINO RAMOS

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

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO DE 2018



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.

Resumen

El presente trabajo se desarrolló sobre la modificación superficial de películas de hule de silicona a través del injerto de N-vinilcaprolactama y 4-vinilpiridina en uno o dos pasos, mediante el uso de la técnica de injerto por radiación ionizante. Esto con la finalidad de obtener un material modificado con cierto carácter hidrofílico y capacidad de respuesta tanto al pH como la temperatura. Para la síntesis de los copolímeros de injerto, se estudiaron los efectos de concentración de monómero y la dosis aplicada. Los materiales obtenidos fueron caracterizados mediante diversas técnicas tales como: FTIR-ATR, SEM, ¹³C-RMN, DSC, TGA. Las películas modificadas (SR-*g*-NVCL, SR-*g*-4VP, SR-*g*-(NVCL/4VP) y (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL) mostraron un notable carácter hidrofílico gracias a la presencia de las cadenas injertadas. Los copolímeros de injerto presentaron un tiempo de hinchamiento límite de aproximadamente 24 horas. El grado de mojabilidad de los materiales fue analizado mediante la determinación del ángulo de contacto; el pH crítico y su respuesta a la temperatura (LCST) fueron ligeramente diferentes a los esperados. Los resultados obtenidos mediante TGA y el modulo de Young, confirmaron la obtención de un material híbrido, pues este conservó propiedades del hule de silicona y mostró las propiedades de las cadenas injertadas de 4-VP y NVCL.

Gracias a los grupos funcionales injertados en las películas, estas adquirieron la capacidad de cargar diclofenaco sódico y fosfomicina sódica de forma exitosa; adicionalmente, las películas modificadas mostraron capacidad para inmovilizar lisozima. El diclofenaco hospedado en las películas de SR-*g*-(NVCL/4VP) mostraron actividad bacteriostática contra *E. coli*; por otro lado, la enzima inmovilizada mostró actividad catalítica contra *M. lysodeikticus*. Las películas de SR-*g*-NVCL, SR-*g*-4VP, SR-*g*-(NVCL/4VP) y (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL mostraron buena biocompatibilidad celular en presencia de células embrionarias de ratón BALB/3T3, después de 24 y 48 horas de exposición.

Abstract

The present work was about the surface modification of silicone rubber films through the grafting of N-vinylcaprolactam and 4-vinylpyridine in one or two steps, by means of the grafting-radiation technique. This is, to obtain a modified material with a hydrophilic character and responsiveness to both pH and temperature. For the synthesis of the graft copolymers, the effects of monomer concentration and the applied dose were studied. The materials obtained were characterized by several techniques such as: FTIR-ATR, SEM, ¹³C-NMR, DSC, TGA. The modified films (SR-*g*-NVCL, SR-*g*-4VP, SR-*g*-(NVCL/4VP) and (SR-*g*-4VP) -*g*-NVCL) showed a remarkable hydrophilic character thanks to the presence of the chains grafted. The graft copolymers showed a limit swelling time of approximately 24 hours. The degree of wettability of the materials was analyzed by determining the contact angle; the critical pH and their response to temperature (LCST) were slightly different from those expected. The results obtained by TGA and the Young's modulus confirmed the obtaining of a hybrid material, since it retained properties of silicone rubber and showed the properties of the grafted chains of 4-VP and NVCL.

Thanks to the functional groups present on the polymeric grafted chains onto the films, these acquired the ability to successfully load diclofenac sodium and fosfomycin sodium; additionally, the modified films showed ability to immobilize lysozyme. The diclofenac hosted in the SR-*g*- films (NVCL/4VP) showed bacteriostatic activity against *E. coli*. On the other hand, the immobilized enzyme showed catalytic activity against *M. lysodeikticus*. The films of SR-*g*-NVCL, SR-*g*-4VP, SR-*g*- (NVCL/4VP) and (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL showed good cellular biocompatibility in the presence of BALB/3T3 mouse embryonic cells, after 24 and 48 hours of exposure.

Esta tesis doctoral desarrollada en el Laboratorio de Macromoléculas del Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica del Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM, México; bajo la asesoría del Doctor Emilio Bucio Carrillo, y el apoyo de la Doctora Carmen Álvarez Lorenzo del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela, España.

Publicaciones:

Durante mis estudios de doctorado se realizaron las siguientes publicaciones:

- [1] One-step grafting of temperature-and pH-sensitive (N-vinylcaprolactam-co-4-vinylpyridine) onto silicone rubber for drug delivery. **Victor H. Pino-Ramos**, Carmen Alvarez-Lorenzo, Angel Concheiro, and Emilio Bucio. *Des. Monomers Polym.* 20, 33-41 (2017).
- [2] Radiation grafting for the functionalization and development of smart polymeric materials. **Víctor H. Pino-Ramos**, Alejandro Ramos-Ballesteros, Felipe López-Saucedo, Jesús E. López-Barrigete, Gustavo H. C. Varca, and Emilio Bucio. *Top. Curr. Chem.* 374, 63 (2016).
- [3] Radiation-grafting of biopolymers and synthetic polymers: Synthesis and biomedical applications. **Victor H. Pino-Ramos**, H. Iván Meléndez-Ortiz, Alejandro Ramos-Ballesteros, and Emilio Bucio. *Biopolymer Grafting: Applications* Chapter 6 pp 205-250. Elsevier ISBN:978-0-12-810462-0.

Congresos:

Los resultados obtenidos en mis estudios de doctorado fueron presentados en los siguientes eventos.

- Presentación de poster en el evento organizado por la 251st ACS National Meeting & Exposition (ACS), en San Diego, California, USA.
- Presentación de poster en el XVI Brazilian MRS meeting, organizado por la Brazilian Research Material Society, en Gramado, RS, Brasil.
- Presentación de poster en el XXIV International Materials Research Congress, llevado a cabo en Cancún, Quintana Roo, México.
- Presentación oral en el VIII Congreso Nacional de Ciencia e Ingeniería en Materiales, llevado a cabo en Cuernavaca, Morelos.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por darme la oportunidad de alcanzar esta meta.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por el apoyo económico recibido a través de una **beca de Doctorado** (N° de registro **409755**).

Al **Dr. Emilio Bucio Carrillo** por permitirme trabajar bajo su asesoría a lo largo del presente trabajo.

A la **Dra. Carmen Álvarez Lorenzo** y el **Dr. Ángel Concheiro** de la **Universidad de Santiago de Compostela (USC)**, España, por sus valiosos aportes, correcciones y hospitalidad recibida.

A la **Dra. Guillermina Burillo** por todas sus enseñanzas y a la **Dra. Alejandra Ortega** por su valiosa asistencia técnica. También quiero agradecer a mis compañeros del laboratorio de macromoléculas por todos los momentos agradables que convivimos juntos.

A la **Dra. Alicia Negrón Mendoza** por todo su apoyo en la utilización de equipo de HPLC-Masas. A los M. en C. Adriana Meléndez y Jorge Castañeda por su invaluable ayuda en el manejo del equipo HPLC-Ms, a la QFB Claudia Camargo por su apoyo incondicional; todos pertenecientes al Instituto de Ciencias Nucleares (ICN-UNAM).

A la **Dra. Beatriz Magariños** y a la **Dra. Bárbara Blanco Fernández**, por su valioso apoyo en la realización de los ensayos microbiológicos y de citotoxicidad, respectivamente. A la técnico **Lidia Pereiro** por su apoyo en el laboratorio y amistad incondicional; todas de la **Universidad de Santiago de Compostela (USC)**, España.

Al **M. en C. Eliezer Hernández Mecinas** por su ayuda en el estudio de las propiedades mecánicas; al **M. en C. Gerardo Cedillo Valverde** por su apoyo en los análisis de ¹³C-RMN de los materiales, ambos del Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM-UNAM).

Al **M. en C. Benjamín Leal** y al **Fis. Francisco García** por su ayuda en la irradiación de las muestras.

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

A los miembros del jurado, por sus valiosas correcciones para mejorar la calidad de este manuscrito.

Al proyecto **PAPIIT IN201617**.

Dedicatorias:

Gracias a **Dios** por darme la oportunidad de concluir esta etapa y poder crecer como persona y como profesional.

A mi **mamá**, por todo su cariño y comprensión, que como toda fiel amiga, siempre me apoya en las buenas y en las malas. Si fallo me corrige y levanta pero nunca de mala gana; si acierto, me sonrío y abraza.

A mi **papá**, Don Felipe de Jesús Pino Reyes por todos sus sacrificios, siempre ejemplo de lucha y dedicación. Implacable hombre de trabajo que supo forjar hombres y mujeres hacia el camino correcto, más que con palabras, con ejemplos.

A todas mis hermanas, pero en especial a **Fabiola, Edith y Leticia** por tantos momentos de charla y por toda la confianza depositada en mí.

Mi más sincero agradecimiento a mis hermanos **Rodolfo y Gerardo** por su cariño y comprensión; que sin saberlo, fueron en silencio un ejemplo de camino recto y de trabajo. Nada sería de mí sin ustedes.

A **Maggie** Torres, por todos los consejos brindados y por ofrecerme su hombro cuando me encuentro abajo. Gracias por siempre estar siempre ahí y confiar en mí.

A todos y cada uno de mis **amigos** que han alegrado tantos días de mi vida y que me han sabido arropar como un hermano en sus vidas.

A todos mis **sobrinos**, que siempre me mostraron la dicha de ver las cosas simples con mucha alegría. Porque quizá, yo he aprendido más de ustedes que ustedes de mí.

A todas las personas que han creído en mí y me han apoyado a lo largo de este camino; sin embargo, también se lo dedico a aquellas personas que no creyeron, pues es gracias a ellos que mantuve el coraje para hacerlo.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dra. LARISSA ALEXANDROVA
Dra. ELIZABETH PIÑÓN SEGUNGO

MIEMBROS DEL COMITÉ JURADO DE TESIS

Dra. ALICIA NEGRÓN MENDOZA
Dra. FLORA ADRIANA GANEM RONDERO
Dra. ELIZABETH PIÑÓN SEGUNDO
Dr. ERNESTO RIVERA GARCÍA
Dr. ALBERTO RUIZ TREVIÑO

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	1
2 OBJETIVOS	3
3 GENERALIDADES	4
3.1 Biomateriales	4
3.1.1 Infecciones relacionadas con dispositivos médicos	5
3.1.2 Modificación superficial de polímeros	6
3.1.3 Polímeros como acarreadores de fármacos	7
3.1.4 Diclofenaco sódico	9
3.1.5 Fosfomicina sódica	9
3.2 Polímeros estímulo-sensibles	10
3.2.1 Polímeros termo-sensibles	12
3.2.2 Temperatura crítica superior de disolución “UCST”	12
3.2.3 Temperatura crítica inferior de disolución “LCST”	13
3.2.4 N-vinilcaprolactama (NVCL)	14
3.2.5 Polímeros pH-sensibles	14
3.2.6 4-Vinilpiridina (4VP)	16
3.3 Copolímeros de injerto	17
3.3.1 Metodologías para la obtención de un copolímero de injerto	18
3.3.2 Injerto mediante radiaciones gamma	18
3.3.3 Métodos utilizados para realizar un injerto con radiación gamma	19
3.3.4 Factores que influyen en el proceso de injerto	20
3.4 Copolímeros de injerto en uno y dos pasos	21
3.4.1 Radiación ionizante	22
3.4.2 Cobalto 60 (⁶⁰ Co)	22
3.4.3 Los rayos β	23
3.4.4 Rayos γ	23
3.5 Interacción de energía ionizante con la materia	24
4 PARTE EXPERIMENTAL	25
4.1 Síntesis de los copolímeros de injerto SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP), un paso	26
4.1.1 Efecto del disolvente	27
4.1.2 Efecto de la concentración de los monómeros	28
4.1.3 Estudio del efecto de la dosis aplicada en el porcentaje de injerto	28
4.2 Síntesis de los copolímeros de injerto (SR- <i>g</i> -4VP)- <i>g</i> -NVCL, en dos pasos	28
4.2.1 Síntesis de SR- <i>g</i> -4VP y SR- <i>g</i> -NVCL	29
4.2.2 Síntesis de (SR- <i>g</i> -4VP)- <i>g</i> -NVCL y (SR- <i>g</i> -NVCL)- <i>g</i> -4VP	29
4.3 Caracterización.	30

4.3.1 Espectroscopía IR-ATR	30
4.3.2 Espectroscopía Raman	31
4.3.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	31
4.3.4 Análisis termogravimétrico	31
4.3.5 Resonancia magnética nuclear (RMN)	31
4.3.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía dispersiva de energía de rayos X (EDX)	32
4.3.7 Modulo de elasticidad	33
4.4 Propiedades físico-químicas	
4.4.1 Grado de mojabilidad (ángulo de contacto)	33
4.4.2 Hinchamiento límite	34
4.4.3 pH crítico	35
4.4.4 Estudio del efecto de la NVCL sobre el pH crítico de la 4VP	35
4.5 Temperatura crítica de respuesta (UCST y LCST)	35
4.5.1 Estudio del efecto de la 4VP sobre la LCST de NVCL	36
4.6 Carga diclofenaco	36
4.6.1 Desorción de diclofenaco	36
4.6.2 Ensayo de actividad antimicrobiana	37
4.6.3 Ensayo de actividad bacteriostática	37
4.8 Inmovilización de lisozima	38
4.8.1 Desorción de lisozima	38
4.8.2 Estudio de la actividad catalítica de la enzima inmovilizada	38
4.8.2 Ensayo de actividad antimicrobiana de la lisozima inmovilizada	39
4.9 Carga de fosfomicina	39
4.9.1 Desorción y cuantificación de fosfomicina	39
4.10 Estudio de citotoxicidad	41

5 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Síntesis de copolímeros aleatorios (SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	41
5.1.1 Efecto del disolvente	42
5.1.2 Efecto de la concentración del monómero	44
5.1.3 Efecto de la dosis	45
5.2 Síntesis de (SR- <i>g</i> -4VP)- <i>g</i> -NVCL y (SR- <i>g</i> -NVCL)- <i>g</i> -4VP	45
5.2.1 SR- <i>g</i> -4VP	45
5.2.2 SR- <i>g</i> -NVCL	46
5.2.3 Síntesis de los copolímeros de injerto en dos pasos	48
5.3 Caracterización	49
5.3.1 Análisis IR-ATR de SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	49
5.3.1.1 Análisis IR-ATR de SR- <i>g</i> -4VP y (SR- <i>g</i> -4VP)- <i>g</i> -NVCL	50
5.3.1.2 Análisis IR-ATR de SR- <i>g</i> -NVCL y SR- <i>g</i> -NVCL-Lis	51
5.3.2 Espectroscopía Raman	52
5.3.3 Calorimetría diferencial de barrido	53
5.3.4 Análisis termogravimétrico	55
5.3.5 Resonancia magnética nuclear de ¹³ Carbono	57

5.3.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	60
5.3.6.1 Análisis transversal y Profundidad de injerto	61
5.3.6.2 Espectroscopía dispersiva de energía de rayos X (SEM-EDS)	63
5.3.7 Modulo de elasticidad	67
5.4 Propiedades físico-químicas	69
5.4.1 Grado de mojabilidad (ángulo de contacto)	69
5.4.2 Hinchamiento límite de SR-g-(NVCL/4VP)	72
5.4.3 pH crítico.	75
5.4.4 Temperatura crítica de respuesta (UCST y LCST)	76
5.4.5 Estudio del efecto de la NVCL sobre el pH crítico de la 4VP	77
5.4.6 Estudio del efecto de la 4VP sobre la LCST de NVCL	78
5.5 Carga de diclofenaco sódico	79
5.5.1 Desorción de diclofenaco	82
4.5.2 Ensayo de actividad antimicrobiana	83
5.5.3 Ensayo de actividad bacteriostática	84
5.6 Inmovilización de lisozima	85
5.6.1 Desorción de lisozima	86
4.6.2 Estudio de la actividad catalítica de la enzima inmovilizada	86
5.6.3 Ensayo de actividad antimicrobiana de la lisozima inmovilizada	87
5.7 Desorción y cuantificación de fosfomicina	88
5.8 Estudio de citocompatibilidad (ensayo MTT)	91
6 CONCLUSIONES	94
REFERENCIAS	95
ANEXOS	
APÉNDICE (PUBLICACIONES)	

Lista de abreviaturas

%	Porcentaje
°C	Grado centígrado
°	Grado (ángulo de contacto)
α	Alfa
β	Beta
δ	Desplazamiento químico
⁶⁰ Co	Cobalto 60
⁶⁰ Ni	Níquel 60
μm	Micra
μL	Microlitros
μg	Microgramos
μg/mL	Microgramos por mililitro
4VP	4-Vinilpiridina
AIBN	2,2'-azobisisobutironitrilo
ATCC	American Type Culture Collection (colección de cultivo tipo americano)
BALB	Cepa albina extraída del ratón doméstico
¹³ C	Carbono 13 (RMN)
C	Carbono
C-C	Enlace Carbono-Carbono
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₃ CN	Acetonitrilo
CH ₃ SO ₂ Cl	Cloruro de metansulfonilo
CH ₃	Metilo
CH ₂	Metileno
C=O	Grupo carbonilo
CP/MAS	Cross-Polarization Angle Magic-Spinning
CH ₃ CN	Acetonitrilo
cm	Centímetro
d	Doblete
dd	Doble de dobletes
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
Gy	Gray
DMF	N,N dimetilformamida
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
FOS	Fosfomicina sódica
-g-	Injerto
¹ H	Protón (RMN)
H	Hidrógeno
h	Horas
Hex	Hexano
HPLC-Ms	Cromatografía de líquidos de alta resolución acoplado a masas
HR	Humedad relativa
HS	Hule de silicona
Hz	Hertz
Kv	Kilo volts
IR-ATR	Espectroscopía infrarroja con reflectancia total atenuada
KeV	Kilo electronvolts
kGy	KiloGray

LCST	Temperatura crítica inferior de disolución
Lis	Lisozima
M+	Ión molecular
M	Molar
MeV	Mega electronvolts
mg	Miligramo
Mg/g	Miligramos por gramo
mmol	Milimoles
NVCL	N-vinilcaprolactama
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mm de Hg	Milímetros de mercurio
mmol	Milimol
nm	Nanómetro
MPa	Megapascales
m/z	Relación masa-carga
MTT	Bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazolio
pH	Potencial de hidrógeno
pKa	Constante de ionización ácida
PNVCL	Poli N-vinilcaprolactama
P4VP	Poli 4-vinilpiridina
ppm	Partes por millón
PDMS	Poli dimetilsiloxano (silicona)
RMN	Resonancia magnética nuclear
SEM	Microscopía electrónica de barrido
SEM-EDX	Espectroscopía electrónica de energía dispersiva de rayos X
Temp.	Temperatura
Tg	Temperatura de transición vítrea
THF	Tetrahidrofurano
Tc	Temperatura crítica
TGA	Análisis termogravimétrico
RMN	Resonancia magnética nuclear
rpm	Rotaciones por minuto
<i>S. Aureus</i>	Staphylococcus aureus
SBF	Solución buffer de fosfato
<i>S. Epidermidis</i>	Staphylococcus epidermidis
SR	Hule de silicona
U	Unidad de actividad enzimática
UFC	Unidades formadoras de colonias
U/g	Unidad enzimática por gramo
UV-vis	Región Ultravioleta-visible
UCST	Temperatura crítica superior de disolución

Capítulo 1

Introducción

La importancia de los polímeros para la manufactura de dispositivos médicos es tan elevada que en los recientes años ha surgido un reciente interés por sintetizar novedosos biomateriales o mejorar las propiedades de los polímeros existentes con la finalidad de optimizar su desempeño y mejorar su biocompatibilidad con el cuerpo humano y los tejidos del mismo.

La modificación superficial de polímeros de uso biomédico con grupos hidrofílicos tiene como finalidad el mejoramiento de su biocompatibilidad, ya que se sabe que los polímeros con carácter hidrofóbico generalmente no son bien recibidos por el cuerpo humano causando su rechazo, además pueden provocar efectos tales como enrojecimiento, inflamación en la zona de implante o en el peor de los casos debido a su naturaleza hidrofóbica, ser propensos a la adhesión bacteriana, fenómeno que provoca infecciones y graves complicaciones de salud al paciente en cuestión. El alcance de la funcionalización superficial de los polímeros no queda reducida solo al mejoramiento de la hidrofiliidad, si no que estos pueden ser utilizados como sistemas de transportadores de fármacos, principalmente de agentes antiinflamatorios y antibióticos o biocidas; por lo que representarían una potencial solución a la problemática de los efectos secundarios antes mencionados que provoca el implante de un material polimérico en el tejido vivo.

La síntesis de materiales poliméricos como agentes transportadores de fármacos busca el aprovechamiento de las propiedades mecánicas del polímero matricial y las propiedades hidrofílicas de las especies químicas injertadas.

La modificación de materiales poliméricos convencionales adquiere mayor relevancia cuando se habla de temas de gran interés científico tales como la resistencia bacteriana, que de acuerdo a muchos expertos, esta es causada por la exposición innecesaria de la flora bacteriana a los antibióticos durante el tratamiento de alguna infección mediante una administración inadecuada del biocida. Mientras que la mayor parte de la comunidad

científica enfoca sus esfuerzos en la búsqueda y síntesis de nuevos agentes antimicrobianos para combatir la resistencia bacteriana, una parte de dicha comunidad cree que un avance a la solución de esta problemática que claramente la están ganando los microorganismos, está en la optimización de los antibióticos mediante la vectorización, es decir, la administración del principio activo en la zona requerida.

La funcionalización superficial de un polímero con ciertos grupos funcionales tales como: amidas, aminas, éteres, ésteres, etc. le puede conferir sensibilidad a las variaciones de ciertos estímulos externos como: temperatura, pH, fuerza iónica, campo eléctrico o magnético, luz de ciertas longitudes de onda, entre otras. A los polímeros que presentan esta característica se les considera materiales inteligentes o polímeros estímulo-sensibles, el cambio de sus propiedades físicas químicas al variar las condiciones del medio que los rodea, los pone en la mira de la comunidad científica. La respuesta no lineal y reversible que presenta un polímero frente al cambio del medio que los rodea puede ser aprovechada para hospedar, transportar y liberar fármacos de forma controlada y en un sitio preestablecido; cabe destacar que también es posible inmovilizar ciertas enzimas en este tipo de materiales funcionalizados.

La forma en que este tipo de materiales poliméricos presentan la capacidad de incorporar fármacos entre sus cadenas es a través de puentes de hidrógeno, interacciones iónicas y/o de van der Waals (electrostáticas); interacciones consideradas “débiles”, pero debido a la naturaleza cooperativa de este tipo de interacciones y a la cantidad elevada de grupos hidrofílicos presentes en las cadenas poliméricas es como la carga de un fármaco es posible.

Existen varios métodos ya sea químicos o físicos que pueden ser utilizados para la funcionalización superficial de un polímero, que incluyen iniciadores químicos o radiaciones ionizantes como: rayos X, rayos beta, gamma o en su caso, haces de electrones acelerados.

Capítulo 2

OBJETIVOS

- Sintetizar una serie de nuevos biomateriales poliméricos para inmovilización de enzimas y liberación controlada de fármacos, mediante la técnica de injerto por radiación ionizante y su aplicación en la liberación controlada de fármacos.
- Estudiar el comportamiento térmico de los copolímeros de injerto mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA).
- Caracterizar estructuralmente los materiales injertados mediante espectroscopía infrarrojo (FTIR-ATR), espectroscopía Raman y Resonancia magnética nuclear de carbono 13 (^{13}C -RMN CP-MAS).

- Analizar su superficie mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), y estudiar su composición mediante espectroscopía dispersiva de energía de rayos (SEM-EDX).
- Estudiar el carácter hidrofílico de los copolímeros de injerto obtenidos así como el grado de humectabilidad (ángulo de contacto) de dichos materiales.
- Estudiar su comportamiento a variaciones de pH y/o temperatura.
- Estudiar el efecto del comonómero (4-vinilpiridina) en la temperatura de respuesta (LCST) de la NVCL injertada.

- Estudiar la cinética de carga y liberación de los fármacos hospedados en los copolímeros de injerto, así también con la enzima inmovilizada en los mismos.
- Estudiar la citotoxicidad de los biomateriales sintetizados.

Capítulo 3

Generalidades

Un polímero es un compuesto macromolecular de peso molecular muy elevado constituido por unidades repetitivas llamadas monómero; puede ser de origen natural, semisintético o sintético. A diferencia de los naturales, los polímeros sintéticos son creados por el ingenio y habilidad del hombre como son el policloruro de polivinilo (PVC), nylon, polietileno, siliconas, poliésteres, entre muchos otros. Los polímeros son estructuras flexibles debido a que sus enlaces tienen rotación interna, lo que le confiere a la estructura un alto número de grados de libertad de rotación. Los materiales poliméricos pueden clasificarse de acuerdo a su composición; así los polímeros constituidos de una misma unidad repetitiva a lo largo de la cadena se conocen como homopolímeros y los que están constituidos por dos o más unidades repetitivas (monómeros) se conocen como copolímeros. Por otra parte, cuando a un polímero ya definido se le agrega una ramificación (inserción) mediante la adición secuencial de monómeros a través de enlaces covalentes, al nuevo material se le conoce como copolímero de injerto.

3.1 Biomateriales

Desde hace varias décadas los polímeros de uso biológico o biomateriales han sido de gran importancia para el hombre debido a que se les ha utilizado en un incontable número de tratamientos médicos con la finalidad de reemplazar o restaurar alguna función dentro del cuerpo humano. Los polímeros de origen sintético y semisintético han sido utilizados para la elaboración de dispositivos médicos; esto se debe a sus bajos costos de producción y su versatilidad en la elaboración de diversas formas y moldes. Polímeros tales como silicona, polipropileno (PP), polietileno (PE), PVC, poliuretanos (PU's), son algunos ejemplos de materiales poliméricos que han alcanzado una enorme importancia en el campo de la medicina, gracias a su presencia en un sin número de dispositivos médicos debido a sus propiedades mecánicas, térmicas, físicas y químicas¹. No obstante,

en años más recientes se ha descubierto que este tipo de materiales presentan un serio inconveniente debido a su naturaleza hidrofóbica, que es el de la contaminación bacteriana; lo cual hizo voltear la mirada de los científicos hacia los polímeros naturales, ya que estos presentan una alta compatibilidad con el organismo vivo debido a su hidrofiliidad, es por ello que son ampliamente utilizados en formulaciones farmacéuticas. Sin embargo, los polímeros naturales no son muy aplicables en el área de los implantes médicos debido a sus pobres propiedades mecánicas, lo cual ha dado origen al estudio de la modificación superficial de los polímeros sintéticos.

Son varios los factores que determinan las propiedades y desempeño de un biomaterial, entre los que destacan su composición, hidrofiliidad, biocompatibilidad, propiedades mecánicas, biodegradabilidad, estabilidad, entre otros. Estas propiedades son las que definirán cuál o cuáles serán las aplicaciones biomédicas de un polímero.

3.1.1 Infecciones relacionadas con dispositivos médicos

Una biopelícula consiste en la agrupación de miles o millones de microorganismos alrededor de cierto punto (Figura 1), esta población se mantiene en constante comunicación y su reagrupación es tal que los antibióticos pierden su efectividad antimicrobiana², gracias a que estos forman una barrera de exopolisacáridos, proteínas y otros compuestos de la matriz extracelular (MEC) capaz de evitar la penetración del agente biocida^{3, 4}. Por lo tanto, la formación de una biopelícula funciona como mecanismo de defensa que las bacterias promueven al estar en una comunidad organizada⁵. Algunas de las bacterias que tienen mayor presencia en los implantes poliméricos son *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*⁶. La formación de biopelículas asociadas a implantes poliméricos representa un serio problema a nivel mundial⁷, debido a que estas organizaciones bacterianas acentúan aun más la problemática de la multirresistencia⁸. Se sabe que las biopelículas son 1000 veces más resistentes a los antibióticos que las bacterias no asociadas, por lo que su erradicación constituye un enorme reto durante un tratamiento médico en el que la vida del paciente se encuentra en constante riesgo⁹. La apuesta más común en estos casos es el aumento de la dosis del antibiótico aplicado; dicha acción puede ocasionar daño hepático u otros efectos indeseables al paciente. Se sabe que implantes tales como catéteres urinarios tienen un riesgo del 100% de contaminarse, y que un alto porcentaje de estas infecciones no tendrán un final deseable¹⁰. Sin embargo, no son los únicos, otro tipo de implantes poliméricos presentan alta probabilidad de contaminarse debido a su carácter

hidrofóbico¹¹; ya que esta característica favorece la adhesión bacteriana. Por lo tanto, una forma de erradicar esta cuestión, es modificar la hidrofobicidad de los materiales que constituyen los implantes médicos de origen polimérico con la finalidad de disminuir su hidrofobicidad a través de la inserción de grupos hidrofílicos^{12, 13}.

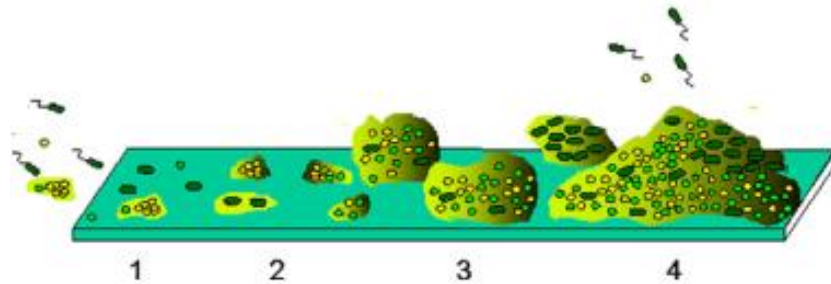


Figura 1. Contaminación de un polímero y el proceso de formación de una biopelícula.

3.1.2 Modificación superficial de polímeros

El criterio inicial de selección de materiales para la elaboración de implantes poliméricos se llevó a cabo de manera pragmática, se tomaron en cuenta varios criterios tales como resistencia a la degradación, costos, maleabilidad, flexibilidad y otras propiedades físico químicas. Con el paso del tiempo y el afán por tratar de resolver problemas de enorme importancia biomédica es como la comunidad científica se empezó a cuestionar e investigar más a fondo el papel que juegan los implantes poliméricos en los casos de infecciones hospitalarias. Esto originó una nueva área de investigación que se dedicaría a la síntesis de nuevos biomateriales o el mejoramiento de los ya existentes a través de alguna modificación de sus propiedades originales.

La superficie de un dispositivo médico es de gran importancia ya que es esta la que entra en contacto con la sangre, fluidos, proteínas, etc. y la causante de inflamación en el tejido vivo cuando ésta es hidrófoba^{14, 15}. La modificación superficial de polímeros utilizados ampliamente para la elaboración de dispositivos médicos, surgió como una alternativa bastante interesante. La idea de esta estrategia está en la disminución de la hidrofobicidad de la superficie polimérica mediante la adición de grupos hidrofílicos sin perder las propiedades mecánicas del material inicial. Además, es sabido que las superficies hidrofílicas presentan mejor biocompatibilidad con el tejido vivo, es decir,

tienen mejor aceptación por el cuerpo y no muestran toxicidad. La modificación superficial mediante la formación de nuevos enlaces covalentes es la más utilizada debido a que este tipo de enlaces presenta mayor estabilidad y resistencia a la degradación por temperatura, disolventes, ácidos, etc¹⁶.

La funcionalización es una herramienta muy útil para introducir grupos funcionales de gran interés tales como aminas, ácidos carboxílicos, epóxidos, hidroxilos, ésteres, éteres, entre otros. Esta metodología va más allá del simple mejoramiento hidrofílico del material; ya que una superficie que ha sido modificada puede tener la capacidad de hospedar ciertos fármacos a través de interacciones débiles o por simple difusión^{17, 18}.



Figura 2. Modificación superficial de un polímero.

3.1.3 Polímeros como acarreadores de fármacos

Han sido publicados cientos de trabajos relacionados sobre polímeros de injerto y su potencial aplicación como agentes transportadores de fármacos; así como también para inmovilización de enzimas o como andamios celulares¹⁹. La utilización de polímeros como agentes transportadores de fármacos es muy interesante ya que además de transportar y liberar el fármaco en un sitio específico, brinda protección al fármaco; aumenta la biodisponibilidad²⁰, disminuye la citotoxicidad de ciertos agentes anticancerígenos al fungir como envoltura. Por si fuera poco, ayuda a disminuir las cantidades de antibiótico administrados por vía oral o intravenosa²¹, ayudando a mitigar la multirresistencia bacteriana en el caso de un transporte eficaz del fármaco, evita la exposición innecesaria de otras bacterias al antibiótico tal y como ocurre con los métodos de administración tradicionales²².

Hay un número elevado de moléculas que podrían ser utilizadas para funcionalizar un polímero y hacerlo posible transportador de fármacos, polietilenglicol (PEG) por ejemplo, ha sido empleado para transportar camptotecina, ácido aspártico y recubrir paclitaxel. La

poli(N-vinilcaprolactama) (PNVCL) es un polímero biocompatible y han sido publicados una serie de copolímeros con ácido acrílico (AAc), ácido metacrílico²³, N,N-dimetilaminoetilmetacrilato (DMAEMA), metil metacrilato (MMA), glicidil metacrilato (GMA), polietilenglicol metacrilato (PEGMA), entre otros²⁴; mismos que han mostrado alta efectividad en el transporte de streptomina²³, camptotecina²⁵, doxorubicina²⁶, inmovilizar enzimas²⁷, proteger de la degradación metabólica a 5-fluorouracilo²⁸ propranolol²⁹.

La forma en que el fármaco puede hospedarse entre la cadenas de un polímero es a través de interacciones débiles tales como las de van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones iónicas y electrostáticas (Figura 3); es por ello que es importante que existan grupos hidrofílicos en la superficie del biomaterial³⁰.

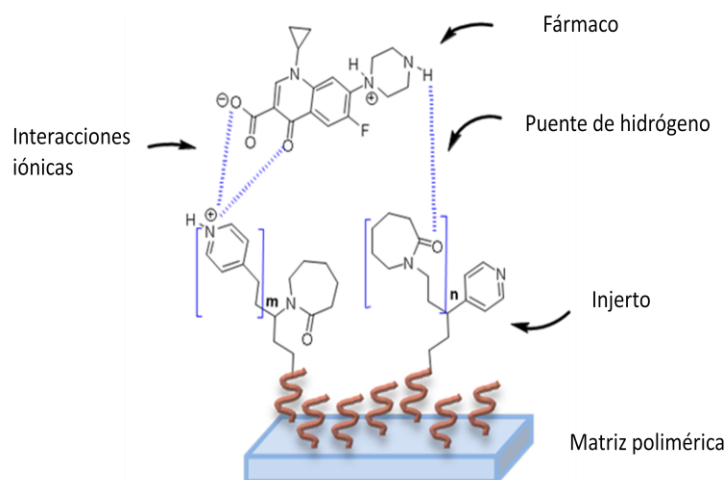


Figura 3. Interacciones entre un fármaco y las cadenas injertadas en una matriz polimérica.

La vectorización nos ayuda tener una liberación selectiva de principios activos en un sitio localizado, lo cual aumenta la eficacia del fármaco y minimiza los efectos secundarios. La liberación de fármacos a través de polímeros injertados es generalmente del tipo matricial, ya que el principio activo se encuentra disperso en la matriz polimérica^{22, 31}.

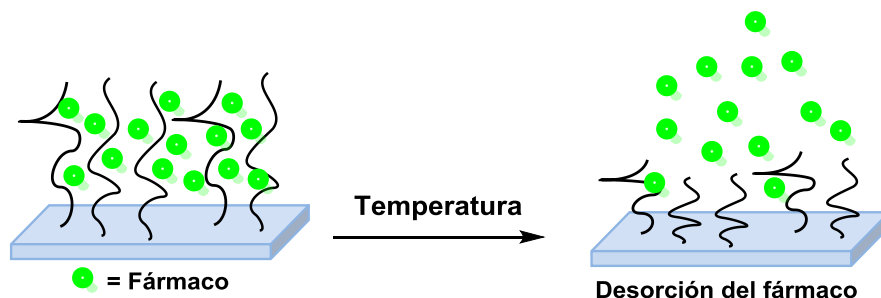


Figura 4. Liberación de un fármaco a partir de un sistema matricial termo-sensible.

3.1.4 Diclofenaco sódico

Es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) derivado del ácido fenilacético, soluble en agua, metanol y en etanol. Se une en un 99 % a proteínas plasmáticas. Tiene una masa molecular de 318.14 g/mol y su absorción máxima en el espectro UV-vis es a 283 nm (Figura 5). Se utiliza principalmente vía oral y vía tópica para el alivio del dolor y la inflamación en trastornos osteomusculares y articulares. Entre algunos de los efectos no deseados se encuentran la formación de úlceras debido a su ingesta oral así como irritación estomacal. Estudios realizados en los últimos años han demostrado su actividad bacteriostática contra un número importante de agentes infecciosos como son bacterias y hongos a concentraciones cercanas a las utilizadas para su actividad anti inflamatoria y presenta actividad bactericida a concentraciones por encima de los 100 mg/mL^{32, 33, 34}.

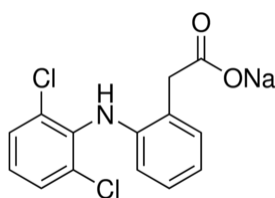


Figura 5. Estructura de diclofenaco sódico.

3.1.5 Fosfomicina sódica

El ácido (-)-(1*R*,2*S*)-(1,2-epoxi propil) fosfónico conocido comercialmente como fosfomicina, es un antibiótico originalmente aislado de *Streptomyces spp*. Este compuesto es un antimicrobiano de amplio espectro, es decir, presenta actividad contra bacterias

Gram positivas y Gram negativas³⁵; por lo que ha sido utilizado en tratamiento de diversas infecciones relacionadas al tracto urinario³⁶.

Presenta una eficacia relativamente alta en el tratamiento de este tipo de infecciones, incluso a las que presentan resistencia a los fármacos. La molécula de la fosfomicina es sencilla comparada con los demás antibióticos, teniendo un masa molecular de 182.1 g/mol (Figura 6). Su estructura consta de un anillo epóxido, misma que le confiere su actividad antibacteriana. El mecanismo de acción de este fármaco es a través de la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana al prevenir la síntesis de los peptidoglicanos que constituyen la misma. Además, debido a que en algunas terapias se requiere de una administración única o una sola toma al día, la fosfomicina sódica se convierte en una alternativa eficaz, eficiente e ideal para el tratamiento de infecciones bacterianas³⁷.

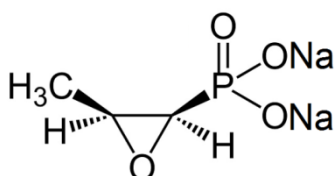


Figura 6. Estructura de Fosfomicina disódica (FOS).

3.2 Polímeros estímulo-sensibles

Los polímeros estímulo-sensibles son un tipo de materiales poliméricos que pueden presentar una cierta respuesta ante ligeras variaciones de un estímulo externo, pueden presentar una respuesta única o pueden ser combinados para generar dos o más mecanismos de respuesta en un mismo sistema. Un ejemplo de este tipo de sistemas son los polímeros termo-sensibles, los cuales presentan hinchamiento o colapso respecto a los cambios de temperatura, según sea el caso. Sin embargo, a este se le puede adicionar un polímero pH-sensible, esta combinación da un material con una respuesta dual, es decir, tendrá sensibilidad tanto a cambios de pH como a temperatura.

Este tipo de polímeros han despertado gran interés dentro de la comunidad científica debido al cambio de comportamiento que presentan al estar expuestos a factores externos como son: temperatura y pH, lo que los hace muy llamativos para potenciales

aplicaciones biomédicas. Es importante mencionar que también hay otros polímeros que pueden presentar una respuesta a factores tales como: campo magnético, fuerza iónica, luz, entre otros^{38, 39}; sin embargo, los que responden a pH y/o temperatura son los que están siendo estudiados de forma intensa. Sin lugar a duda, los polímeros termo y pH-sensibles se encuentran en el “top” de la investigación de biomateriales, esto se debe a que hay una firme creencia de que sus propiedades y conductas pueden ser aprovechados en el campo de la medicina, ya que tienen las cualidades necesarias para ser utilizados como sistemas de liberación o transportadores de fármacos³⁹. Esto tiene cierta lógica al tener en cuenta que el cuerpo humano presenta variaciones de pH en todo el cuerpo y que presenta variaciones de temperatura como una respuesta inmunológica al internarse un agente externo en el cuerpo⁴⁰.

Los polímeros estímulo-sensibles pueden ser clasificados en tres categorías de acuerdo a su forma física:

- Cadenas en disolución. El polímero se somete a una transición de fase reversible después de que un estímulo externo es aplicado, generalmente en medio acuoso.
- Hidrogeles o redes interpenetradas. Pueden ser cadenas micro o macroscópicas las que tienden a hinchar en el disolvente.
- Superficies de injerto, donde la superficie del polímero se hincha o colapsa reversiblemente convirtiendo la interface hidrofílica a hidrofóbica cuando un factor externo específico es modificado.

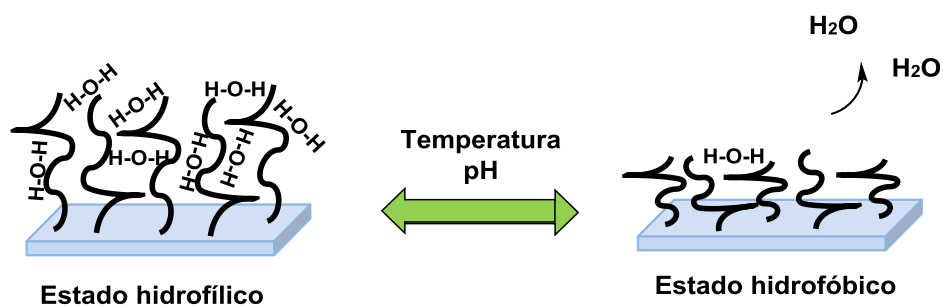


Figura 7. Comportamiento reversible en medio acuoso de un material estímulo-sensible.

3.2.1 Polímeros termo-sensibles

Los polímeros que presentan cambios conformacionales al experimentar variaciones de temperatura del medio acuoso que los rodea se conocen como polímeros termo-sensibles; este tipo de polímeros están constituidos anfifílicamente, es decir, tienen una parte hidrofílica y una parte hidrofóbica. Un polímero termo-sensible presenta la habilidad de hinchar o disolverse en medios acuosos, gracias a la formación de enlaces puente de hidrógeno entre el fragmento hidrofílico del polímero y el agua. Por otro lado, la parte hidrofóbica, es responsable de la autoasociación que experimentan las cadenas poliméricas por encima de la temperatura crítica (T_c), ya que estas establecen interacciones hidrofóbicas intramoleculares. Los polímeros que exhiben este comportamiento tienen por lo general grupos amida, éster, éter, anillos secundarios o terciarios en su estructura⁴¹.

En este caso se le conoce como T_c a la temperatura a la cual un polímero por encima de la cual el polímero se encuentra en el punto medio respecto a su transición de fase inducido por la variación de la temperatura, dentro de esta clase de polímero, esta transición se traduce en un cambio en el grado de hidrofiliidad o de hinchamiento³⁸. Esta transición es reversible y el valor de la T_c puede verse afectada por varios factores tales como la presencia de un comonomero pH-sensible, la longitud de la cadena o su combinación con un fragmento hidrofóbico, lo cual disminuiría el valor de la temperatura crítica; en caso de que se mezcle con un fragmento hidrofílico, el valor de T_c puede incrementar. En la Figura 7 se observa la representación esquemática de la transición de fase que experimenta esta especie de polímeros injertados.

3.2.2 Temperatura crítica superior de disolución “UCST”

Tal y como se observa en la Figura 8, hay algunos que presentan una respuesta positiva al incremento de la temperatura, los polímeros que experimentan este comportamiento pasando de un estado hidrofóbico a uno hidrofílico por encima de la temperatura crítica, se dice que tienen “*Upper Critical solution temperature*” o UCST (por sus siglas en ingles). Existen pocos trabajos realizados sobre polímeros que presenten UCST, esto es porque durante varios años se tuvo la idea de que no son tan versátiles como los polímeros que presentan LCST^{42, 43}.

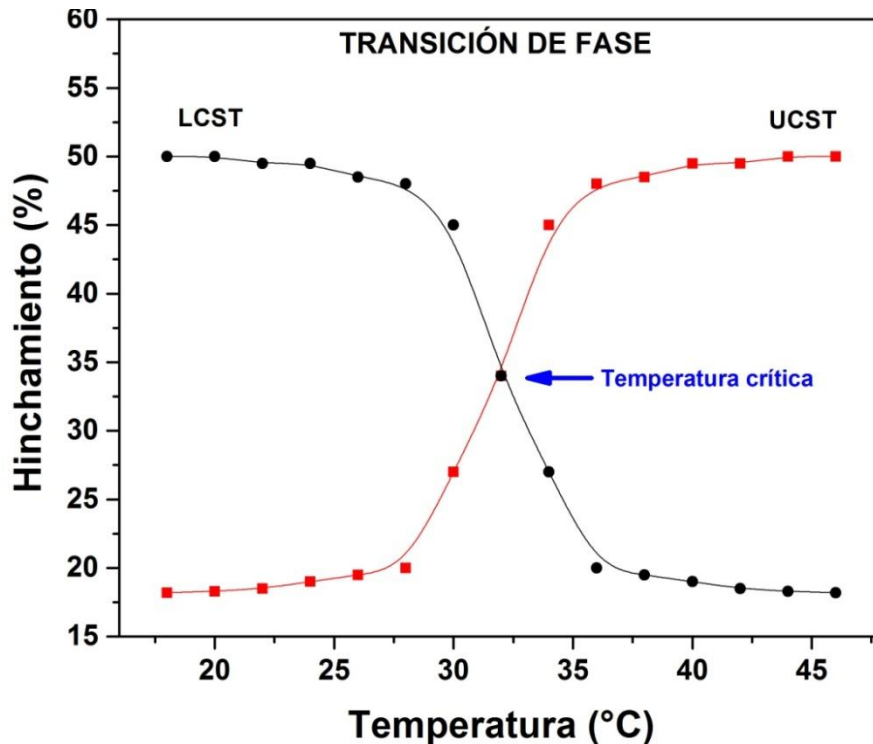


Figura 8. Representación esquemática de una transición de fase que experimenta un polímero termo-sensible.

3.2.3 LCST

La temperatura crítica inferior de disolución, LCST (por sus siglas en inglés) es una transición de fase que presentan los polímeros que colapsan o precipitan por encima de cierta temperatura crítica. Este fenómeno se presenta cuando la contribución entálpica de las moléculas de agua que se encuentran enlazados a los grupos electronegativos del polímero a través de enlaces puente de hidrógeno. Debajo de la temperatura crítica, predomina la entalpía de formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidrofílicos del polímero (amidas, éteres, ésteres, etc.) y el agua, dicha interacción es responsable de la disolución o hinchamiento del polímero⁴¹.

Por encima de la LCST la entropía predomina, es decir, se favorecen las interacciones hidrofóbicas entre las cadenas del polímero y por lo tanto se reduce el número de puentes de hidrógeno entre el polímero y el agua provocando el colapso o la precipitación del polímero (Figura 8).

El valor de la LCST de un polímero puede ser desplazado hacia la izquierda o derecha del valor de T_c dependiendo de la incorporación ya sea de moléculas hidrofóbicas o hidrofílicas en el sistema, respectivamente⁴⁴.

3.2.4 N-vinilcaprolactama (NVCL)

La N-vinilcaprolactama (NVCL) es un compuesto vinílico usado principalmente en la síntesis de la poli-vinilcaprolactama (PNVCL) y otro tipo de materiales poliméricos (copolímeros) solubles en agua. Los polímeros derivados de la NVCL presentan comportamiento hidrofílico gracias a la presencia del grupo C=O de la amida presente en su estructura⁴⁵. La NVCL consiste en un anillo de 7 miembros con la presencia de un átomo de nitrógeno como heteroátomo sobre el cual está unido el grupo vinilo misma que le confiere resistencia a la hidrólisis y por lo tanto no se producen productos de degradación. Es soluble en disolventes polares y no polares, pero es poco soluble en agua⁴⁶.

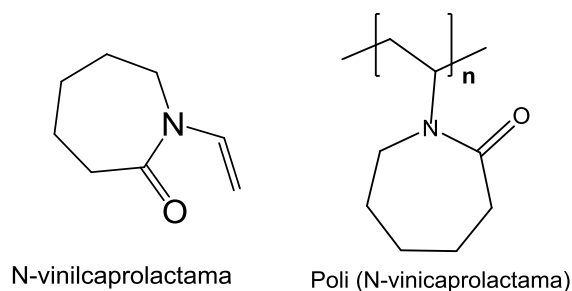


Figura 9. Estructura de la N-vinilcaprolactama y su polímero (PNVCL).

La PNVCL ha sido ampliamente estudiada para la síntesis de biomateriales con potencial aplicación en biomedicina, debido a su resistencia a la degradación, hidrofiliidad, respuesta a la temperatura (LCST) y biocompatibilidad; características que pueden ser aprovechadas para sintetizar sistemas de liberación controlada de fármacos⁴⁷, inmovilización de enzimas y/o en ingeniería de tejidos. Presenta una temperatura de respuesta (LCST) cercana a la temperatura fisiológica (32-34 °C) en medio acuoso, mostrando un mayor carácter hidrofóbico por encima de la temperatura crítica⁴⁸.

3.2.5 Polímeros pH-sensibles

Los polímeros sensibles al pH son generalmente compuestos polielectrolíticos que contienen grupos ácidos o básicos (aminas) capaces de aceptar o donar protones en respuesta a los cambios de pH del medio circundante⁴⁹. Este tipo de polímeros, presentan cambios en su estado de ionización bajo las variaciones de pH lo cual conduce a un cambio conformacional debido al cambio en el grado de hinchamiento del material polimérico. El aumento en la hidrofiliidad de un polímero pH-sensible se debe a la repulsión electrostática que experimentan las cadenas poliméricas producida por la protonación o desprotonación de los grupos hidrofílicos, fenómeno que causa una mayor difusión de de disolvente en el sistema y por consiguiente un aumento en el volumen hidrodinámico del polímero⁵⁰. Los polímeros que contienen grupos ácidos se encuentran en estado colapsado a pH's ácidos, sin embargo, con el incremento del pH estos se desprotonan adquiriendo carga negativa misma que provoca el hinchamiento del polímero (Figura 10). La conducta de los polímeros básicos es exactamente la contraria, es decir a pH's bajos están protonados y por consiguiente, en estado hinchado mientras que a pH básico tienen carácter hidrofóbico.

El valor de pH crítico de un polímero depende directamente del valor de pKa del grupo hidrofílico que contenga la estructura polimérica. Este valor puede ser modulado por la incorporación de grupos hidrofóbicos, lo cual puede conferirle una estructura más compacta en el estado no ionizado y el corrimiento de su pKa a valores más altos; traduciéndose muchas veces en una transición de fase menos notoria. Se sabe también que el valor de pH crítico aumenta al incrementar el peso molecular del polímero⁵¹.

Los polímeros sensibles al pH se emplean en varias aplicaciones biomédicas, siendo la aplicación más importante su uso como sistemas de transporte de fármacos, transportadores de material genético⁵², sensores de glucosa⁵³.

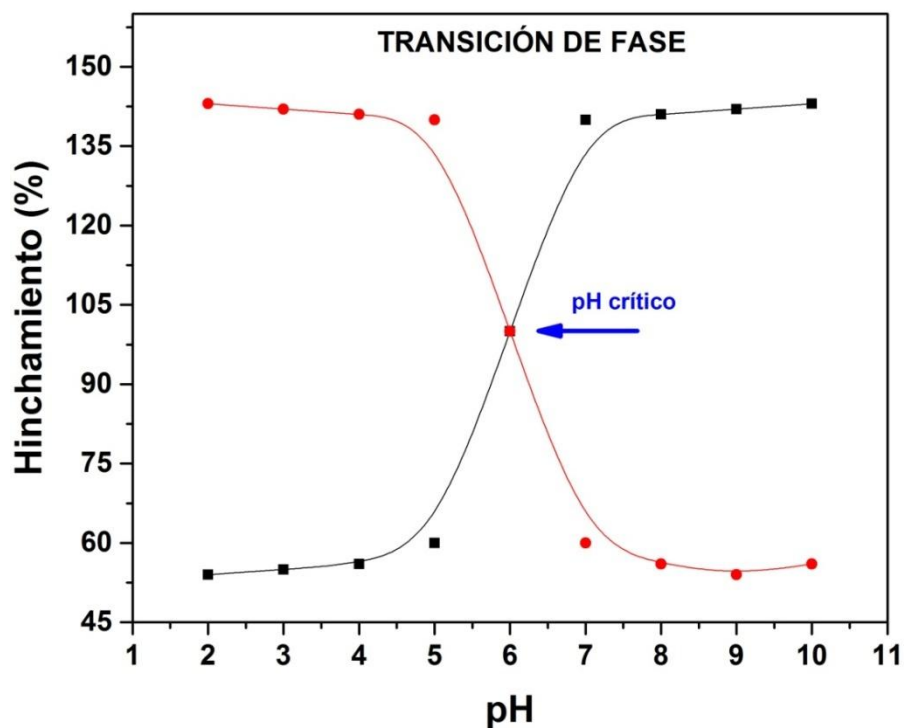


Figura 10. Representación de una transición de fase de un polímero pH-sensible.

3.2.6 4-Vinilpiridina (4VP)

La 4-vinilpiridina es una molécula aromática que se utiliza principalmente para la síntesis de poli(4-vinilpiridina), este último es un material hidrofílico debido a un nitrógeno débilmente básico presente en el anillo, la P4VP se utiliza para la retención y recuperación de metales así como también para la liberación controlada de fármacos como naproxeno sódico, entre otros⁵⁴.

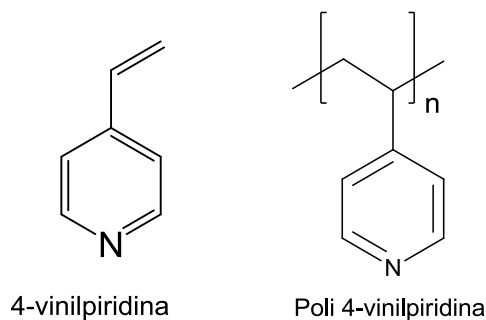


Figura 11. Estructura de 4-vinilpiridina y poli (4-vinilpiridina).

Tiene propiedades interesantes, como un balance hidrófilo e hidrófobo y un carácter anfótero tanto con el comportamiento ácido y básico en función del medio. Cuenta con una carga positiva modificable debido al átomo de nitrógeno protonado en medios ácidos el cual se puede cuaternizar con yoduros de alquilo para que presente actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas⁵⁵. También es de gran utilidad en el diseño de partículas coloidales⁵⁶.

3.3 Copolímeros de injerto

Un copolímero de injerto es un polímero que está constituido por dos o más entidades químicas diferentes. La obtención de copolímeros de injerto se basa en la inserción de cadenas poliméricas en la superficie de un polímero existente (cadena principal), generalmente de uso comercial con la finalidad de obtener un material con propiedades completamente nuevas, mejoradas o modificadas dependiendo del propósito que se les quiera dar (Figura 12). Las propiedades del copolímero de injerto obtenido dependerán drásticamente de la naturaleza del monómero, debido a que de ello dependerá la hidrofilia o hidrofobicidad del material así como también sus propiedades mecánicas, ya que dependiendo de la estructura del monómero, naturaleza y tamaño, será el ordenamiento molecular que presenten las cadenas poliméricas.

Para la síntesis de copolímeros de injerto se requiere la formación de centros reactivos sobre la matriz polimérica en presencia de compuestos polimerizables o cadenas poliméricas que puedan reaccionar en dichos centros reactivos, estos pueden ser radicales libres los cuales son especies altamente reactivas que pueden desempeñar el papel de iniciadores reaccionando con unidades monoméricas y como consecuencia, el proceso de propagación de la reacción. La cantidad de radicales formados (rendimiento radiolítico) depende directamente de la dosis y la intensidad aplicada a la materia y eso afectará también el ordenamiento molecular (tacticidad), el peso molecular de las cadenas y en general a las propiedades mecánicas del producto obtenido.

Esta técnica nos permite introducir una gran variedad de monómeros y especies químicas sobre una amplia gama de polímeros y no requiere uso de catalizadores, aditivos o algún agente químico que favorezca o inicie la reacción. Se han establecido tres métodos que son ampliamente utilizados para obtener copolímeros de injerto utilizando radiaciones

ionizantes y son: a) el método directo b) método de pre irradiación y c) método de pre irradiación oxidativa.

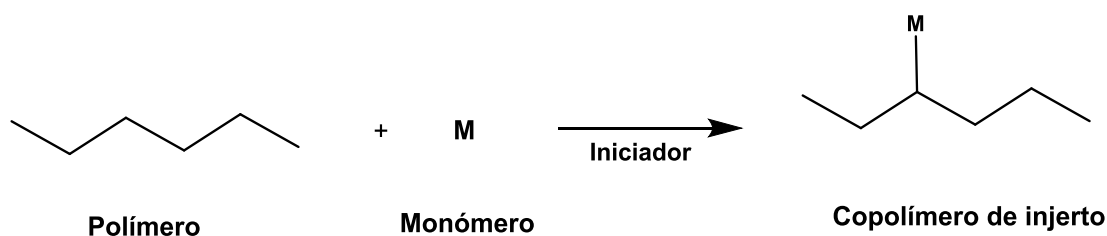


Figura 12. Obtención de un copolímero de injerto

3.3.1 Metodologías para la obtención de un copolímero de injerto

Existe una serie de metodologías para la obtención de un copolímero de injerto, los cuales se dividen en dos grupos principalmente: los métodos físicos y los químicos. Para obtener un copolímero de injerto por métodos químicos, es necesario el uso de iniciadores químicos tales como 2,2'-azobiisobutironitrilo (AIBN), peroxidisulfato de potasio, peróxido de dicumilo, por mencionar algunos. Por otra parte, los métodos físicos se basan en la aplicación de radiaciones de altas energías para inducir la ruptura homolítica de un enlace, iniciando así la reacción de polimerización. Las radiaciones frecuentemente utilizadas para llevar a cabo el proceso de injerto son: rayos ultravioleta, rayos beta, rayos gamma; aunque también se puede recurrir al proceso de funcionalización mediante electrones acelerados⁵⁷. La principal diferencia entre las radiaciones ionizantes y los electrones acelerados, está en su poder de penetración⁵⁸.

3.3.2 Injerto mediante radiaciones gamma

El proceso de injerto inducido por rayos gamma se basa el suministro de energía de la radiación en el material polimérico. Esta energía da lugar a rupturas homolíticas (radicales libres) sobre las moléculas presentes en el medio. Estos radicales libres reaccionan fácilmente con monómeros vinílicos para formar nuevos enlaces covalentes y, como consecuencia, el crecimiento de cadenas laterales. Esta metodología es muy versátil ya que con su energía y poder de penetración, se pueden modificar una gran lista de compuestos. La modificación de polímeros mediante radiaciones ionizantes adquirió gran relevancia al evitar el uso de iniciadores químicos en la obtención de materiales con

potencial uso biomédico. Se han realizado muchos trabajos sobre la modificación de polímeros utilizando energías ionizantes, ya sea para entrecruzarlo, injertar nuevas moléculas en ellos o para polimerizar monómeros utilizándolo como iniciador de la reacción a dosis relativamente bajas y medianas dependiendo de lo que se quiera realizar y el material que se quiera funcionalizar, ya que no todos los materiales presentan el mismo rendimiento radioquímico.

Una de las principales ventajas que ofrece el uso de radiación gamma en el proceso de injerto, es su efectividad para llevar a cabo la esterilización del material que se irradia; de hecho, esta radiación es ampliamente utilizada para esterilizar cosméticos, dispositivos médicos, alimentos, fármacos, ropa, entre muchas otras cosas⁵⁹. Hay tres métodos que han ganado especial interés para la síntesis de copolímeros de injerto utilizando radiación gamma los cuales se describen brevemente a continuación.

3.3.3 Métodos utilizados para realizar un injerto mediante radiación gamma.

Método directo.- En éste caso, el polímero y el monómero (vinílico) son irradiados simultáneamente. La irradiación permite la formación de sitios activos (radicales libres) en la matriz polimérica y/o en el monómero. La dosis así como la intensidad aplicadas son factores muy importantes en este método ya que de ello dependerá el rendimiento radioquímico. Una de las desventajas que presenta este método es la considerable formación de homopolímero debido a que el monómero reacciona entre sí al ser activado por la energía incidente, en este método es necesario que se favorezca la formación de los radicales libre en la matriz polimérica respecto al monómero, caso contrario se obtendrán bajos porcentajes de injerto.

Pre-irradiación oxidativa.- Alternativamente el injerto puede ser conseguido irradiando inicialmente la matriz polimérica en presencia de aire para formar hidroperóxidos y peróxidos, los cuales posteriormente con calentamiento forman radicales libres que comiencen el proceso de injerto. Una ventaja de este método es la posibilidad de almacenar el polímero irradiado a baja temperatura por un tiempo considerable. Además se reduce considerablemente la formación de homopolímero. Una desventaja de esta técnica es la alta degradación oxidativa que experimenta la matriz polimérica al ser irradiada en aire^{60, 61}.

Pre-irradiación.- La matriz polimérica es irradiada en ausencia de aire o en atmósfera de un gas inerte para la formación de los sitios reactivos, posteriormente se adiciona el monómero en fase gaseosa o líquida para así iniciar la reacción de copolimerización. Una de las principales ventajas de este método, es la escasa formación de homopolímero en el medio de reacción y por lo tanto, es utilizado para injertar monómeros altamente reactivos susceptibles a la homopolimerización. Una de las desventajas de este método es el bajo porcentaje de injerto obtenido⁵⁸.

3.3.4 Factores que influyen en el proceso de injerto por radiación gamma

Dosis. Es bien sabido que con altas dosis de irradiación, la velocidad de polimerización se incrementa debido a que a altas energías hay una mayor cantidad de especies radicalarias formadas provenientes de la ruptura homolítica que sufren las especies irradiadas; este proceso también provoca un aumento de la velocidad de terminación.

Concentración de monómero. El grado de injerto sobre una matriz polimérica está fuertemente influenciada por la concentración de monómero utilizado, es decir, el grado de injerto aumentara al elevar la concentración del monómero. Sin embargo, este comportamiento no aplica para todos los sistemas, ya que depende de la reactividad del monómero y también hay que tener en cuenta que a concentraciones altas, la viscosidad del medio de reacción aumenta, lo que puede provocar el fenómeno de autoaceleración o favorecer el proceso de homopolimerización por encima de la reacción de injerto.

Temperatura. Uno de los factores más importantes y que deben ser considerados durante la funcionalización de una matriz polimérica es la temperatura, ya que la velocidad de una reacción por radicales libres aumenta drásticamente con el incremento de esta última al aumentar la cinética molecular, lo cual puede originar que el rendimiento sea bajo debido a la homopolimerización del monómero.

Disolvente. Este efecto es muy importante en el proceso de obtención de un copolímero de injerto, ya que este debe de ser compatible con el monómero y la matriz polimérica para que el injerto se obtenga exitosamente. Un disolvente ideal debe de tener la capacidad de disolver al monómero y dependiendo de si se quiere que el monómero penetre o no, se seleccionara un disolvente que muestra la capacidad de hinchar a la película polimérica que se desea modificar. Además, la naturaleza del disolvente influirá

en el rendimiento de la reacción ya que de acuerdo a estudios ya reportados, se conoce que los disolventes con estructuras resonantes o aromáticas, disminuyen la fuerza de impacto de la radiación (efecto protector) sobre el material irradiado; este efecto provoca un menor número de radicales formados, lo que se traduce en un menor porcentaje de injerto.

3.4 Copolímeros de injerto en uno y dos pasos

Los copolímeros de injerto pueden ser obtenidos ya sea en uno o en dos pasos; para esto, puede utilizarse el método directo o bien el de pre-irradiación oxidativa.

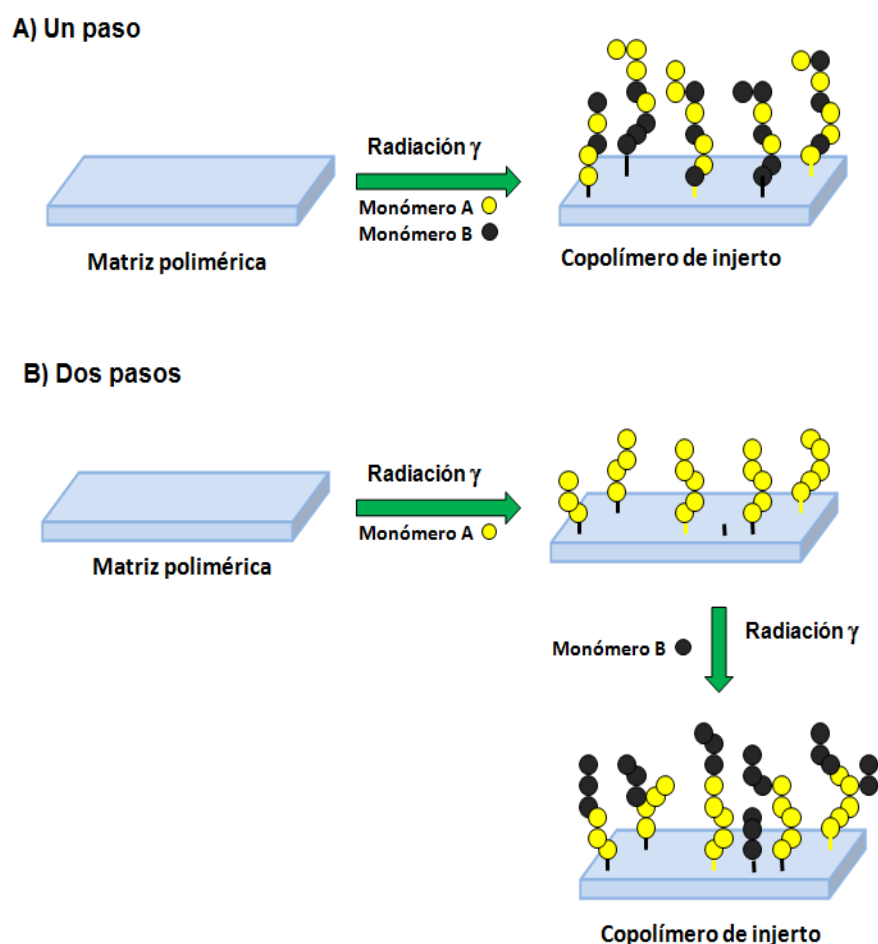


Figura 13. Representación esquemática de la diferencia estructural entre un copolímero de injerto en un paso A) y uno en dos pasos B).

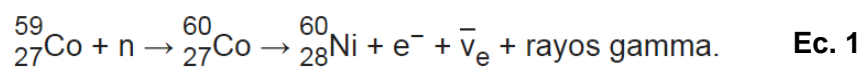
Los copolímeros obtenidos en un solo paso tienen el carácter aleatorio y una funcionalidad distribuida a lo largo de las cadenas poliméricas por lo que su comportamiento puede ser diferente al esperado. Sin embargo, en los copolímeros obtenidos en dos pasos, se tiene una idea más acertada de cómo puede ser el comportamiento fisicoquímico del material en caso de que este sea obtenido a partir de compuestos que dan origen a sensibilidad a estímulos externos debido a que las cadenas poliméricas mantienen su naturaleza y su comportamiento al haber cierta conformación adoptada por cadenas de la misma naturaleza, las cuales pueden interaccionar entre ellas mismas a través de interacciones débiles, hidrofóbicas o hidrofílicas. Mientras que si están combinadas aleatoriamente puede haber una mezcla de interacciones o repulsiones dependiendo de los grupos que contenga cada monómero que haya sido injertado.

3.4 Radiación ionizante

La radiactividad es un fenómeno físico que experimentan algunos átomos inestables y consiste en la emisión de radiaciones o partículas subnucleares capaces de penetrar materia, ionizarla e incluso degradarla dependiendo de la energía de estas emisiones. Las radiaciones emitidas por un átomo radiactivo se dividen en 4 especies y son: neutrones, rayos alfa, beta y los rayos gamma. Dentro de esta serie de emisiones, nos enfocaremos en las radiaciones electromagnéticas beta y gamma, por ser el tipo de emisiones producidas durante el decaimiento del ^{60}Co .

3.4.1 Cobalto 60 (^{60}Co)

El cobalto 60 es un elemento químico radiactivo de origen sintético, el cual proyecta dos emisiones beta una de 0.31 y otra de 1.48 Mega electronvolts (MeV) y dos emisiones gamma secuenciales de 1.17 y 1.33 MeV respectivamente. En el proceso de decaimiento del ^{60}Co , (Figura 15) un neutrón se transforma en protón debido a la emisión de un electrón (emisión beta) llegando así a formarse el níquel 60 (^{60}Ni). La ecuación de la captura neutrónica y desintegración es la siguiente:



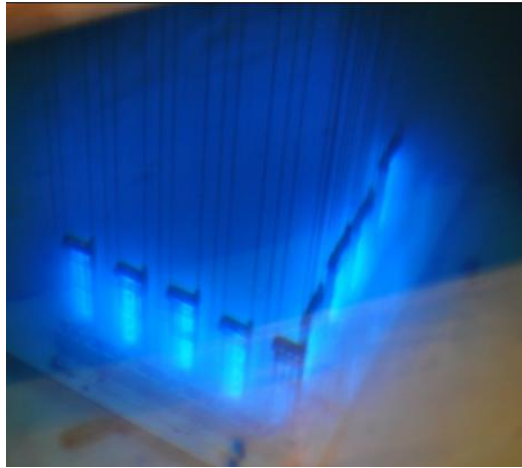


Figura 14. Lápices de ^{60}Co localizadas debajo del agua, la coloración azul es debido al efecto Cherenkov.

3.4.2 Los rayos β son partículas de masa despreciable (aprox. 1.66043×10^{-24} g) y pueden tener carga positiva o negativa; negativa si es emitido por la transformación de un neutrón a protón y positiva si se origina por la conversión de un protón a neutrón.

3.4.3 Rayos γ . Los rayos gamma son radiaciones electromagnéticas, no tienen carga y provienen de radionúclidos inestables y tienen alta capacidad de penetración provocando la ionización del material que atraviesan.

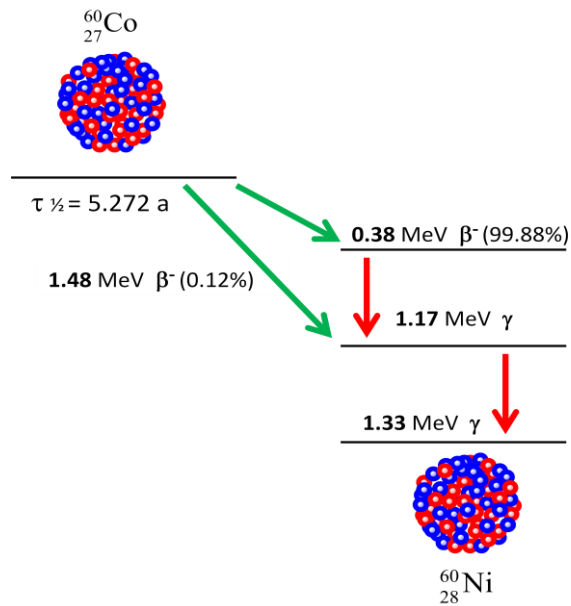


Figura 15. Esquema de decaimiento del cobalto 60.

Los rayos gamma pueden inducir la ruptura de enlaces o desprendimiento de electrones produciendo moléculas excitadas, iónicas y radicales libres. La dosis absorbida por la materia se expresa en gray (Gy) que se define como la cantidad de energía absorbida por cada kg de materia.

3.5 Interacción de energía ionizante con la materia

Los rayos gamma pierden su energía al interactuar con la materia experimentando alguno de los siguientes tres efectos: fotoeléctrico, Compton y la producción de pares. El predominio de cada uno de estos mecanismos depende de la energía del fotón incidente, de la composición y estructura del material receptor.

a) El efecto fotoeléctrico consiste en que el fotón se encuentra con un electrón del material y le transfiere toda su energía, desapareciendo el fotón original. El electrón secundario adquiere toda la energía del fotón en forma de energía cinética, y es suficiente para desligarlo de su átomo y convertirlo una partícula libre. Se frena éste por ionización y excitación del material

b) En el efecto Compton el fotón choca con un electrón como si fuera un choque entre dos esferas elásticas. El electrón secundario adquiere sólo parte de la energía del fotón y el resto se la lleva otro fotón de menor energía y desviado.

c) producción de pares.- Ocurre cuando un fotón energético se acerca al campo eléctrico intenso de un núcleo, en este caso el fotón se transforma en un par electrón-positrón. Como la suma de las masas del par es 1.02 MeV, no puede suceder si la energía del fotón es menor que esta cantidad. Si la energía del fotón original es mayor que 1.02 MeV, el excedente se lo reparten el electrón y el positrón como energía cinética, pudiendo ionizar el material. Cuando el positrón llega a interactuar con un electrón durante su trayectoria, estos se aniquilan produciendo dos fotones de 0.51 MeV cada uno⁶².

Capítulo 4

Parte experimental

Materiales y Reactivos

Las películas de silicona (1 mm de grosor) fueron adquiridas comercialmente de Goodfellow (Huntingdon, Reino Unido); N-vinylcaprolactam 98% (NVCL) y 4-vinilpiridina, la lisozima de huevo y *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC 4698) fueron comprados a Sigma Aldrich Co. (Mex). Los monómeros fueron destilados antes de su uso. Diclofenaco sódico, fosfomicina sódica, ácido cítrico, ácido bórico, ortofosfato de sodio tribásico fueron adquiridos de J.T. Baker (Mexico). El agua y acetonitrilo ambos de grado UHPLC-MS, etanol, tolueno, N,N-dimetil formamida todos grado técnico, fueron proporcionados por Sigma Aldrich Co. (México). El kit para el ensayo de MTT fue adquirido de Roche (Alemania), las células de fibroblastos (BALB/3T3; ATCC CCI-163TM) fueron adquiridos de American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA). *E. coli* (ATCC 11229), (*S. aureus*, ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC, 35984), agar Hilton-mueller, micropipetas, microjeringas, asa para estriar, cajas petri, mechero bunsen, tubos eppendorf, tubos de vidrio de policarbonato. Las bacterias y el material de cultivo fueron proporcionados por el Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología (CIBUS), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

Los disolventes utilizados para la obtención de los copolímeros de injerto fueron grado reactivo mientras que el disolvente utilizado para el lavado de los mismos fue de grado técnico. Para la preparación de disoluciones utilizadas durante los procesos de carga y liberación de diclofenaco sódico y lisozima se usó agua bidestilada; para el caso de la disolución de fosfomicina sódica fue necesario utilizar agua milli-Q.

Equipos:

Infrarrojo con reflectancia total atenuada (IR-ATR) modelo Perkin–Elmer Spectrum 100 marca Perkin Elmer Cetus; microscopio Raman modelo Renishaw inVia confocal marca Renishaw Ibérica; resonancia magnética nuclear (RMN) marca Jeol modelo Jeol 300 MHz; goniómetro modelo DSA 100 marca Krüss GmbH; microscopio electrónico de barrido modelo Zeiss EVOL515 marca Zeiss; resonancia magnética nuclear de sólidos (RMN) marca Bruker modelo Bruker Avance III HD 400 MHz; espectrofotómetro UV-vis modelo Specord 200 plus marca Analytik Jena; Cromatógrafo de líquidos de alta resolución acoplada a espectrómetro de masas (HPLC-MS) marca Waters, detector modelo SQ detector 2; estufa con sistema de vacío marca Yamato; balanza analítica; calorímetro diferencial de barrido (DSC) modelo DSC 2010 marca TA Instruments; analizador termogravimétrico (TGA) modelo TGA Q50 marca TA Instruments; lector de placas marca ELISA BIORAD Modelo 680 Microplate Reader (EUA).

Fuente de irradiación

Los materiales fueron irradiados a cierta dosis en una unidad de irradiación (Gammabeam651 PT, MDS Nordion, Canada) que contiene lápices de ^{60}Co , la cual se encuentra en el Instituto de Ciencias Nucleares (ICN) de la UNAM.

4.1 Síntesis de los copolímeros de injerto SR-g-(NVCL/4VP), un paso

Muestras de hule de silicona fueron cortados (2.5 x 1 cm), fueron lavados en etanol para eliminar las impurezas, se extrajeron y secaron posteriormente hasta que obtuvieron un peso constante. Los monómeros (N-vinilcaprolactama, 4-vinilpiridina) fueron destilados a presión reducida antes de su uso. Cada película previamente purificada con etanol, fue pesada y colocada en una ampollita de vidrio, se le adicionaron 5 mL de disolución de los monómeros a injertas (NVCL/4VP) en cantidades equimolares; posteriormente, las ampollitas fueron desgasificadas al alto vacío acompañado de una serie de ciclos de congelación-descongelación con nitrógeno líquido; una vez terminado dicho proceso, las ampollitas se sellaron. Las muestras fueron expuestas a cierta dosis de radiación gamma (10-80 kGy) en una fuente de irradiación de cobalto 60 (^{60}Co) (Gammabeam 651 PT) con la finalidad de inducir el proceso de injerto. Al término del tiempo de reacción, se abrieron las ampollitas y se procedió a la extracción y limpieza de las películas modificadas

mediante extracciones (lavados) continuos con etanol. Por último, las muestras se secaron en una estufa de vacío hasta peso contante; el porciento de injerto fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\text{Injerto (\%)} = \frac{W_f - W_i}{W_i} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde W_f es el peso de la muestra injertada y W_i es el peso inicial de la película. Cada ensayo se realizó por triplicado.

4.1.1 Efecto del disolvente

Se realizó el procedimiento descrito en la sección 4.1 manteniendo las cantidades equimolares de los monómeros (9 mmol) en la disolución.

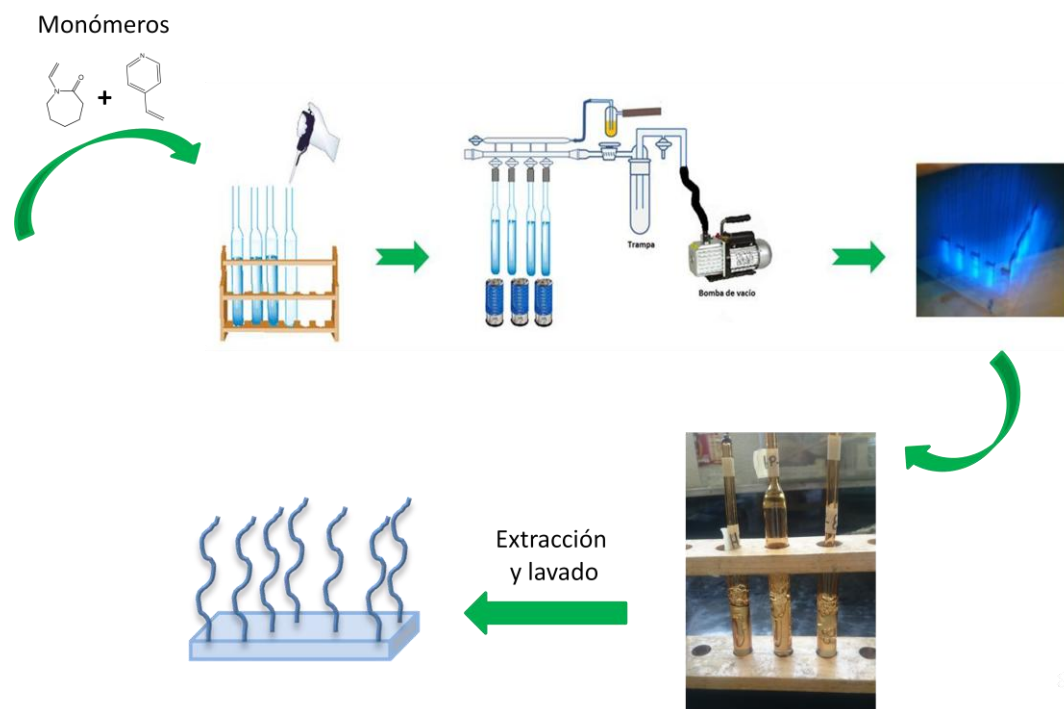
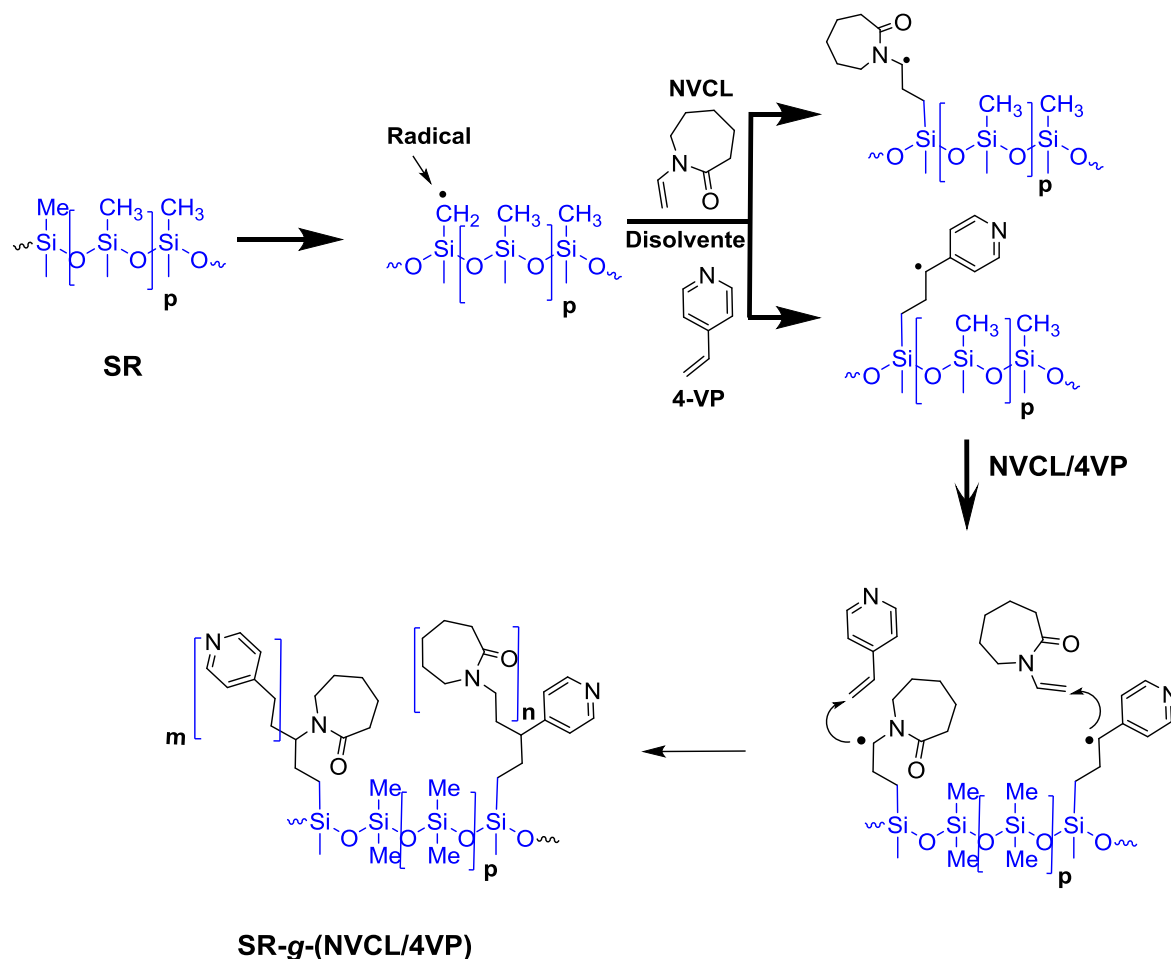


Figura 16. Representación esquemática del procedimiento seguido para el proceso de injerto mediante radiación gamma.

Se utilizó la misma dosis para todos los ensayos (50 kGy) y se utilizaron los siguientes disolventes: cloroformo, isopropanol, etanol, tetrahidrofurano y tolueno, eso con la finalidad de observar cómo afectan los disolventes al porcentaje de injerto ya que no todos hinchan a la matriz polimérica en la misma proporción. El ensayo se realizó por triplicado; para la determinación del porcentaje de injerto se utilizó la ecuación 1, mencionada en la sección 4.1.



Esquema 1. Mecanismo propuesto para la reacción del injerto binario (NVCL/4VP) mediante radiación sobre SR, (un paso) por método directo. Es importante mencionar que el proceso de injerto es aleatorio, es decir, no hay un orden en el que los monómeros reaccionan.

El esquema 1, describe a grandes rasgos el mecanismo que se llevó a cabo en el proceso de injerto de la mezcla de los dos monómeros, el cual inicia formándose un radical primario en el grupo metilo mediante la ruptura del enlace C-H. Una vez formado el radical, este reacciona con el enlace doble de alguno de los dos monómeros, iniciándose

así el proceso de iniciación del injerto. Después de que el radical metileno ($\cdot\text{CH}_2$) ha reaccionado con una molécula de un monómero, se forma otro radical derivado de la ruptura del enlace vinílico, en este caso es un radical secundario, este radical llevara a cabo el proceso de propagación debido a que tiene probabilidad de reaccionar con la parte terminal de otra molécula de 4VP o NVCL, llevándose a cabo una adición cabeza-cola. El proceso final de la reacción de injerto finaliza en la reacción de terminación en la cual los dos radicales pierden su reactividad.

4.1.2 Efecto de la concentración de los monómeros

El procedimiento seguido para este ensayo fue prácticamente similar al descrito en la sección 4.1, pero en este caso la variable fue la cantidad de monómero utilizada para llevar a cabo el proceso de injerto. Se utilizaron concentraciones equimolares de NVCL y 4VP en tolueno, para preparar la mezcla de reacción, siendo el volumen total de 5 mL. El ensayo se realizó por triplicado; para la determinación del porcentaje de injerto se utilizó la ecuación 1, mencionada en la sección 4.1.

4.1.3 Estudio del efecto de la dosis aplicada en el porcentaje de injerto

En esta sección se repitió el proceso descrito en la sección 4.1, pero en esta ocasión se realizaron variaciones en la dosis aplicada; desde 10 hasta 80 kGy.

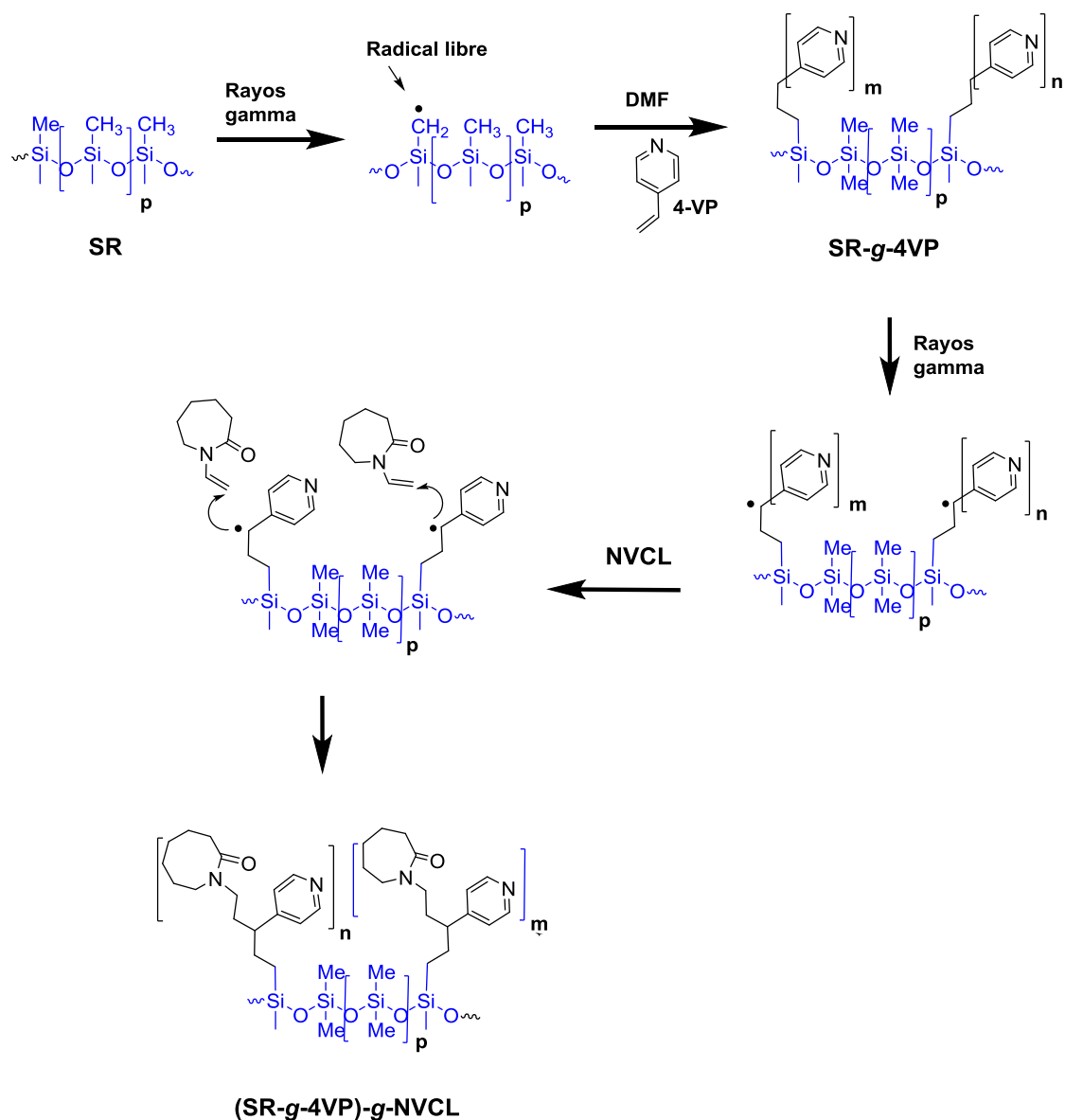
4.2 Síntesis de los copolímeros de injerto (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL, dos pasos

4.2.1 síntesis de SR-*g*-4VP y SR-*g*-NVCL

Muestras de hule de silicona fueron cortados (2.5 x 1 cm), fueron lavados en etanol para eliminar las impurezas, se extrajeron y secaron posteriormente hasta peso constante. Cada película fue pesada y colocada en una ampolleta de vidrio, se le adicionaron 5 mL de disolución de 4VP ó NVCL (según sea el caso) en N,N-dimetilformamida (DMF); posteriormente, las ampolletas fueron desgasificadas al alto vacío acompañado de una serie de ciclos de congelación-descongelación; una vez terminado dicho proceso, las ampolletas se sellaron. El proceso de irradiación, extracción y purificación fue similar al descrito en el apartado 4.1. Se calculó el porcentaje de injerto conforme a la ecuación 1.

4.2.2 Síntesis de (SR-g-4VP)-g-NVCL y (SR-g-NVCL)-g-4VP

Se procedió al proceso de un segundo injerto, para ello se tomaron películas de SR-g-4VP; se preparó la disolución de NVCL ó 4VP (según sea el caso) en DMF y se adicionaron 5 mL en las ampollitas donde estaban las películas de SR-g-4VP, se procedió tal y como se describe en la sección 4.1 y al final se determinó el porcentaje de injerto mediante la ecuación 1.



Esquema 2. Mecanismo propuesto para el proceso de Injerto de 4VP y NVCL en dos pasos sobre SR por método directo.

En el esquema 2, se describe el mecanismo propuesto para la síntesis del copolímero de injerto binario obtenido en dos pasos. En este caso, la primera fase consiste en la formación del radical libre sobre el grupo metilo del PDMS por la acción de la radiación gamma. Este radical libre reacciona con la parte terminal del enlace vinílico de la 4VP debido a que presenta un menor impedimento estérico, el radical secundario que se forma después de la primera reacción es de tipo secundario y se encuentra bastante estabilizado por el anillo aromático, este radical libre realiza el proceso de propagación, promoviendo así la formación de las cadenas poliméricas hasta culminar en el proceso de terminación. Una vez obtenido el sistema SR-g-4VP, este se irradia otra vez con rayos gamma, los cuales formaron radicales libres en el carbono contiguo al anillo aromático, esto debido a que este radical libre es favorecido termodinámicamente gracias a la estabilidad que el anillo de la piridina le brinda mediante el fenómeno de la resonancia. Este radical, reacciona con el enlace doble de la N-vinilcaprolactama (iniciación), llevándose a cabo una reacción de adición cabeza-cola. El proceso de propagación la realiza el radical secundario formado en la posición alfa al átomo de N del anillo de la lactama. El proceso de terminación del proceso de injerto llega con la pérdida de reactividad de los radicales libres.

Es importante mencionar que el esquema 2 muestra una aproximación del proceso de injerto ocurrido durante la síntesis del material modificado en dos pasos; sin embargo, también es probable de que el segundo injerto haya ocurrido también las cadenas de PDMS o en alguna otra posición de la película ya injertada. Nuestra propuesta se basa en la idea de que la superficie de la silicona está saturada superficialmente con cadenas poliméricas de VP lo cual dificultaría la difusión de la NVCL hasta llegar al radical metilo posiblemente formado en el PDMS. Además, el radical secundario formado en la posición contigua al anillo de la piridina, se encuentra estabilizado mediante resonancia, lo cual incrementa su estabilidad y posibilita aún más su reacción con el enlace doble de la NVCL comparado con los otros posibles sitios reactivos formados.

4.3 caracterización

4.3.1 Espectroscopía FTIR-ATR

Las películas caracterizadas mediante espectroscopías infrarroja y Raman, fueron secadas previamente. Para el caso de IR-ATR, se realizaron 16 escaneos analizando la región entre 650 y 3800 cm^{-1} con un detector punta de diamante Perkin–Elmer Spectrum 100 spectrometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT). La espectroscopía Raman fue realizada mediante un equipo Renishaw inVia confocal Raman microscope (Renishaw Iberica S.A.U., Spain).

4.3.2 Espectroscopía Raman

Se analizaron muestras de películas modificadas con diferente porcentaje de injerto utilizando espectroscopía Raman para complementar la caracterización realizada mediante espectroscopía infrarrojo, para lo cual se cortaron muestras representativas que fueron analizadas con un laser de neón a 785 nm al vacío, se utilizó un microscopio Raman modelo Renishaw inVia confocal marca Renishaw Ibérica.

4.3.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las muestras de películas injertadas recibieron un previo tratamiento de secado antes de ser analizadas, esto con la finalidad de eliminar la posible humedad absorbida del ambiente y no detectarla en el estudio. El análisis se llevó a cabo en un calorímetro modelo DSC calorimeter 2010 (TA Instruments, USA). Se tomaron muestras representativas de películas funcionalizadas (6-10 mg) con diferente porcentaje de injerto mismas que fueron confinadas en charolas de aluminio. Cada muestra se colocó en el calorímetro y se le aplicó una rampa de calentamiento de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, de 25 a 250 $^{\circ}\text{C}$ en atmósfera de nitrógeno.

4.3.4 Análisis termogravimétrico

Las muestras analizadas fueron secadas previamente para eliminar la humedad absorbida del ambiente. Cada muestra fue depositada sucesivamente en una charola de platino, misma que es adaptable al equipo TGA marca TGA Q50 (TA Instruments, New

Castle, DE). Para el estudio de termogravimétrico se utilizaron muestras representativas con pesos de entre 5 y 10 mg. Se utilizó una rampa de calentamiento de 10 °C/minuto de 30 hasta 800 °C en atmósfera de nitrógeno.

4.3.5 Resonancia magnética nuclear (RMN)

Los análisis de resonancia magnética nuclear de ^{13}C y ^1H de los monómeros se obtuvieron en un espectrómetro Jeol eclipse 300 MHz, utilizando cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente, se utilizaron 32 escaneos y 30 mg muestra. Por otro lado, el estudio de ^{13}C de SR y los copolímeros de injerto se realizó en estado sólido, mediante la técnica de Cross-Polarization Angle Magic-Spinning (CP/MAS ^{13}C -RMN) en un equipo Bruker Avance III HD de 400MHz, 5120 escaneos y 250 mg de muestra. En la descripción de los espectros se han empleado las siguientes abreviaturas: s (singulete), d (doblete), dd (doble doblete), t (triplete), c (cuadrupele).

4.3.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopía dispersiva de energía de rayos X (EDX)

Se cortaron muestras representativas de copolímeros de injerto (0.5 cm^2); las muestras fueron recubiertas con oro mediante la técnica de sputtering o vaporización catódica formando una película delgada de nanopartículas de oro por depositación al alto vacío sobre la superficie de los copolímeros de injerto. Esto con la finalidad de obtener una superficie conductora que haga posible el análisis, ya que los las películas injertadas no presentan conductividad por si solas; una vez recubiertas las muestras, estas fueron analizadas en un microscopio electrónico de barrido al alto vacío (SEM EVO L515 marca Zeiss) a un voltaje de 40 keV. Se realizó el estudio de la superficie así como de la sección transversal de las muestras.

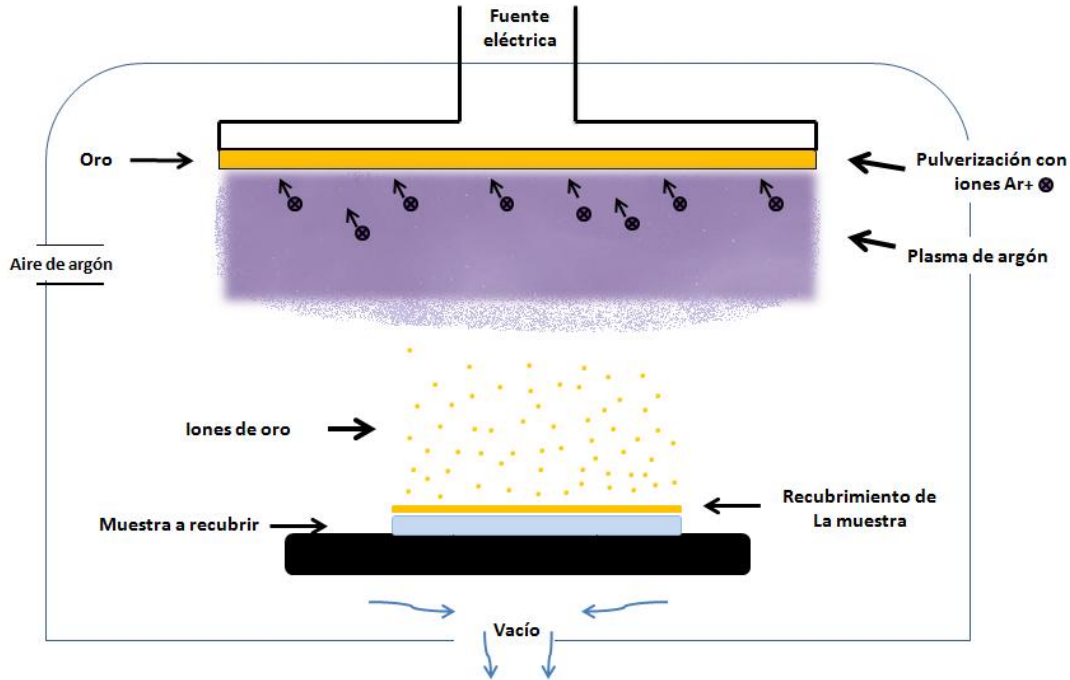


Figura 17. Representación esquemática del proceso sputtering (pulverización catódica).

Para el caso de SEM-EDX se utilizó un equipo Zeis-EVO-HD-Bruker-EDS mediante el cual se realizó un análisis elemental de la superficie del copolímero de injerto. Se estudió la profundidad de injerto de las películas modificadas mediante esta misma técnica analítica y equipo.

4.3.7 Modulo de elasticidad

El modulo de elasticidad o modulo de Young es la medida de la tenacidad y rigidez que presenta un material al resorte o su capacidad elástica. Para este ensayo se prepararon copolímeros de injerto de 1 x 5 cm con la finalidad de poder obtener las probetas. Muestras de SR-g-NVCL, SR-g-4VP, (SR-g-4VP)-g-NVCL fueron cortadas con troqueles estandarizados para darle forma a las probetas (5 x .5 cm) para su posterior análisis. Las muestras se analizaron a 23 °C y a una velocidad de 10 mm/minuto. Este ensayo se realizó por triplicado.

4.4 Propiedades físico-químicas

4.4.1 Grado de mojabilidad (ángulo de contacto)

El estudio de humectabilidad se realizó mediante un goniómetro marca DSA 100 (Krüss GmbH, Hamburg, Germany); el análisis se llevó a cabo a temperatura ambiente utilizando pequeñas gotas de agua bidestilada, las cuales fueron depositadas en la superficie de las películas injertadas y secas. La determinación se realizó con copolímeros de injerto de NVCL, 4VP y binarios con diferentes porcentajes de injerto.

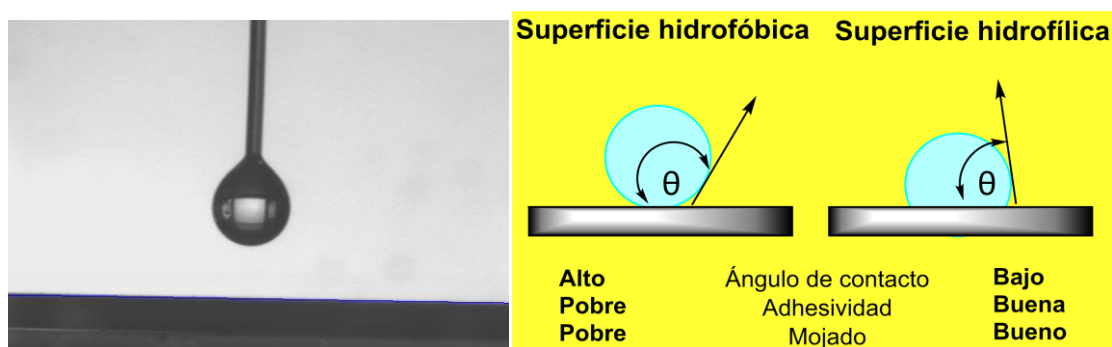


Figura 18. Medición del ángulo de contacto mediante el método de gota sésil (izquierda), comparación entre el ángulo de contacto de una superficie hidrofóbica y una hidrofílica (derecha).

El método utilizado para determinar el ángulo de contacto fue el de la gota en reposo o gota sésil. La cantidad de líquido que se deposita sobre la superficie es de $8.5 \pm 0.5 \mu\text{L}$ dosificado con una jeringa conectada a un tornillo micrométrico. Se determina el ángulo de contacto entre las superficies y el líquido correspondiente al menos en 3 zonas de las mismas, calculando posteriormente el valor promedio.

4.4.2 Hinchamiento límite

Se tomaron películas modificadas secas con diferente porcentaje de injerto, se pesaron para determinar su peso inicial y posteriormente se sumergieron en frascos con agua bidestilada temperatura ambiente; se realizaron mediciones de variación respecto a la masa en una balanza analítica a diversos intervalos de tiempo durante 48 horas para monitorear el tiempo necesario que se necesita para que los copolímeros de injerto

alcancen su máximo hinchamiento. Se determinó el grado de hinchamiento por diferencia de peso de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \frac{W_h - W_s}{W_s} \times 100 \quad \text{Ec. 3}$$

Donde W_h es peso de la película hinchada en agua y W_s es el peso de la película seca.

El tiempo de hinchamiento máximo es asignado por el punto en el cual el porcentaje de hinchamiento permanece constante.

4.4.3 pH crítico

Para la realización de este estudio fue necesaria la preparación previa de dos disoluciones madre; una ácida, constituida de ácido bórico y ácido cítrico a una concentración de 0.05 M y una solución básica de ortofosfato trisódico dodecahidratado de 0.1 M. Posteriormente se realizaron mezclas de las disoluciones ácida y básica en diferentes proporciones con la finalidad de obtener una serie de soluciones amortiguadoras de diferente pH, desde 2 hasta 12. Este ensayo consistió en sumergir películas modificadas (1 x 2.5 cm) con diferente porcentaje de injerto en soluciones amortiguadoras de fosfato (SBF) de pH 2-12 a 25 °C durante 24 horas en cada valor de pH, transcurrido el tiempo se pesaron en balanza analítica para calcular el grado de hinchamiento por diferencia de peso gravimétricamente utilizando la ecuación 3.

4.4.4 Estudio del efecto de la NVCL sobre el pH crítico de la 4VP

El estudio del efecto de la NVCL sobre el pH de respuesta de la 4VP fue realizada de similar forma a la descrita en el apartado 4.4.3, pero en este caso se tomaron muestras de SR-g-4VP con 50% de injerto y se les sometió a un segundo proceso de injerto de similar manera a la descrita en la sección 4.3 en disolución de NVCL (1.97 mmol) en DMF. Las muestras se irradiaron a 15, 25 y 35 kGy. Las muestras fueron, extraídas, lavadas y secadas hasta peso constante. El porcentaje de injerto fue determinado mediante

gravimetría haciendo uso de la ecuación 1; el estudio del corrimiento del pH crítico se realizó en disoluciones buffer previamente preparadas.

4.5 Temperatura crítica de respuesta (UCST y LCST)

Las películas modificadas con diferente grado de injerto fueron sumergidas en agua bidestilada durante 24 horas, se dejó este tiempo sumergido debido a que previamente se determinó que en ese tiempo alcanzan su hinchamiento máximo. Gradualmente se fue elevando la temperatura del medio acuoso hasta abarcar un intervalo de 22 °C hasta 45 °C; esto con la finalidad de observar el comportamiento de los copolímeros de injerto respecto a la temperatura y así calcular la temperatura de respuesta (LCST), el grado de hinchamiento para cada valor de pH fue calculado por gravimetría de acuerdo a la ecuación 2; para este caso, las películas se sumergieron durante 24 horas en cada una de las disoluciones amortiguadoras previamente preparadas con el objetivo de observar su transición de fase respecto al pH.

4.5.1 Estudio del efecto de la 4VP sobre la LCST de SR-g-NVCL

Se tomaron varias muestras de películas que contenían 11% de injerto de NVCL, mismas que presentaban una LCST de 32.5 °C y se les sometió al proceso de segundo injerto, es decir, se colocaron las muestras de SR-g-NVCL en ampollitas de vidrio y se les adicionaron 5 mL de disolución de 4VP (8.97 mmol) en DMF; se les sometió a todo el proceso descrito en la sección 4.1 irradiándolos a 20, 30 y 45 kGy para observar como el grado de injerto del comonomero afecta la temperatura crítica del polímero termo-sensible. El estudio se realizó por duplicado. Una vez secas las muestras, se realizó el estudio de la LCST en agua para observar si hubo corrimiento en el valor de TC o no. El porcentaje de injerto fue determinado de acuerdo con la ecuación 1.

4.6 Carga de diclofenaco sódico

Se cortaron varias piezas de los copolímeros con diferente porcentaje de injerto así como también la silicona sin modificar (1 cm²) y fueron colocadas en 5 mL de disolución de diclofenaco sódico con una concentración de 40 mg/L en frascos protegidos de la luz y en agitación constante. La cantidad de diclofenaco cargado en las películas fue determinada mediante la diferencia de absorbancia entre la concentración inicial y la concentración

final de diclofenaco teniendo en cuenta que la absorbancia es lineal a la concentración del soluto en disolución (ley de Lambert-Beer), esto mediante un equipo de UV-vis a 276 nm, que es la longitud de absorción máxima del diclofenaco sódico. El ensayo fue realizado por triplicado utilizando un control negativo (silicona sin injertar).

$$\text{Diclofenaco adsorbido (mg/g)} = \frac{C_1 - C_2}{W} \times V \quad \text{Ec. 4}$$

4.6.1 Desorción de diclofenaco

Las muestras de copolímero con diclofenaco previamente cargado se secaron a 40 °C y a vacío hasta peso constante. Fueron colocadas en viales con 5 mL de solución salina 0.9%, a 37 °C, protegidos de la luz y en agitación magnética. Se realizaron diversas lecturas de la absorbancia en el equipo de UV-vis durante un periodo de 48 h a 276 nm. La liberación del fármaco fue acumulativa, es decir, no se cambio el medio de liberación después de cada lectura.

4.7.2 Ensayo de actividad antimicrobiana

Las muestras utilizadas para el ensayo de actividad antimicrobiana, fueron esterilizadas previamente en una autoclave a 120 ° C durante 20 minutos. Después, los copolímeros de injerto se cargaron en 3 mL de disolución de diclofenaco durante 48 horas en agitación constante. Posteriormente las piezas se secaron con papel absorbente para remover la humedad excedente y fueron colocados en cajas petri con agar Müeller-Hinton inoculadas con *E. coli* (ATCC 11229TM) o *S. aureus* (ATCC 25923TM) a una concentración de 10⁸ UFC/mL (0.5 McFarland). Las placas se mantuvieron a 37°C durante 24 h y después se sacaron de la estufa para medir las posibles zonas de inhibición^{63, 64}.

4.7.3 Ensayo de actividad bacteriostática

El estudio de adhesión bacteriana en las películas modificadas fue realizado tomando muestras representativas de copolímeros de injerto (1 cm²), mismos que fueron colocados en viales con 5 mL de diclofenaco sódico (0.04 mg/mL) y fueron esterilizados

térmicamente a 120 °C durante 20 minutos en un equipo de autoclave. Posteriormente se agitaron las muestras durante 48 horas para llevar el proceso de carga de diclofenaco en las mismas. Las muestras se sacaron del medio y se les quito el exceso de solución con papel absorbente y fueron colocadas en viales con 2 mL de de solución *E. coli* en caldo de tripticasa de soja y agar (8×10^8 UFC/mL), las muestras se incubaron a una estufa 37 °C durante 3 h. Posteriormente las muestras fueron lavadas tres veces con SBF para remover las bacterias que no se habían adherido a la superficie; fueron colocadas en 2 mL de solución de buffer esterilizado, se sonicaron en un Bronson Sonifier-250 durante 5 minutos para liberar los microorganismos que se habían adherido a la superficie de las películas y así tener las bacterias en la solución amortiguadora. Se tomaron muestras de las suspensiones obtenidas y se realizaron inoculaciones en cajas petri con agar Müller-Hinton; se incubaron durante 24 horas a 37 °C: Finalmente se realizó el conteo de las UFC utilizando una cámara Neubauer⁶⁵. Las cajas petri con las cepas bacterianas previamente utilizadas, se sometieron a un tratamiento de esterilización en una autoclave a 120 °C durante 20 minutos, esto con la finalidad de eliminar los microorganismos.

4.8 Inmovilización de lisozima

Se cortaron películas de 1 cm², se lavaron en SBF y posteriormente en agua destilada; terminado el tiempo de lavado, se sumergieron las muestras en un vial con 3 mL de disolución enzimática a una concentración de 10 mg/mL, se dejó en agitación constante durante 24 horas a baja temperatura (4 °C) para que la enzima fuera estable. Transcurrido este tiempo, se extrajeron las muestras, se les removió la lisozima no inmovilizada y se secaron en una estufa de vacío a 30 °C hasta peso constante^{66, 67}.

4.8.1 Desorción de lisozima

Se estudio el perfil de liberación de la enzima que había sido previamente inmovilizada en los copolímeros de injerto (SR-g-NVCL), para lo cual las películas con enzima obtenidas en la sección 4.8, fueron colocadas en viales con 3 mL de SBF, fueron agitadas a 300 rpm y la cantidad de enzima liberada respecto al tiempo fue determinada mediante UV-vis a 280 nm. La cantidad liberada al medio fue determinada con la ayuda de una curva de calibración linealizada de concentración contra absorbancia previamente realizada. La liberación de la enzima fue acumulativa, ya que no se cambio el medio de liberación después de cada lectura^{68, 69}.

4.8.1 Estudio de la actividad catalítica de la enzima inmovilizada

Se preparó una disolución de *Micrococcus lysodeikticus* a una concentración de 0.6 mg/mL para obtener aproximadamente una absorbancia de 0.6 en SBF pH 6.2⁷⁰. Los copolímeros de injerto con lisozima inmovilizada previamente obtenidas (sección 4.8) fueron colocadas en viales que contenían 3 mL de la disolución bacteriana. Los viales fueron colocados en un baño a 25 °C e inmediatamente inicio la agitación del medio⁷¹. El ensayo se realizó en un espectrofotómetro Specord 200 plus (Analytik Jena AG, Alemania). Cada ensayo se realizó por triplicado y los datos están expresados en unidad de actividad enzimática (U). Se utilizó como blanco una suspensión microbiana en tampón fosfato sin película. Una unidad de actividad se definió como la disminución de 0,001 por minuto de la absorbancia a 450 nm. La actividad enzimática se cuantificó a partir de la disminución de la absorbancia registrada en presencia de la película menos la disminución registrada para el blanco por unidad de tiempo tal y como lo muestra la ecuación 5.

$$\text{Act. enzimática} = \frac{\Delta \text{Abs}_{450\text{nm}/\text{min}}^{\text{test}} - \Delta \text{Abs}_{450\text{nm}/\text{min}}^{\text{blanco}}}{(0.001)(\text{cm}^2 \text{ muestra})} \quad \text{Ec. 5}$$

4.8.2 Ensayo de actividad antimicrobiana de la lisozima inmovilizada

Los copolímeros de injerto se cargaron en 3 mL de disolución enzimática durante 24 horas en agitación constante a 4 °C, se extrajeron, se les retiro el exceso de disolución y fueron secadas a 30 °C durante 8 horas en una estufa de vacío. Posteriormente las piezas fueron colocadas en cajas petri con agar Müller-Hinton inoculadas con *E. coli* (ATCC 11229TM), *S. aureus* (ATCC 25923TM) o *S. Epidermidis* a una concentración de 10⁸ UFC/mL (0.5 McFarland). Las placas se mantuvieron a 37°C Durante 24 h. Transcurrido el tiempo, las cajas petri se sacaron de la estufa para medir los posibles halos de inhibición⁷².

4.9 Carga de Fosfomicina

Se cortaron películas de 1 cm² y se sumergieron en viales con 3 mL de la disolución del antibiótico (1 mg/mL) durante 24 h a 4 °C en agitación constante (300 rpm). Transcurrido

el tiempo de carga, se extrajeron las películas y se les quito la solución excedente; por último, se secaron las muestras en estufa de vacío a 30 °C hasta obtener un peso constante.

4.9.1 Desorción y cuantificación de fosfomicina

Las muestras que contenían FOS adsorbida de acuerdo a lo descrito en la sección 4.9, fueron puestas en viales ámbar que contenían 3 mL de agua con la finalidad de conocer la cantidad de antibiótico hospedado en nuestros copolímeros de injerto, además de observar el perfil de liberación de la FOS. Como la fosfomicina no presenta absorción en la región del UV-vis, se recurrió a un equipo HPLC-MS (Waters SQ detector 2); el estudio se llevó a cabo con la ayuda del software MassLynx V4.1. Se utilizó una mezcla de Agua-acetonitrilo (90:10) como fase móvil, una columna C18 marca Waters como fase estacionaria^{73, 74}; la determinación de fosfomicina fue posible gracias al ion molecular derivado de su primera fragmentación (137 m/z) bajo las siguientes condiciones:

- Modo de detección: Negativa
- Método de Ionización: Electrospray
- Cono: 2.46 kV
- Capilar: 33 V
- Temperatura de la fuente: 150 °C
- Temperatura de desolvatación: 350 °C
- Volumen de inyección: 20 µl
- Gas acarreador: Nitrógeno
- Flujo de fase móvil: 0.4 mL/min



Figura 19. Equipo de HPLC-MS utilizado para la detección y cuantificación de FOS.

La liberación del fármaco fue acumulativa, es decir, no se cambio el medio de liberación después de cada lectura.

4.10 Estudio de citotoxicidad

Para la determinación de la citotoxicidad de las películas modificadas mediante el proceso de injerto, se recurrió al ensayo de MTT, dicho estudio se realizó *in vitro* mediante el estudio de la supervivencia de células de fibroblasto (BALB/3T3; ATCC CCI-163™) Las muestras fueron esterilizadas por radiación UV durante 2 minutos y dejadas en 300 µL de medio de cultivo (DMEM F12 Ham, una compleja mezcla de nutrientes) suplementado con suero fetal bovino (SuFB) al 10% y 1% de la solución streptomicina-penicilina) a 37 °C durante 24 h. Se sembraron 100 µL de suspensión de células BALB/3T3 en DMEM F12 Jamón suplementado con FuBS al 10% y 1% de la solución antibiótica (200.000 células/ml) en placas de 96 pocillos.

Después de 24 h de incubación, se vertieron 100 µL de los medios en contacto con los materiales y se incubaron durante 24 ó 48 horas (37 °C, 5% de CO₂, 90% de HR). Posteriormente, las muestras y el medio de cultivo se reemplazaron con 100 µl de medio fresco, y se añadieron 10 µl del reactivo 1 del kit MTT. Después de 4 horas de incubación a 37 °C, se añadieron 100 µl del reactivo 2 del kit MTT y se incubaron de nuevo a 37 °C. Las placas se leyeron a 550 nm usando un lector de placas Elisa Bio-Rad 680 Microplate Reader^{65, 75}. La viabilidad celular se calculó usando la ecuación 1.

Las pruebas se realizaron por triplicado. También se prepararon controles negativos añadiendo sólo el medio de cultivo fresco a las células y tratándolas de la misma manera que las muestras.

$$\text{Viabilidad celular (\%)} = \text{Abs}_{\text{muestra}} / \text{Abs}_{\text{control neg}} \times 100$$

Ec. 6

Capítulo 5

Discusión de resultados

5.1 Síntesis de copolímeros aleatorios SR-*g*-(NVCL/4VP)

Se injertaron los monómeros (NVCL y 4-vinilpiridina) en un solo paso en la superficie del hule de silicona, esto con la finalidad de modificar sus propiedades de este polímero y así obtener un nuevo biomaterial, hidrofílico y estímulo-sensible al pH y a la temperatura. La primera respuesta es gracias al injerto de 4-VP y el cambio de comportamiento frente a los cambios de temperatura será por el injerto de NVCL. Las películas obtenidas fueron extraídas con gran facilidad debido a la no formación de altas cantidades de copolímero residual de reacción. Este hecho fue debido al efecto protector del anillo aromático de la 4-vinilpiridina, misma que bajó la tendencia de homopolimerización que experimenta la NVCL al ser irradiada.

Por otro lado, es conocido que el efecto del disolvente utilizado para una reacción de injerto por exposición directa a la radiación (método directo) influye directamente en el rendimiento, así también la dosis y la concentración, motivo por el cual estos factores fueron estudiados.

5.1.1 Efecto del disolvente

No se han publicado estudios sobre la copolimerización de 4-vinilpiridina con N-vinilcaprolactama sobre alguna matriz polimérica, por lo que se decidió realizar un estudio sobre el efecto de varios disolventes en la síntesis de los nuevos copolímeros de injerto.

En la Figura 20 observamos los porcentajes de injerto obtenidos de SR-*g*-(NVCL/4VP), el rendimiento más bajo fue obtenido al utilizar cloroformo, en este caso la matriz polimérica se degradó, posiblemente se deba a que la matriz polimérica SR al estar hinchada en demasía, la radiación incide en una mayor superficie y provoca la degradación de la película; además, el cloroformo crea una elevada cantidad de radicales libres debido a la

ruptura del enlace carbono-cloro, lo que provoca la formación de ácido clorhídrico y el exceso de radicales libres incrementa la degradación de la silicona.

En las reacciones de injerto realizadas utilizando isopropanol y etanol, se observó que el porcentaje de injerto aumenta, pero también hubo degradación de la matriz polimérica, debido a que estos disolventes al presentar un grupo hidroxilo, son capaces de generar radicales hidroxilo al ser irradiados, y como es sabido, estos radicales son altamente reactivos, motivo por el cual provocan la degradación de la matriz polimérica. De acuerdo a la Tabla 1, el tetrahidrofurano (THF), es el disolvente en el cual la silicona presentó un hinchamiento aproximado del 134%; con este disolvente los rendimientos de injerto rebasaron ligeramente el 140%. El copolímero de injerto obtenido con este disolvente mostró mejor apariencia física comparada con los anteriores; sin embargo, la película injertada que presentó menores señales de daño fue el obtenido con tolueno como disolvente, incluso con injerto superior al 100%.

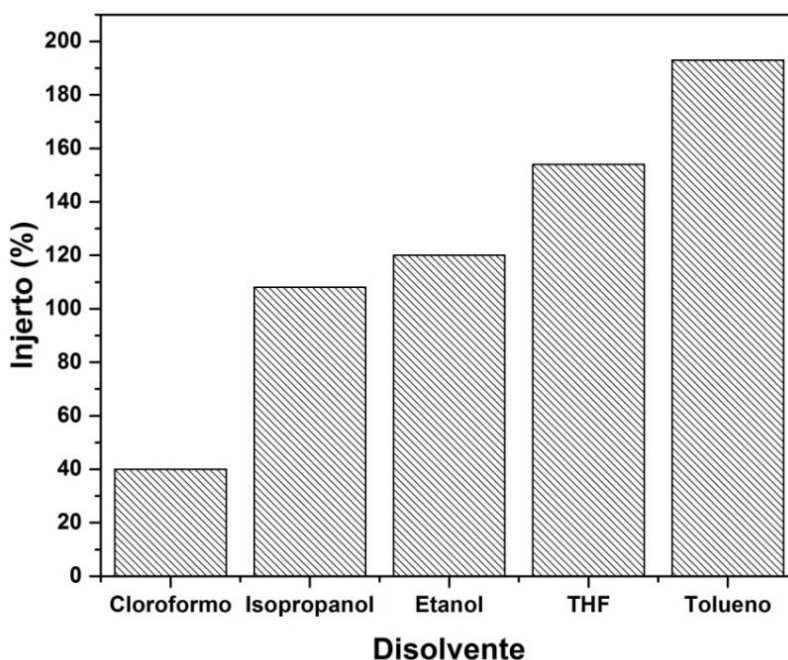


Figura 20. Porcentaje de injerto obtenido con diferente disolvente.

La reacción de injerto se favoreció al utilizar tolueno como disolvente, obteniendo rendimientos muy superiores comparados con los otros disolventes, la apariencia física era buena, no presentaban rugosidad a la vista, no mostraron signos de degradación.

Esto debido al efecto anisotrópico del anillo aromático que tiene el disolvente, el cual realiza un efecto protector adicional en la reacción provocando que la radiación electromagnética no impacte directamente sobre la matriz polimérica, gracias a la deslocalización electrónica del anillo aromático que genera un campo de protección.

Tabla 1. Grado de hinchamiento de la película de SR en diversos disolventes.

Disolvente	Hinchamiento (%)
Cloroformo	220
THF	134
Tolueno	115
Isopropanol	12
Etanol	5
DMF	3

5.1.2 Efecto de la concentración del monómero

Uno de los factores importantes a tomar en cuenta durante la modificación de un material es el efecto de la concentración del monómero o los monómeros, se realizó un estudio de este factor con la finalidad de observar cómo afecta al porcentaje de injerto durante el proceso de modificación. En la Figura 21 se observa que la concentración de los monómeros de NVCL y 4VP en el proceso de modificación de SR es muy importante debido a que concentraciones por debajo del 60% en volumen se obtienen porcentajes de injerto inferiores al 20%.

Esto es debido a que el anillo de 4VP ejerce un efecto pantalla cuando la radiación ionizante incide en su estructura, lo que disipa la energía del iniciador. Al aumentar la concentración a 70% observamos un salto inesperado al pasar un injerto de 20 a 110%, a esta concentración es mayor el efecto de la concentración del monómero por encima del efecto protector, es decir, a esta concentración existe un mayor número de especies formadas debido a un gran número de moléculas de monómero y aunque el efecto protector siga presente, la distancia entre las moléculas del monómeros con los sitios

reactivos es la suficientemente corta para llevarse a cabo el proceso de injerto. El porcentaje de injerto no incrementa a concentraciones de monómero más altas (80 y 90%).

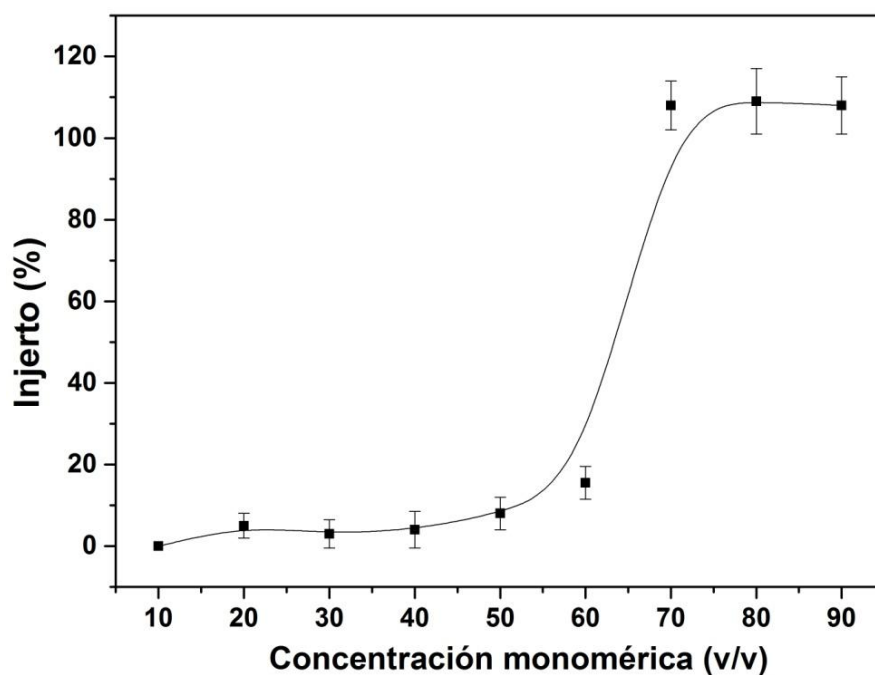


Figura 21. Porcentaje de injerto obtenido respecto a la concentración de monómeros en la síntesis de SR-g-(NVCL/4VP).

5.1.3 Efecto de la dosis

El rendimiento de la reacción de injerto sobre las películas de hule de silicona mostró dependencia respecto a la dosis aplicada, como podemos observar en la Figura 22, el porcentaje de injerto de la reacción se incrementó al aplicar mayor dosis. Podemos observar que al utilizar una dosis de 20 kGy se obtiene un rendimiento bajo (alrededor de 20%), el rendimiento no mejora mucho al aplicar 30 y 40 kGy. Al utilizar una irradiación de 50 kGy el porcentaje de injerto alcanza a superar el 50% de injerto. Cuando se utilizaron dosis de 60 y 70 kGy los injertos fueron alrededor del 100% y a dosis superiores a estas los porcentajes de injerto se dispararon obteniendo injertos de 200 y hasta 300%.

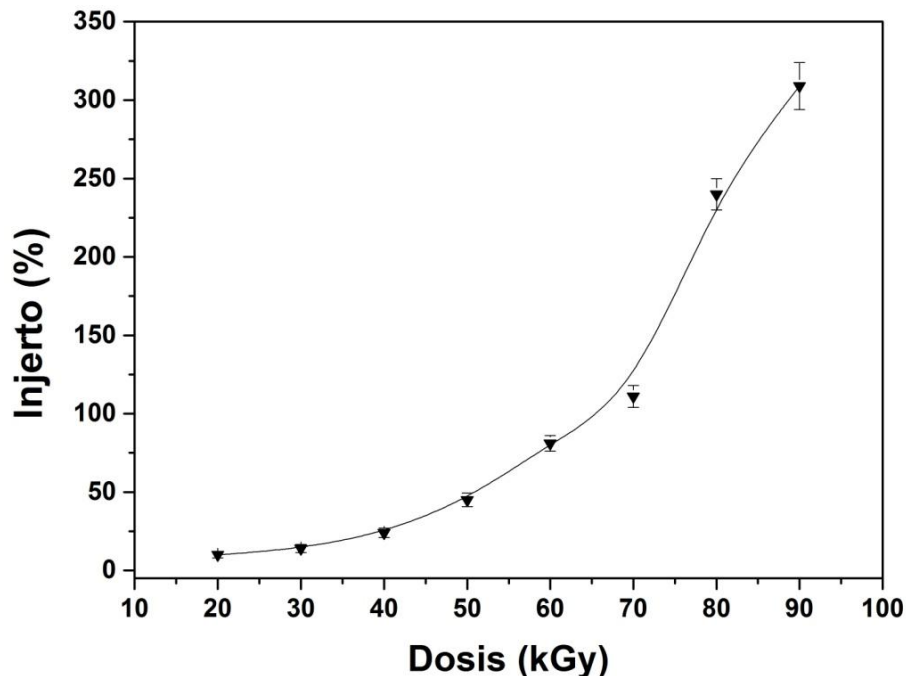


Figura 22. Porcentaje de injerto obtenido respecto a la dosis aplicada en la síntesis de SR-*g*-(NVCL/4VP).

5.2 Síntesis de (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL y (SR-*g*-NVCL)-*g*-4VP

5.2.1 SR-*g*-4VP

Se sintetizaron copolímeros de injerto de SR-*g*-4VP con la finalidad de obtener materiales pH sensibles, mismos que serían sometidos a un segundo proceso de injerto con un comonomero para observar las diferencias físicas y químicas con respecto a las sintetizadas en un paso (SR-*g*-(NVCL/4VP)). En la Figura 23 se observan los porcentajes de injerto obtenidos para el sistema SR-*g*-4VP a diferentes dosis; en esta figura se observa que hay una tendencia casi lineal entre la dosis y el porcentaje de injerto. En dicha figura podemos apreciar que a 50 kGy se obtiene un rendimiento aproximado de 50%, mientras que a 70 kGy, el rendimiento es superior al 100% de injerto. La tendencia fue ascendente hasta alcanzar un rendimiento del 300% de injerto cuando se aplicó una dosis de 90 kGy, para este entonces, el material mostró degradación. Estos rendimientos fueron alcanzados gracias a que la homopolimerización de la 4VP casi pasó desapercibida. El proceso de autoaceleración no fue visto para el caso de la 4VP

injertada debido a que cuando se forma un radical libre en el grupo vinilo al ser irradiada, el anillo aromático de la piridina le confiere estabilidad al radical libre a través de su efecto resonante y le otorga el tiempo suficiente para difundir en el medio y reaccionar con los radicales formados en la superficie de SR.

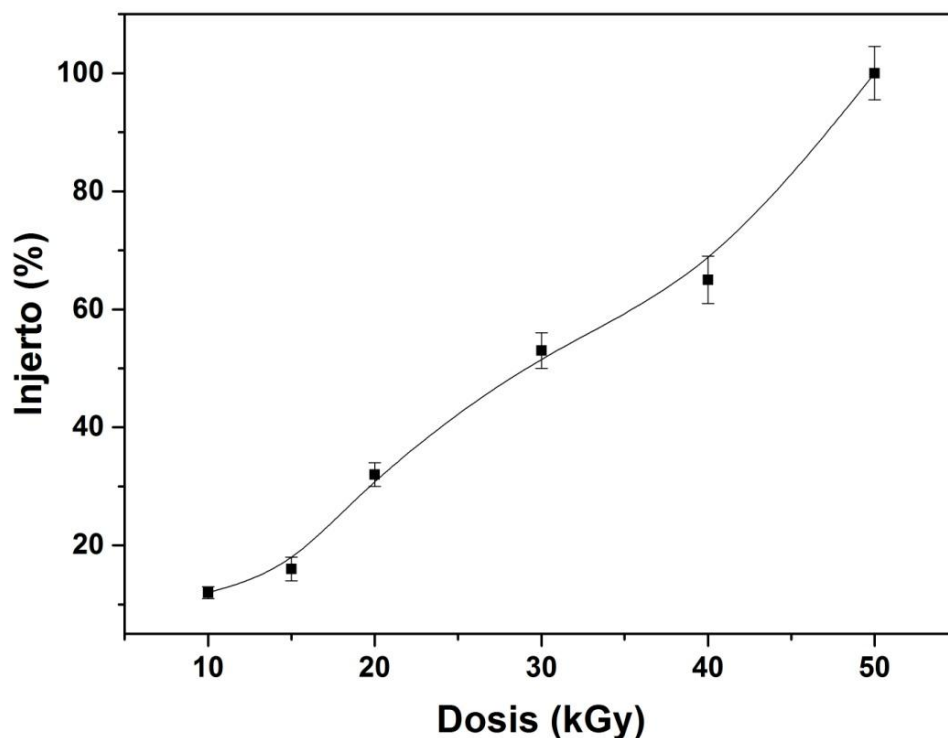


Figura 23. Porcentajes de injerto obtenidos de SR-g-4VP a 50% concentración de monómero en DMF y a diferente dosis.

5.2.2 SR-g-NVCL

Para el caso de SR-g-NVCL, los resultados de los injertos se encuentran resumidos en la Tabla 2. En este caso, se observó una alta tasa de homopolimerización; este fenómeno se le atribuye a la posible activación del enlace vinílico del monómero al ser irradiado, el cual prefiere reaccionar con otra molécula de NVCL, lo cual provoca un aumento de la viscosidad del medio de reacción; este aumento en la viscosidad disminuye la probabilidad de difusión de las moléculas del monómero hacia la matriz polimérica al mismo tiempo que el consumo del monómero se eleva rápidamente. Este fenómeno es

conocido como autoaceleración, mismo que provoca porcentajes de injerto bajos y altas concentraciones de homopolímero^{76,77}.

La Tabla 2 muestra que no hay diferencias abruptas entre un porcentaje de injerto y otro al aumentar la dosis aplicada como en el caso del injerto de 4VP: el injerto más alto fue obtenido aplicando 80 kGy; sin embargo, a ese porcentaje el homopolímero obtenido es duro, lo cual dificulta un poco la extracción de la película injertada.

Para ambos casos se utilizó DMF como disolvente con la finalidad de que la modificación predomine en la superficie, esto basado en la observación de que este disolvente no hincha a la matriz polimérica.

Tabla 2. Injertos obtenidos en la síntesis de SR-*g*-NVCL a 50% concentración de NVCL a diferente dosis.

Dosis aplicada (kGy)	Injerto (%)	Desvest (%)
10	6	1
15	11	1
20	17	2
40	34	3
50	36	3
60	37	1.5
70	48	2
80	50	3

5.2.3 síntesis de los copolímeros de injerto en dos pasos

El proceso de obtención de (SR-*g*-NVCL)-*g*-4VP fue un poco complicado debido a que las muestras de SR-*g*-NVCL se fragmentaban al someterlos al proceso de congelación-descongelación para desgasificar los medios de reacción, ya que se alcanzaba la temperatura de transición vítrea, T_g (2 °C) de la PNVCL, lo cual hacía el material quebradizo. En el caso de la síntesis de (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL no hubo complicaciones durante su obtención. En la Tabla 3 se resumen los copolímeros de injerto obtenidos en

dos pasos. Es importante mencionar que en el proceso del segundo injerto también se utilizó DMF como disolvente, con la finalidad de favorecer el injerto en la superficie.

Tabla 3. Resultados de muestras obtenidas en dos pasos.

Muestra	4VP (%)	NVCL (%)	Injerto total
(SR-g-4VP)-g-NVCL	5	11	16
	6	11	17
	8	18	24
	10	13	23
	32	15	47
	58	26	84
	58	38	96
(SR-g-NVCL)-g-4VP	58	45	103
	8	14	22
	10	14	24
	13	14	27
	6	11	17
	15	11	26
	18	11	29
	28	11	39
74	11	85	

5.3 Caracterización

5.3.1 Análisis FTIR-ATR de SR-g-(NVCL/4VP)

La caracterización del copolímero de injerto se realizó mediante espectroscopía infrarroja y por comparación con el espectro FTIR de la película de SR sin injertar; en la Figura 24 podemos observar el espectro del copolímero de injerto que muestra una banda de absorción a los 3963 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos C-H tanto del anillo

aromático de la piridina como los C-H alifáticos del injerto y de los grupos CH₃ del hule silicona.

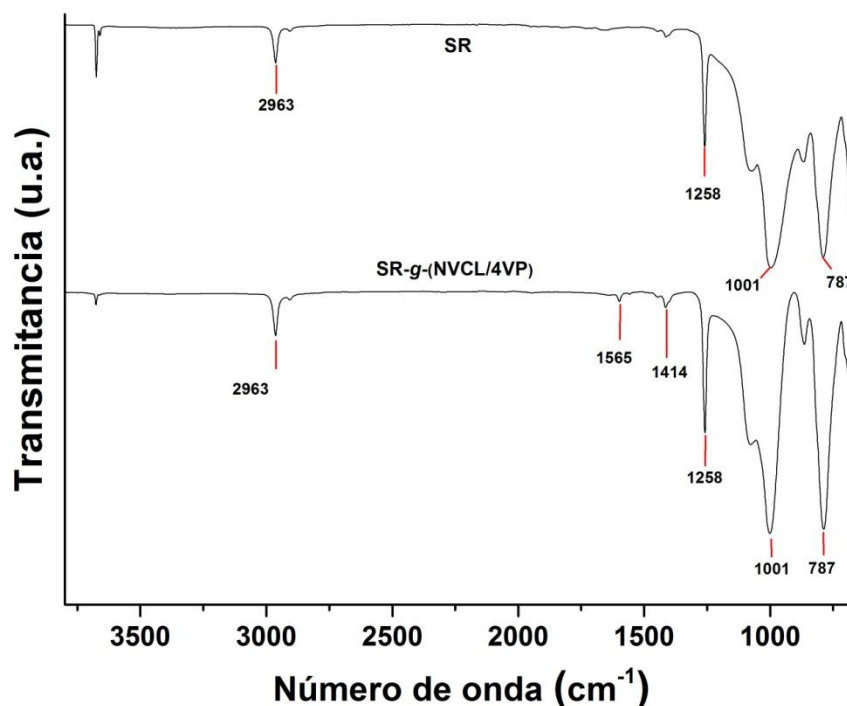


Figura 24. Espectro IR-ATR de SR y SR-g-(NVCL/4VP) con 50 % injerto.

Las bandas que aparecen en 1565 y 1414 cm⁻¹ corresponden a los estiramientos del enlace C-N de la piridina, la banda que aparece en 1258 cm⁻¹ se debe a las flexiones de los grupos metilo; posteriormente aparece una banda de absorción en 1001 cm⁻¹ correspondiente a los estiramientos Si-O-Si de la silicona finalmente aparece la banda a 787 cm⁻¹ correspondiente a los estiramientos Si-CH₃. Por su parte, el espectro de la silicona mostro las mismas bandas anteriormente descritas en 2963, 1258, 1001 y 787 cm⁻¹ correspondientes a la silicona sin modificar. Algo muy importante a destacar en el espectro de SR-g-(NVCL/4VP) es que no se logró observar la banda de absorción del grupo carbonilo, la cual debió a parecer alrededor de 1640 cm⁻¹. Por lo cual se decidió a realizar un análisis mediante espectroscopía Raman.

5.3.1.1 Análisis FTIR-ATR de SR-g-4VP y (SR-g-4VP)-g-NVCL

Los espectros FTIR-ATR de SR-g-4VP y (SR-g-4VP)-g-NVCL se observan en la Figura 25; SR-g-4VP presenta las señales características de la SR a 786, 1007 y 1258 cm^{-1} , mismos que corresponden a los estiramientos del enlace Si-C, Si-O-Si, y flexiones de los grupos CH_3 y CH_2 unidos al átomo de Si respectivamente.

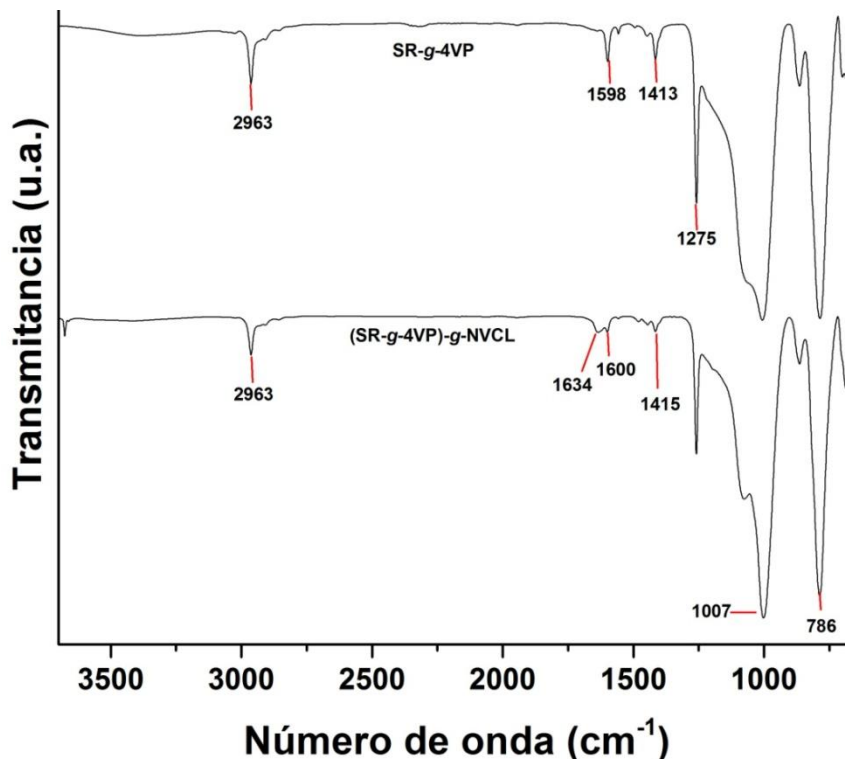


Figura 25. Espectro IR-ATR de de SR-g-4VP y (SR-g-4VP)-g-NVCL.

Las bandas de absorción que aparecen a 1413 y 1598 cm^{-1} se deben a los estiramientos del enlace C-N del anillo aromático; en 2963 aparece la señal de los enlaces C-H tanto aromáticos como alifáticos. Respecto a (SR-g-4VP)-g-NVCL, el espectro luce casi igual al de SR-g-4VP, excepto por una banda que aparece en 1634 cm^{-1} , misma que corresponde al grupo C=O de la NVCL, la cual había sido injertada en un segundo paso.

5.3.1.2 Análisis IR-ATR de SR-g-NVCL y SR-g-NVCL-Lis

En la Figura 26, se muestran los espectros de FTIR de la película de SR-g-NVCL con un 20% de injerto, así también el espectro de la película con lisozima inmovilizada en su superficie. El copolímero de injerto mostró una banda a 1633 cm^{-1} debido al estiramiento del grupo C=O de NVCL, y dos bandas a 2927 y 2856 cm^{-1} que están asociadas a las vibraciones de estiramiento de C-H. Estas bandas típicas de PNVCL demostraron el injerto de NVCL en SR.

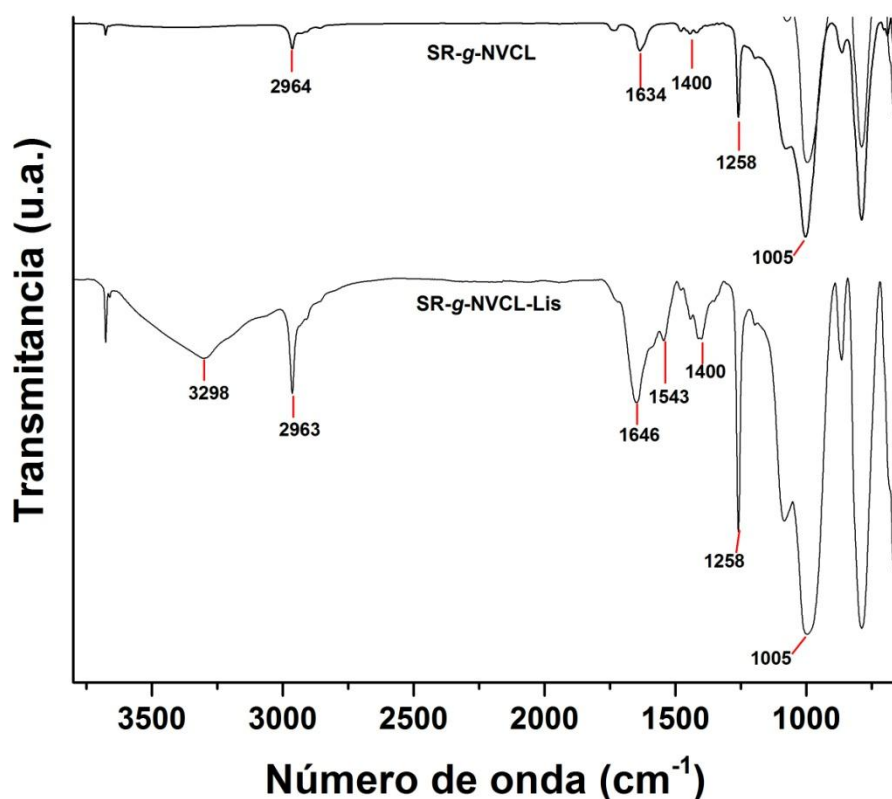


Figura 26. Espectro IR-ATR de SR-g-NVCL y SR-g-NVCL-Lis

Por otra parte, el espectro de SR-g-NVCL-Lis presentó picos característicos de la lisozima, una banda ancha a 3298 cm^{-1} debido al estiramiento de NH y -OH de grupos amina e hidroxilo de la proteína: en 1646 cm^{-1} se observa la banda que corresponde a la banda de la amida I (C=O) causada por las vibraciones de los enlaces peptídicos. La señal a 1543 cm^{-1} corresponde a la amida II propio de la enzima. La banda a 1400 cm^{-1} se debe a las flexiones de los enlaces N-H y C-N de la lisozima. Este espectro confirma la presencia de la enzima inmovilizada en la película de SR-g-NVCL.

5.3.2 Espectroscopía Raman

Este estudio se realizó con la finalidad de complementar la caracterización de SR-*g*-(NVCL/4VP) el cual no había sido claramente elucidado debido a la ausencia de una banda de absorción tan característica como lo es del estiramiento C=O. En la Figura 27 observamos el espectro de SR y de SR-*g*-(NVCL/4VP); las bandas que aparecen a 696 y 720 cm^{-1} se deben al estiramiento del enlace Si-C, ambos pertenecientes al hule de silicona; en 1090 cm^{-1} la banda de estiramiento C-C aromáticos y alifáticos^{78, 79}; en 1270 cm^{-1} al estiramiento de los enlaces C-N de la NVCL y del anillo de la piridina. Las bandas de 1420 y 1475 cm^{-1} aparecen por las flexiones de los grupos CH_3 y CH_2 respectivamente. En 1636 cm^{-1} aparece la banda correspondiente al grupo carbonilo de la caprolactama. Finalmente las bandas que aparecen a 2920 y 2974 cm^{-1} corresponden a los estiramientos simétricos y asimétricos de los enlaces C-H de la silicona y de la NVCL. En 3090 cm^{-1} aparece la banda de estiramiento C-H del anillo aromático de la 4VP. Por lo tanto, mediante esta técnica espectroscópica pudimos comprobar la presencia de la NVCL en el injerto binario obtenido en un paso, algo que no habíamos podido comprobar mediante FTIR-ATR.

Esto fenómeno puede tener dos explicaciones: una puede deberse al acomodo de las cadenas poliméricas y la otra es al orden en que ocurrió el injerto; es importante mencionar que había dos monómeros en el medio de reacción y que estos no tienen la misma reactividad, por lo que probablemente al final del proceso de injerto predominó uno por encima del otro, injertándose un comonómero casi al final, esta hipótesis podría adquirir mayor fuerza si tomamos en cuenta que el poder de penetración de la espectroscopía Raman puede ajustarse desde 0 hasta 100 micras; este estudio se realizó a 10 micras de profundidad, con lo cual se pudo observar el estiramiento vibracional del enlace C=O, mientras que el poder de penetración del haz del infrarrojo tiene un poder de penetración de 5-8 nm, es decir, no alcanzó a llegar a la profundidad en que estaba injertado la NVCL, solo alcanzó a detectar el injerto de 4VP. Esta hipótesis se retomará y reforzará con los estudios fisicoquímicos siguientes.

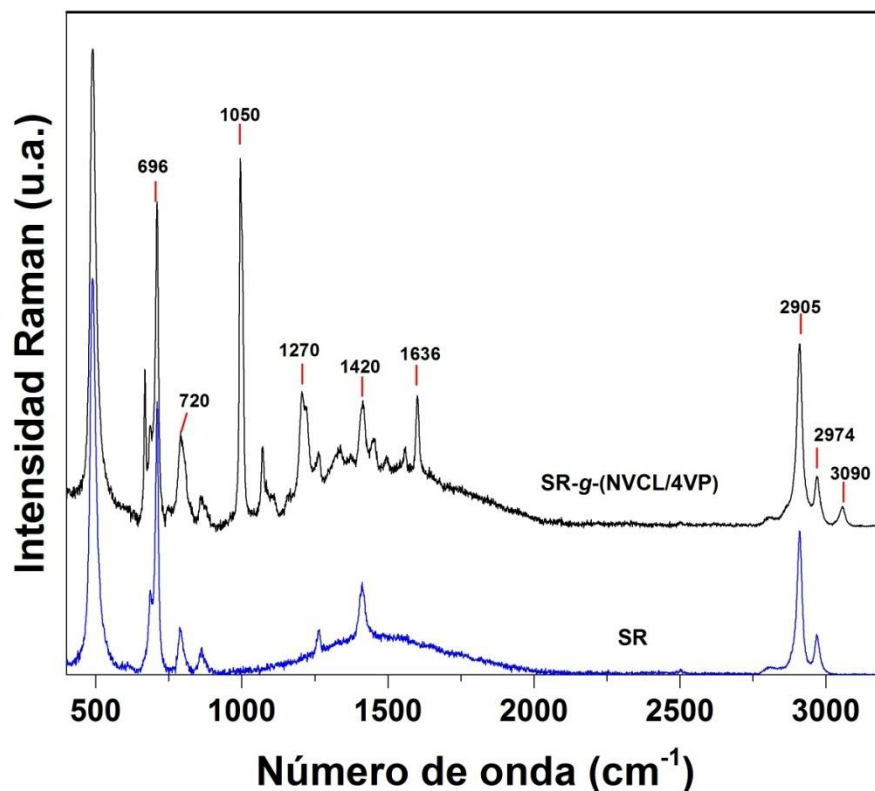


Figura 27. Espectro raman de SR-g-(NVCL/4VP) comparado con el espectro del hule de silicona a 785 nm con laser de neón, 10 μm de profundidad.

5.3.3 Calorimetría diferencial de barrido

Mediante este análisis térmico se pudo estudiar el comportamiento de los materiales polimérico obtenidos respecto a la temperatura. La temperatura de transición vítrea (T_g) es una transición térmica de segundo orden e indica el punto intermedio entre el estado fundido y el estado rígido del material. Por encima de la T_g , la movilidad de las cadenas poliméricas aumenta y el material adquiere un comportamiento elástico y gomoso; mientras que por debajo de ésta, la movilidad disminuye, haciendo que el material adquiera un comportamiento rígido y/o quebradizo.

En la Figura 28 se puede observar que el valor de T_g de SR-g-(NVCL/4VP) coincide con el del copolímero de injerto, a 143 $^{\circ}\text{C}$; este valor varía ligeramente con el porcentaje de injerto pero se mantiene en el mismo orden; la T_g que presentan tanto el copolímero de injerto y el copolímero corresponden a la poli(4-vinilpiridina). La película de SR no muestra

transición térmica alguna, debido a que el valor de su Tg (-70 °C) está muy por debajo del límite de detección del equipo utilizado para este estudio.

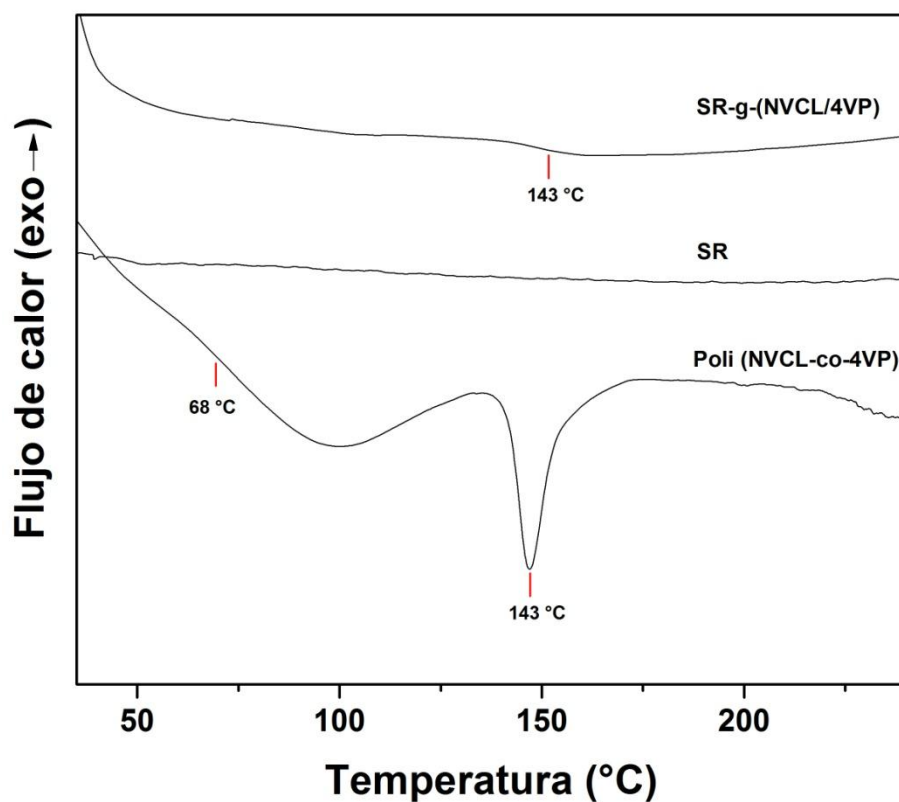


Figura 28. Termograma DSC de SR, el copolímero obtenido y de SR-*g*-(NVCL/4VP)

Tabla 4. Resultados obtenidos en el estudio mediante DSC.

Muestra	Injerto (%)	Tg (°C)	Temp. (° C) de reblandecimiento
PNVL	-	2	50
P4VP	-	143	-
Poli (NVCL/4VP)	-	143	68
SR	0	-72	-
SR- <i>g</i> -NVCL	12	-	67
SR- <i>g</i> -4VP	15	144	-
SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	8	143	68

Otra señal térmica observada fue por parte del copolímero de injerto el cual mostró una señal alrededor de 68 °C la cual corresponde a la temperatura de reblandecimiento de la PNVCL, sin embargo en el caso de la película injertada, esta señal fue apenas visible. La temperatura de reblandecimiento de la PNVCL y SR-*g*-NVCL puede ser observada claramente en el termograma situado en el Anexo 2. Todos los resultados se encuentran resumidos en la Tabla 4.

5.3.4 Análisis termogravimétrico

La estabilidad térmica tanto de la película injertada SR-*g*-(NVCL/4VP), fue estudiada y comparada con el copolímero y la matriz polimérica sin injertar. En la Figura 29, podemos observar que la temperatura de descomposición de SR es de 640 °C, mientras que su pérdida de peso al 10% ocurre a 518 °C. En este aspecto, podemos observar que la resistencia térmica de SR se ve negativamente alterada al ser injertada, ya que SR-*g*-(NVCL/4VP) mostró una temperatura de descomposición a 417 °C y una pérdida del 10% en peso a 403 °C cuando el injerto era del 42 %. El valor de 10% de pérdida en peso mostró una tendencia negativa con el aumento del porcentaje de injerto comparado con el de SR que fue de 542 °C; sin embargo, el valor de 10% de pérdida en peso de SR-*g*-(NVCL/4VP) fue superior al de los homopolímeros estudiados, tal y como se observa en la Tabla 4. Aunque es cierto que la resistencia térmica de SR se ve mermada al ser injertada, este valor no es tan drástico tomando en cuenta de que este tipo de materiales podrían tener aplicaciones biomédicas y que difícilmente se expondrán a temperaturas altas.

El poli (NVCL-co-4VP) presentó una pérdida del 10% en peso a 266 °C (Anexo 5), misma que está asociada en cierta parte a la humedad que probablemente absorbió del ambiente; su temperatura de descomposición fue observada en 399 °C mostrando un residuo del 2.1% a los 750 °C. Respecto a (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL, el comportamiento térmico fue similar al perfil de las muestras de SR-*g*-(NVCL/4VP).

Por otra parte, el residuo obtenido después del tratamiento térmico de SR-*g*-4VP no fue diferente al de SR sin modificar (32%), esto quiere decir que la P4VP injertada no afectó la estructura medular de las cadenas poliméricas del poli dimetilsiloxano (PDMS) ya que el injerto se degradó a compuestos gaseosos propios de la combustión sin afectar el porcentaje residual obtenido a 750 °C. Este caso no fue igual para el injerto de SR-*g*-

NVCL en donde el por ciento residual se vio reducido considerablemente, obteniéndose un 21.7 %, esto significa que la NVCL provoca una mayor descomposición térmica de SR al ser injertada (Anexo 4).

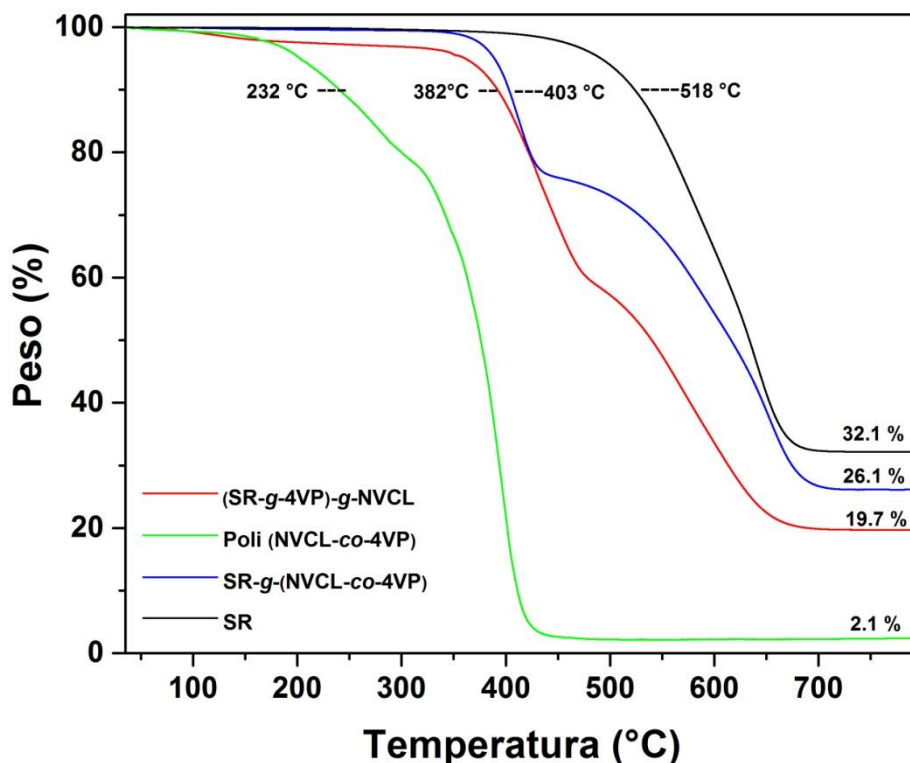


Figura 29. Termograma de SR, poli(NVCL/4VP) y SR-g-(NVCL/4VP) y (SR-g-4VP)-g-NVCL.

El efecto de la P4VP de no inducir drásticamente la degradación térmica de SR se observa mejor en los copolímeros de injerto binarios, para la muestra de SR-g-(NVCL/4VP) con 8 % de injerto se obtuvo un 30.9 % de residuo; en este caso el porcentaje bajo un 1% debido a la presencia de la NVCL. Para la muestra con 42%, el contenido residual fue aun más bajo (26.1%); y así sucesivamente hasta observar un porcentaje residual del 9.2% cuando el injerto fue dos veces el peso de la matriz polimérica. Esta tendencia demuestra que a injertos altos la NVCL provoca cada vez más la combustión de la cadena principal del hule de silicona.

Tabla 5. Resultados obtenidos mediante análisis termogravimétrico.

Muestra	Injerto (%)	10% pérdida masa (°C)	1 ^{era} Desc. (°C)	2 ^{da} Desc. (°C)	Residuo a 750 °C (%)
PNVL	-	358	437	-	1.42
P4VP	-	363	407	-	1.22
SR	-	542	563	640	32.1
Poli (NVCL-co-4VP)	-	266.6	269	391	2.1
SR-g-NVCL	12	409	437.7	560.3	21.7
SR-g-4VP	15	406	395	608	32
SR-g-(NVCL/4VP)	8	403	404.3	654.1	30.9
SR-g-(NVCL/4VP)	42	403	412	641	26.1
SR-g-(NVCL/4VP)	108	401	418	644	21.6
SR-g-(NVCL/4VP)	200	382.6	412	641	9.2
(SR-g-4VP)-g-NVCL	51 (34-17)	391.6	430.2	596	19.7

5.3.5 Resonancia magnética nuclear de ¹³Carbono

La resonancia magnética nuclear de ¹³C y ¹H son dos de las técnicas más eficaces que existen para llevar a cabo la caracterización de un compuesto, ya que no solo detecta los grupos funcionales o estiramientos de algunos enlaces, sino que hace posible la observación de todos los átomos de C o H presentes en la muestra.

La Figura 30 representa el espectro ¹³C RMN (100 MHz) de SR-g-(NVCL/4VP) en la que aparecen las siguientes señales: desplazamiento de 0 ppm corresponde a los metilos del PDMS⁸⁰; aparece una señal débil en 29 ppm que corresponde a los grupos CH₂ que reaccionaron con los monómeros; en 39 ppm aparece una señal ancha que corresponde a grupos metileno alifáticos presentes el anillo de la lactama y las cadenas poliméricas formadas por el injerto. La señal que aparece en 80 ppm corresponde a los C unidos directamente al átomo de N; el pico que aparece desplazado en 122 ppm le pertenece a los C en posición meta al átomo de N del anillo aromático⁸¹. En 149 ppm aparece la señal de los C en posición orto al N de la piridina y en 191 ppm se observa la señal del C ipso del anillo aromático. La señal más desplazada del espectro corresponde al C del grupo

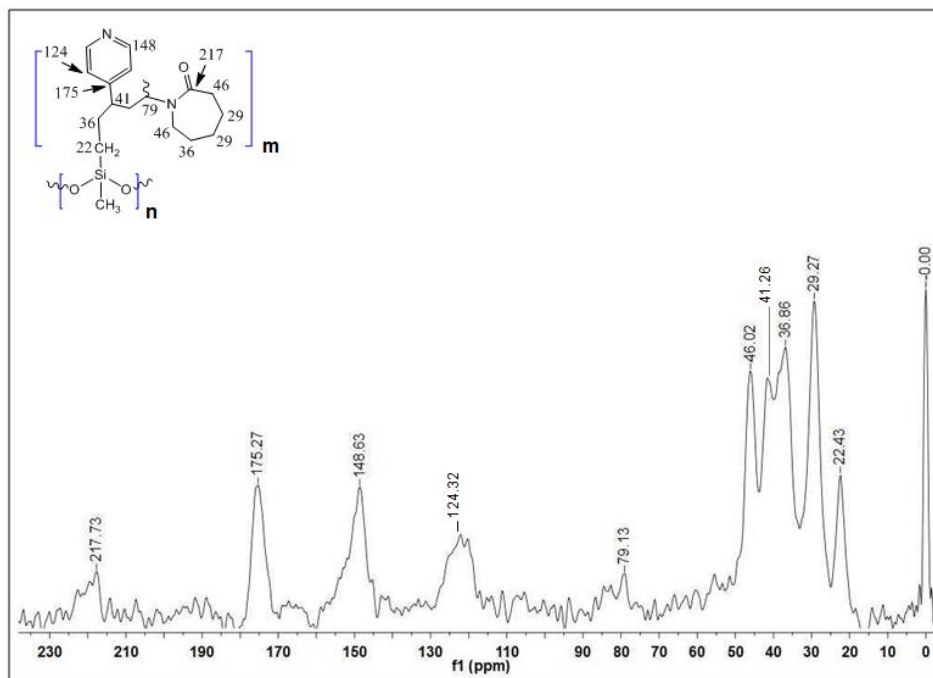


Figura 31. Espectro RMN ^{13}C -CPMAS de (SR-g-4VP)-g-NVCL.

La síntesis y caracterización de SR-g-NVCL se llevó a cabo debido a que fue el injerto que mostro mejor capacidad de inmovilizar lisozima. La Figura 32 muestra los espectros de ^{13}C -RMN de NVCL y SR-g-NVCL. El espectro de ^{13}C -NMR del monómero, exhibe señales a 23, 27 y 29 ppm para los átomos de C de grupos metileno (CH_2) correspondientes al anillo de lactama. Las señales a 37 y 44 ppm corresponden a metilenos que son α a grupos carbonilo y nitrógeno, respectivamente. Los carbonos del grupo vinilo se observaron a 92 y 132 ppm; el último pico coincide con el metilo que está unido al heteroátomo ($\text{N}-\text{C}=\text{}$). La señal a 174 ppm se debe a la presencia de un grupo $\text{C}=\text{O}$ y finalmente, el triplete apareció a 77 ppm, corresponde al cloroformo deuterado usado como disolvente.

Con respecto a la ^{13}C -RMN de la película injertada (SR-g-NVCL) se observaron algunos cambios en los desplazamientos químicos con respecto al espectro NVCL especialmente de los carbonos del grupo vinilo desaparecido. Los grupos CH_2 del anillo de lactama aparecieron casi al mismo desplazamiento, pero las señales se hicieron más amplias en el espectro del copolímero de injerto. Estos cambios se observaron debido al análisis RMN del copolímero de injerto se llevó a cabo en estado sólido, lo que provoca el

ensanchamiento de las señales. La banda de carbonilo de NVCL apareció a 177 ppm en el espectro, dicho desplazamiento no varió después de que la NVCL fuese injertada.

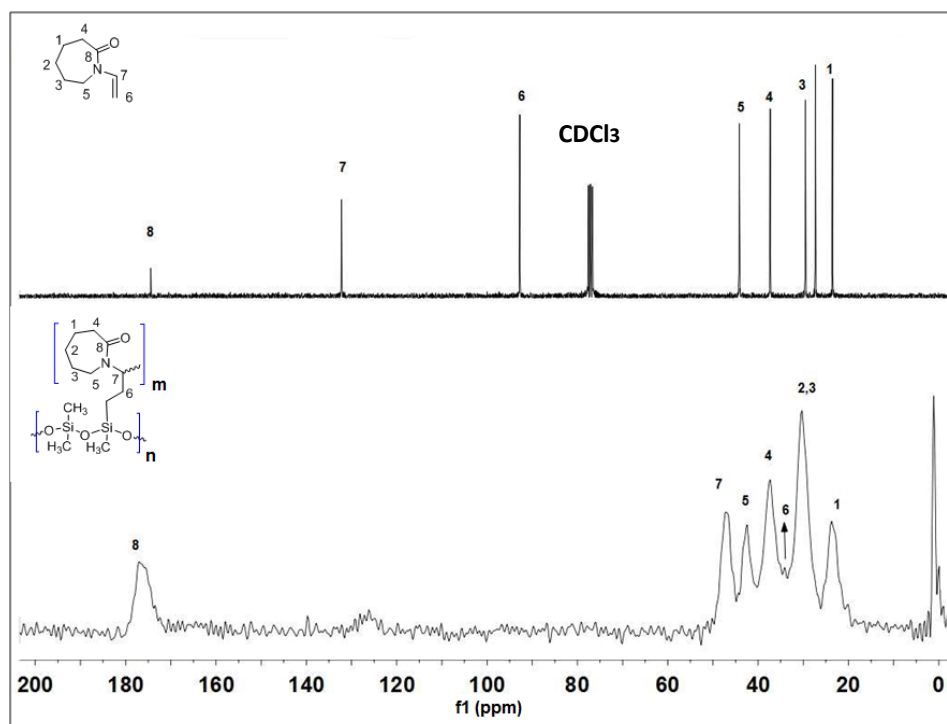


Figura 32. Espectro RMN ¹³C-CPMAS de SR-g-NVCL

Las señales que pertenecen al grupo vinilo cambiaron su posición, anteriormente los carbonos de este grupo aparecieron a 132 y 92 ppm, pero fueron desplazados a 37 ppm (-CH₂) y 47 ppm (N-CH-) en el espectro de SR-g-NVCL^{45, 82}. Esto se debe a que el doble enlace del grupo vinilo ha reaccionado y se ha convertido en una cadena alifática, es decir, no hay más electrones π que produzcan el efecto de desprotección; como resultado, los carbonos aparecen a valores más altos de campo magnético. La señal en 42 ppm corresponde al grupo CH₂ que está unido al átomo de N. La señal a 30 ppm corresponde a dos grupos metileno; β y γ N. Posteriormente, a 23 ppm se observó la banda de CH₂ que se encuentra en posición β al grupo carbonilo, misma señal que corresponde a los metilos laterales de la SR que establecieron enlace covalente con el vinilo del monómero, los cuales han adquirido un ambiente químico diferente a los CH₃ que no reaccionaron, estos últimos (CH₃) aparecen en 0 ppm⁸³.

5.3.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Los copolímeros de injerto fueron analizados mediante microscopía electrónica de barrido con la finalidad de observar la topografía de su superficie. En la Figura 33A se observa la superficie de la película de SR sin injertar. La superficie de SR-*g*-NVCL (Figura 33B) se ve ligeramente diferente al de SR, en esta figura se logra observar que el injerto tiene forma de hojuelas. Las micrografías de SR-*g*-4VP (33C) y SR-*g*-(NVCL/4VP) son las que más muestran un cambio en la superficie, el injerto con 4VP muestra pequeñas hojuelas derivadas del injerto, mientras que el injerto binario presenta una mezcla entre grandes y pequeñas (Figura 33D).

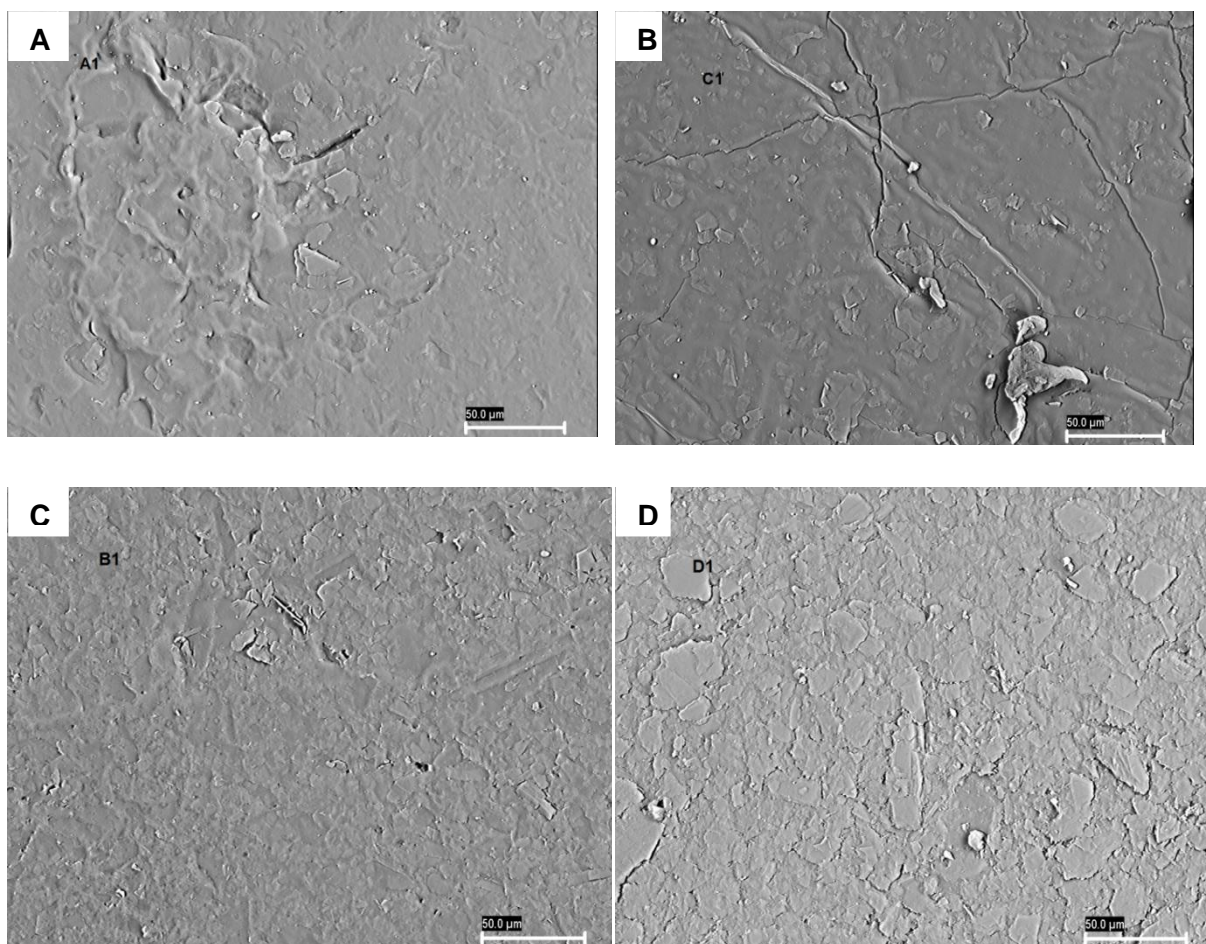


Figura 33. Micrografía de A) SR, B) SR-*g*-NVCL, C) SR-*g*-4VP y D) SR-*g*-(NVCL/4VP).

5.3.6.1 Análisis transversal y profundidad de injerto

Como el objetivo de este proyecto es realizar una modificación superficial de las películas de SR, se procedió a un estudio transversal del copolímero de injerto binario mediante microscopía electrónica de barrido. En la Figura 34A, se observa el perfil transversal de SR, la cual como era de esperarse, presenta homogeneidad. La micrografía 34B corresponde a la muestra de (SR-g-4VP)-g-NVCL, en este caso observamos una capa superficial que tiene apariencia un poco desordenada, debido al acomodo de las cadenas poliméricas. Por último, la Figura 34C, misma que pertenece a SR-g-(NVCL/4VP), este copolímero de injerto tiene una apariencia un poco diferente, se le nota más el injerto en forma de hojuelas, esto tiene coherencia con la observación que se había realizado en la Figura 34D.

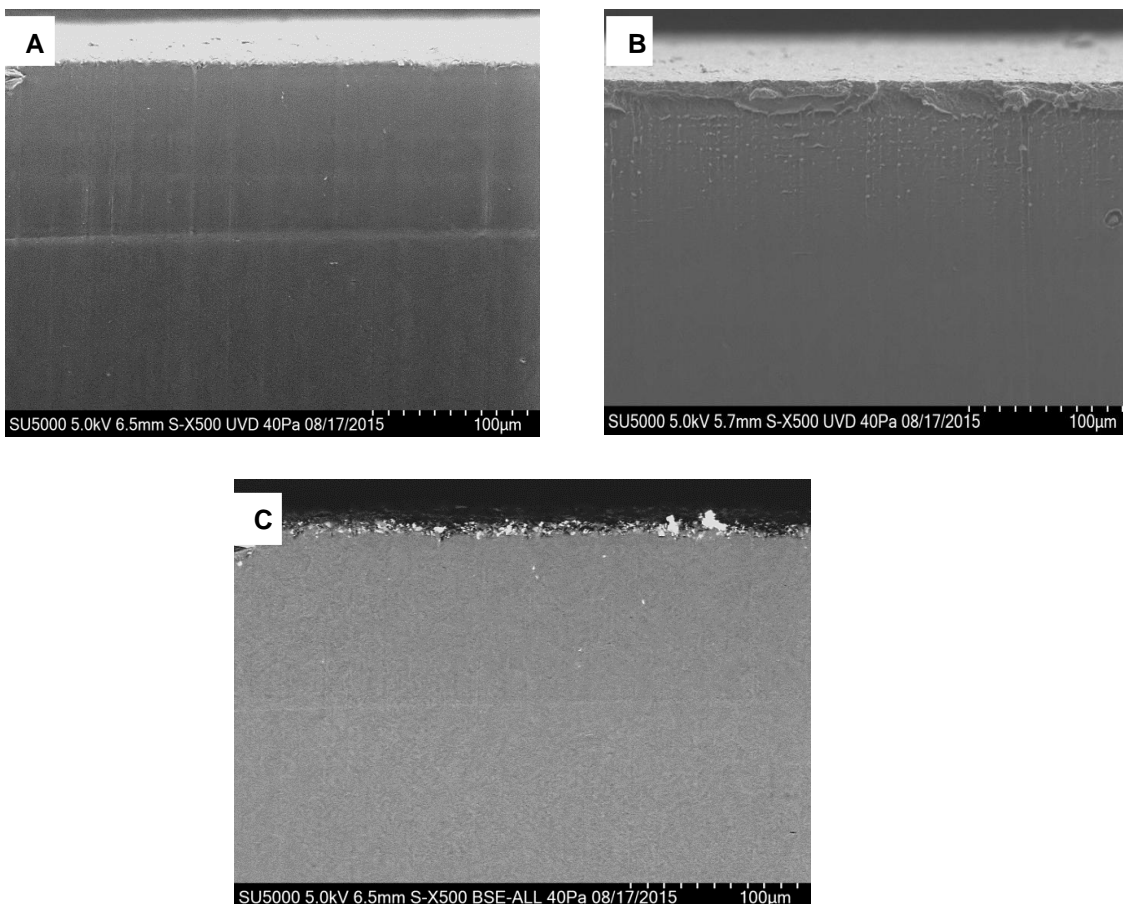


Figura 34. Análisis transversal mediante microscopía SEM de A) SR, B) SR-g-4VP)-g-NVCL y C) SR-g-(NVCL/4VP) a 500X.

La muestra de (SR-g-4VP)-g-NVCL fue la muestra elegida a analizar. Cabe mencionara que para la obtención de esta muestra, se utilizó DMF como disolvente ya que este hinchaba pobremente a la matriz polimérica. En la Figura 35 observamos varias profundidades las cuales fueron medidas gracias al software del equipo. Los resultados fueron de 7.45, 10.29 y 8.156 μm ; con esto se puede demostrar que el injerto fue en la superficie y no en masa. Este resultado es coherente con la literatura que menciona que los disolventes que hinchen pobremente a la matriz polimérica favorecerán el injerto superficial.

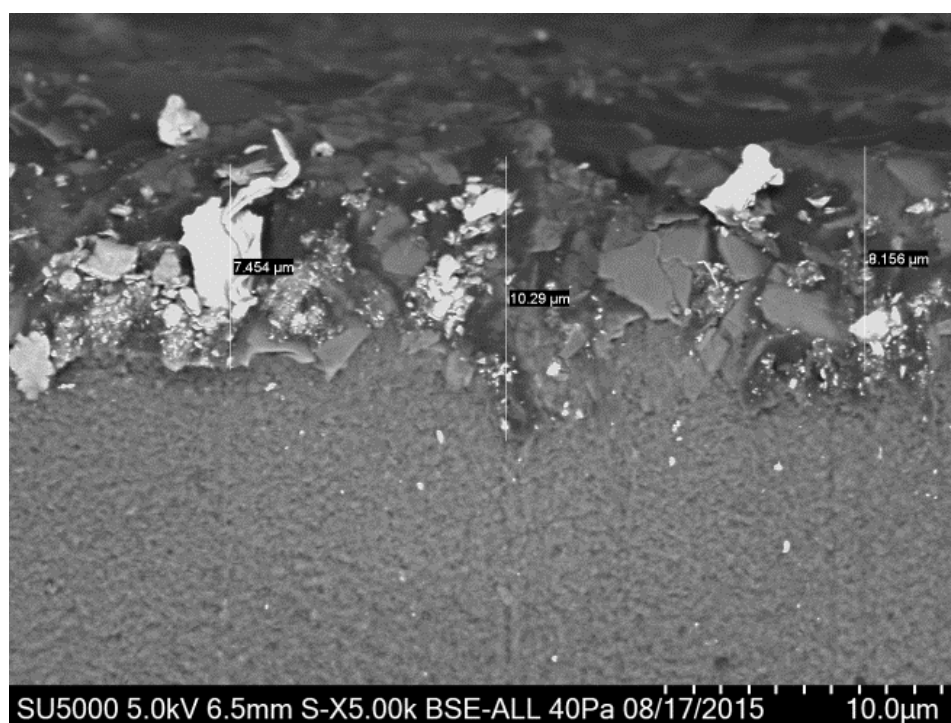


Figura 35. Micrografía transversal de (SR-g-4VP)-g-NVCL y análisis de profundidad de injerto a 5000X.

5.3.6.2 Espectroscopía dispersiva de energía de rayos X (SEM-EDS)

La muestra de SR-g-(NVCL/4VP) fue analizada mediante espectroscopía SEM-EDX (Figura 36), en este espectro podemos observar la presencia de varios elementos pertenecientes al injerto realizado sobre la superficie de SR; las cuales se distinguen en colores. En esta figura se logra observar que el injerto cubre toda la superficie de la SR y

se muestra un poco desordenado y de aspecto rocoso. En la tabla contigua al espectro SEM-EDX se observan los porcentajes elementales de los átomos identificados durante el estudio de dicha película.

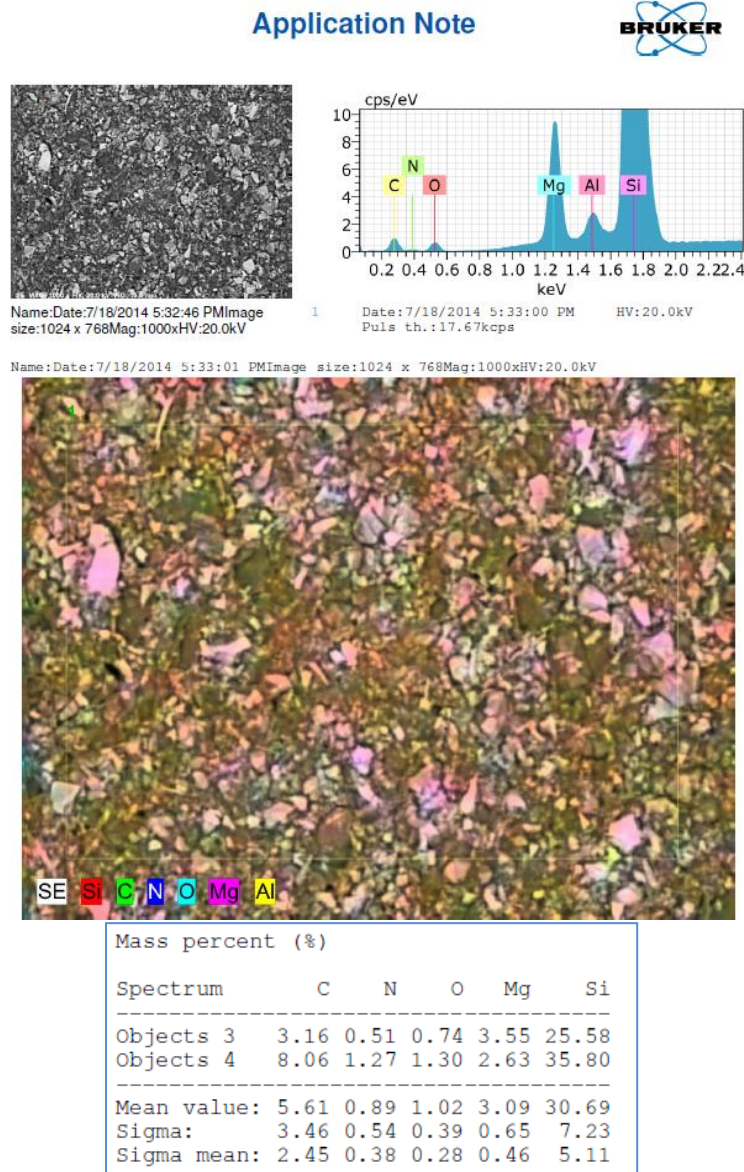


Figura 36. Espectro SEM-EDS de SR-g(NVCL/4VP).

Por otra parte, el injerto obtenido en dos pasos (Figura 37), muestra un injerto más homogéneo y estético; la apariencia física es más ordenada y se observa una mayor presencia de oxígeno y nitrógeno, mismos que corresponden a la NVCL injertada en el

segundo paso. La tabla adjunta al espectro EDX, presenta los porcentajes del análisis elemental realizado a la muestra de (SR-g-4VP)-g-NVCL.

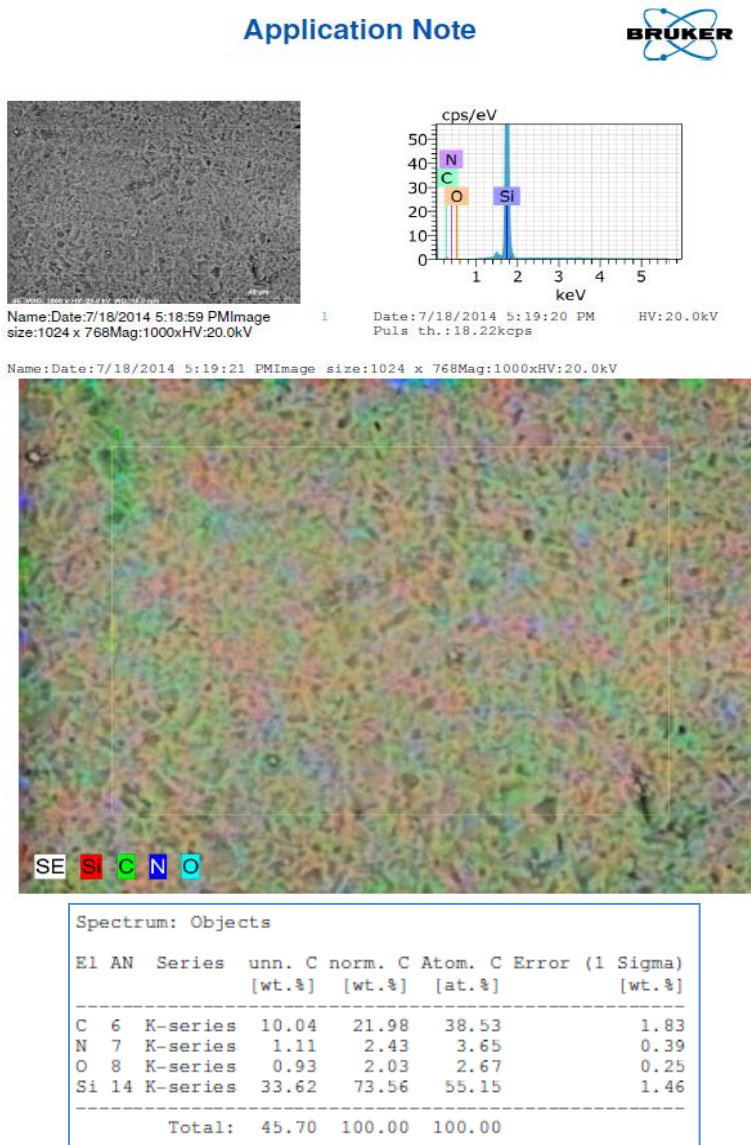


Figura 37. Espectro SEM-EDX de (SR-g-4VP)-g-NVCL.

El espectro EDX de SR-g-NVCL se muestra en la Figura 38, en esta se observa una coloracion muy diferente a las dos muestras anteriores, esto se debe al alto porcentaje que representan los atomos de N y O en el analisis elemental de la superficie de dicho copolímero de injerto.

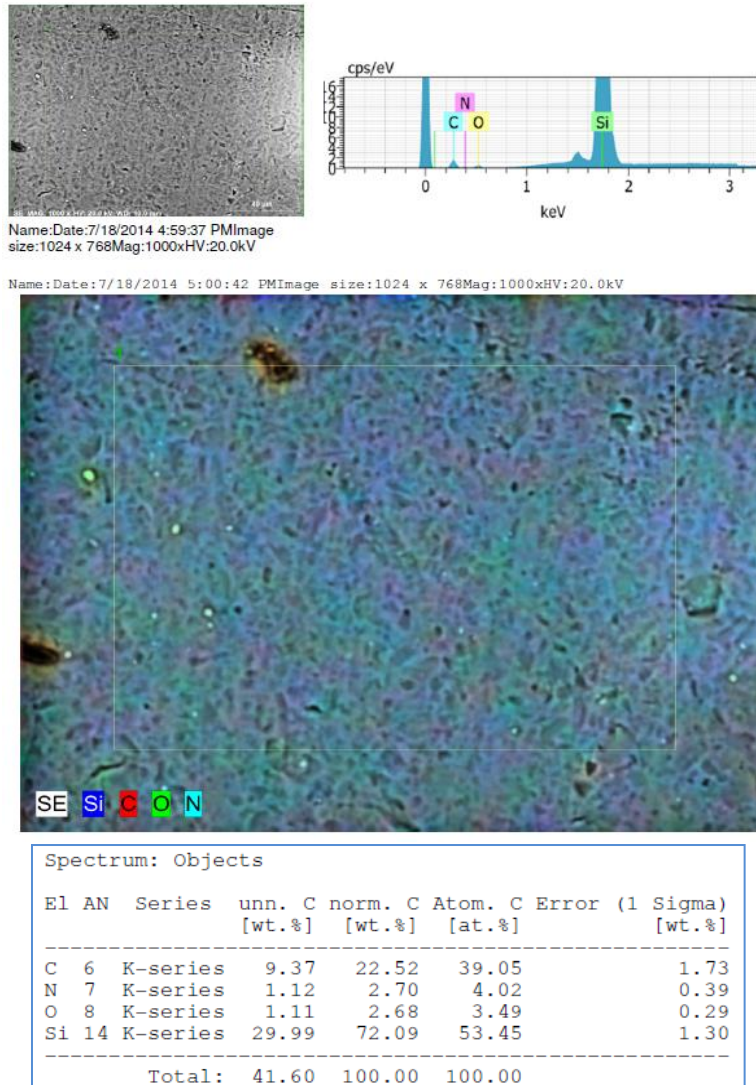


Figura 38. Espectro SEM-EDS de SR-g-NVCL.

En la Tabla ubicada en la parte inferior de la micrografía se encuentran resumidos los porcentajes elementales de los átomos detectados los cuales fueron, silicio, correspondiente a la silicona, carbono la cual corresponde a los metilos de SR y el injerto, el N corresponde a la 4VP y NVCL, mientras que el átomo de oxígeno pertenece a la estructura principal del PDMS y a al C=O de la NVCL.

5.3.7 Módulo de elasticidad

Películas de SR, SR en DMF, SR-g-NVCL, SR-g-4VP y SR-g-(NVCL/4VP) fueron sometidos a pruebas de tracción en las que se les determinó el módulo de Young, el porcentaje de deformación y la carga en el punto de rotura. Las pruebas mecánicas de las películas se realizaron con la finalidad de estudiar el efecto que produce el injerto en el material en la película de SR, así como también el efecto de la radiación en la elongación de la película de SR irradiada. A simple vista se observa un cambio de color y la disminución de la transparencia por parte de los copolímeros de injerto comparados con la película de silicona; sin embargo, dar una opinión solo por sentir que el material final es más rígido o duro, no es algo aceptable. Por lo tanto, se cortaron películas de 5 x 1.2 cm mismas que fueron injertadas de acuerdo al apartado 4.2.1. Una vez modificadas, estas fueron cortadas adecuadamente hasta obtener las probetas. Las películas tuvieron en promedio 1.1 mm de grosor. La determinación del módulo de Young se realizó bajo las siguientes condiciones: 23 °C, 52 % de humedad, velocidad de cruceta de 10 mm/ min y una distancia entre mordazas de 25.4 mm.



Figura 39. Ensayo de tracción de las probetas de los copolímeros de injerto.

La película de SR sin irradiar mostró una elongación aproximado del 481% y un modulo de Young promedio de 3.7, la elongación es alta debido a que el hule de silicona es un elastómero. Los copolímeros de SR-g-NVCL mostraron un notable incremento en el

modulo de Young, es decir, mostraron más resistencia a la elongación, este comportamiento era el esperado debido a que los sistemas injertados presentaron menor flexibilidad que SR. Se observó un incremento progresivo en el modulo de Young a injertos más altos. La flexibilidad de las películas se vio notablemente afectada por el injerto; puesto que las muestras mostraron elongaciones de 30% y 32% para copolímeros con 11 y 17% de injerto respectivamente (Figura 40). Estas elasticidades estuvieron muy por debajo de los copolímeros de injerto obtenidos con 4-vinilpiridina, los cuales mostraron elongaciones de 112% y 71% para muestras de SR-g-4VP con 17 y 33% de injerto, respectivamente.

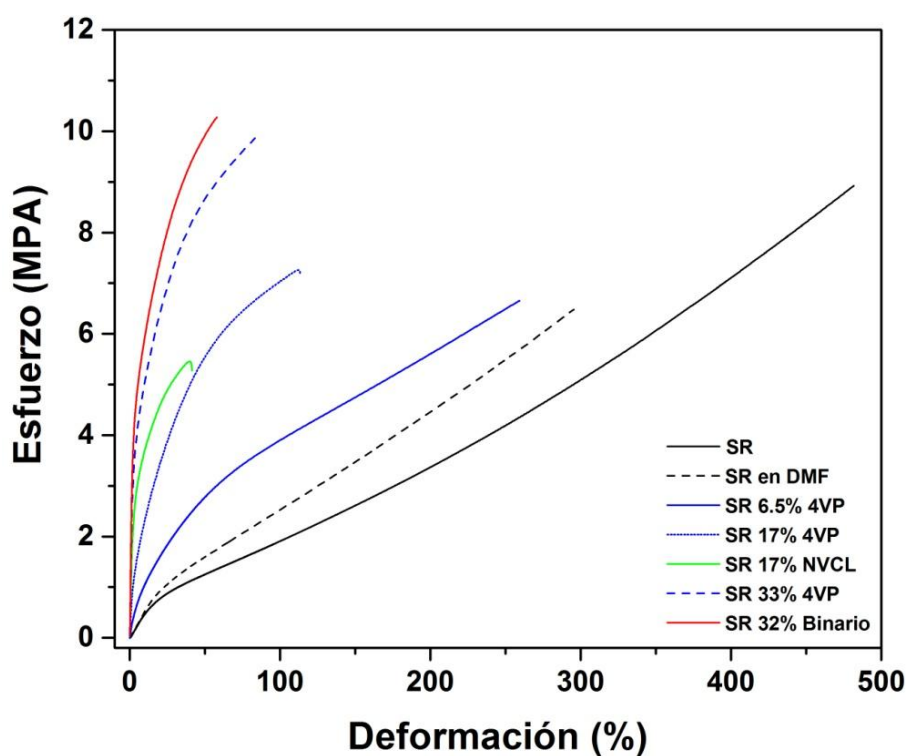


Figura 40. Estudio de tracción del hule de silicona, hule de silicona irradiada en DMF a 30kGy comparada con los copolímeros de injerto de NVCL y 4VP.

Mientras que SR presentó un modulo de Young de 3.7 megapascales (MPa), SR-g-NVCL con 17% de injerto mostró un modulo de Young de 151 MPa; 57 MPa para la muestra de SR-g-4VP con el mismo porcentaje de injerto. Es importante mencionar que mientras mayor es el valor de modulo de Young, más rígido es un material; por lo tanto, estos resultados nos indican que la NVCL le confiere una mayor rigidez a la película de SR cuando es injertada comparada con la 4VP (Tabla 6). De hecho, la muestra de SR-g-

NVCL con apenas 17% de injerto tuvo un menor porcentaje de elongación (32%) que copolímero binario de SR-g-(NVCL/4VP) con 32% de injerto, esta última tuvo una deformación del 54%; curiosamente, el copolímero binario tuvo el modulo de Young más alto (271 MPa).

Tabla 6. Valores obtenidos en la determinación del modulo de Young de películas de SR y SR-g-NVCL.

Muestra	Injerto (%)	Modulo Young (MPa)	Fuerza tensil (MPa)	Elongación a rotura (%)
SR	--	3.7 ± 2.6	9.8 ± 0.8	481.6 ± 32
SR en DMF (30 kGy)	--	4.5 ± 0.4	7.4 ± 0.6	305 ± 27
SR-g-NVCL	11	116.3 ± 1.6	4.1 ± 0.4	30.2 ± 7.5
SR-g-NVCL	17	151.7 ± 9.8	5.1 ± 0.1	32.4 ± 4.3
SR-g-4VP	6.5	10.2 ± 0.6	6.3 ± 0.8	232.2 ± 40
SR-g-4VP	17	57.3 ± 21	7.1 ± 1.5	112.3 ± 9.2
SR-g-4VP	33	244.4 ± 12	10.1 ± 0.4	71.9 ± 14.3
SR-g-(NVCL/4VP)	32	271 ± 15	9.6 ± 1	54.8 ± 19.5

El aumento del modulo de Young y pérdida de la elasticidad de los copolímeros de injerto se debe a que las zonas amorfas de la SR han sido ocupadas por el injerto, por lo que las cadenas poliméricas perdieron grados de libertad. Sin embargo, no toda la pérdida de la elasticidad se debe al injerto, puesto que un alto porcentaje de pérdida de elasticidad se debe al entrecruzamiento inducido por la radiación gamma sobre las cadenas de la película de SR, tal y como se observa en la Figura 40, en donde vemos el perfil de deformación de la película de SR irradiada a 30 kGy en DMF (SR en DMF), misma que presenta el 305% de elongación; esto es 176% menos elasticidad comparada con la película de SR sin irradiar, una pérdida notable de elasticidad causada solamente por la radiación.

5.4 Propiedades físico-químicas

5.4.1 Grado de mojabilidad (ángulo de contacto)

Las muestras injertadas mostraron un menor ángulo de contacto respecto a SR, esto es debido a la presencia de los grupos hidrofílicos capaces de establecer puentes de hidrógeno. En la Tabla 7 se observan los valores de los ángulos obtenidos.

La mojabilidad representa la interacción que existe en un sistema compuesto por un sólido y un líquido; esta depende de las fuerzas intermoleculares de los materiales en estudio. La fuerza de adhesión entre el líquido y el sólido provoca que el segundo se extienda sobre la superficie del primero; mientras que fuerza de cohesión del líquido hace que éste se abulte y tienda a evitarlo.

El método utilizado para determinar la mojabilidad de las películas injertadas fue el de la gota sésil o gota pendiente y sirve para determinar la tensión superficial que ejerce la superficie polimérica sobre el agua.

Tabla 7. Resultados de los ángulos de contacto obtenidos de los copolímeros de injerto en uno y dos pasos.

Muestra	Injerto (%)	Ángulo de contacto (°)	Desvest
Silicona	0	105.3	± 1.1
SR-g-(NVCL/4VP)	20	102.2	± 2.5
	45	101.7	± 1.7
	90	97.3	± 1.6
	200	71	± 2.3
SR-g-NVCL	7	83	± 1.8
	11	81	± 2.1
	16	72	± 2.3
	23	75	± 4.5
	33	92	± 1.3
	50	94	± 1.1
(SR-g-4VP)-g-NVCL	5-11	94	± 3.5
	34-20	92.7	± 2.1
	17-7	99.8	± 0.37
SR-g-4VP	13.5	93.6	± 2.3
	20	95.1	± 1.8
	33	95.4	± 1.7
	44	93.4	± 2.1

En la Tabla 7 se puede observar que para el caso de los injertos binarios obtenidos en un paso, SR-g-(NVCL/4VP), fue difícil encontrar ángulos de contacto bajos, un injerto del 20% nos brindó un valor cercano al 102°, sólo 3 grados debajo de la película sin modificar. Mientras que un injerto del 90% dio un ángulo de 97.3° grados, con el de 200% se obtuvo un ángulo de 71 grados. Lo cierto es que el injerto es muy elevado para obtener ese ángulo de contacto; sin embargo es importante mencionar que el ángulo no nos indica

la hidrofiliidad del material, sino solo la conducta de la superficie al contacto espontaneo con el agua.

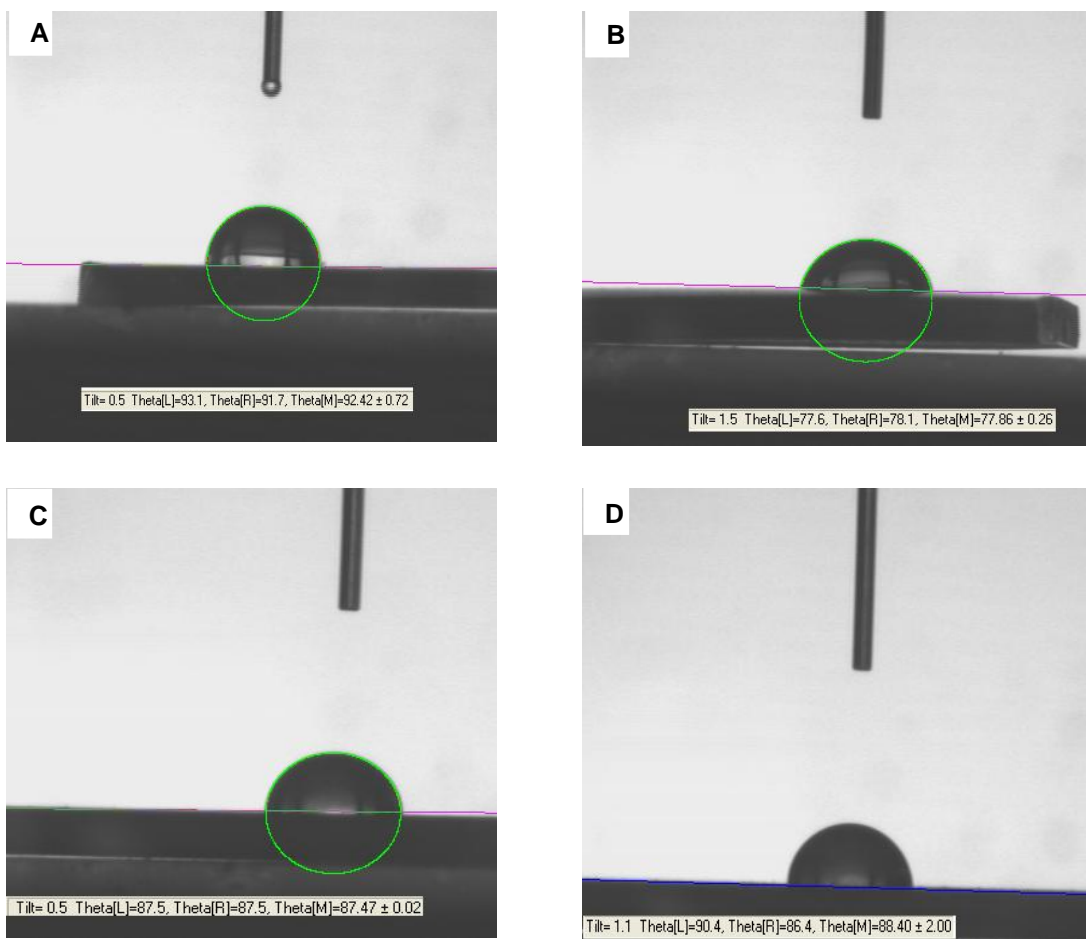


Figura 41. Ángulo de contacto de: A) SR-g-4VP, B) SR-g-NVCL, C) SR-g-(NVCL/4VP) y D) (SR-g-4VP)-g-NVCL.

Respecto a SR-g-NVCL, los resultados fueron mejores comparados con los mencionados en el párrafo anterior, en este caso, se obtuvo un descenso muy marcado del ángulo de contacto (83 °) para la muestra con 7% de injerto de NVCL comparada con la de SR. La muestra con 11% de injerto mostro un ángulo aun menor (81°), el descenso del ángulo siguió decreciendo con el aumento del porcentaje de injerto; esto se debe a un aumento en el número de grupos carbonilo presentes en las cadenas injertadas capaces de establecer puentes de hidrógeno con el agua. Sin embargo, la muestra de SR-g-NVCL con 33% de injerto mostró una conducta contraria a la tendencia seguida por las muestras

con menor porcentaje de injerto; ya que presentó un ángulo de 92° aproximadamente, el ángulo incrementó ligeramente más para el injerto de 50%; este comportamiento puede tener explicación por la longitud de las cadenas poliméricas que al ser más largas son capaces de establecer un mayor número de interacciones hidrofóbicas entre cadenas, estas interacciones le confieren un reagrupamiento y provoca que los grupos hidrofílicos no se encuentren tan expuestos. La Figura 41 muestra algunos ángulos de contacto obtenidos de las muestras injertadas.

Para el caso de las películas de (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL, el menor ángulo de contacto fue observado para la muestra con mayor contenido de injerto; para el caso en que el injerto de 4VP fue de 5% y 11% de NVCL, se obtuvo un ángulo de contacto de 95° , mientras que cuando había mayor porcentaje de injerto de 17% 4VP y 7% de NVCL el ángulo fue mayor (95°). Esto se debe a que la 4VP tiene menor capacidad de establecer puentes de hidrógeno con el agua. Este argumento se ve reforzado con los resultados obtenidos para SR-*g*-4VP (Tabla 7); en este caso, los ángulos de contacto se vieron ligeramente dependientes del porcentaje de injerto. Mientras que una muestra con 13.5% de injerto presentó un ángulo de 94.6° , un copolímero con 33% de injerto tuvo un ángulo de 95.4° .

5.4.2 Hinchamiento límite de SR-*g*-(NVCL/4VP)

Uno de los aspectos importantes que debe cumplir un biomaterial, es el de ser hidrofílico ya que esta propiedad le confiere mayor biocompatibilidad con el tejido vivo. Por lo tanto los copolímeros de injerto se sumergieron en agua con la finalidad de determinar la cantidad de agua que pueden absorber respecto al tiempo.

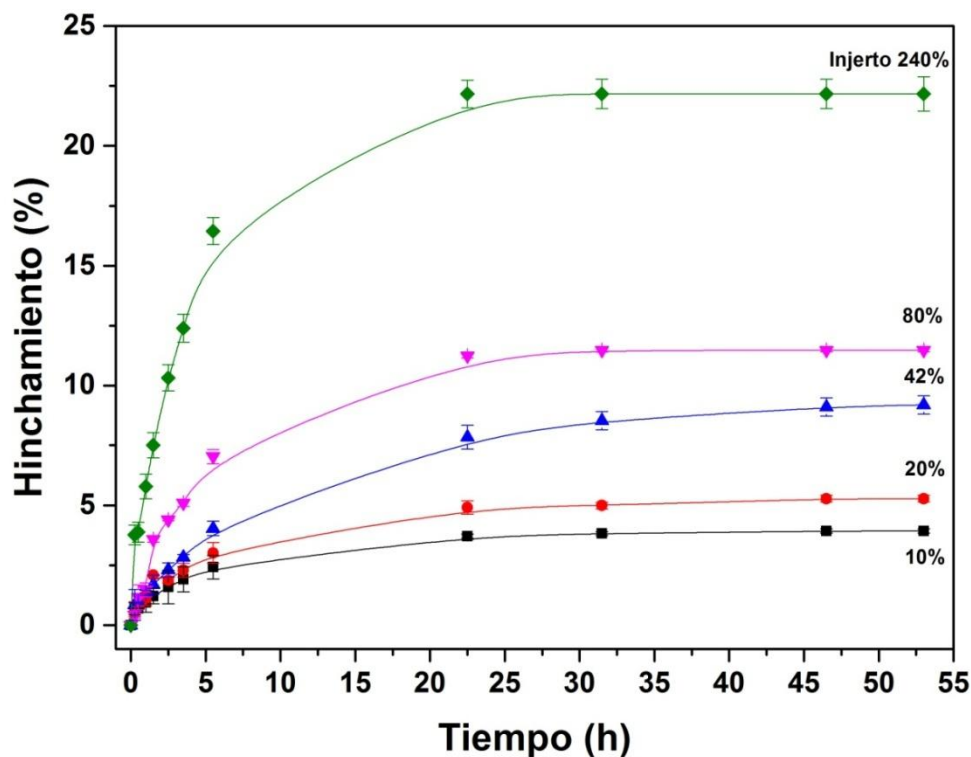


Figura 42. Determinación del hinchamiento límite de SR-g(NVCL/4VP) en agua.

En la Figura 42 observamos una dependencia entre el grado de hinchamiento y el porcentaje de injerto, es decir, a mayor porcentaje de injerto más hincha el material, esto se debe al aumento en el número de grupos hidrofílicos presentes en la superficie, los cuales tienen la capacidad de establecer puentes de hidrógeno. Mientras que la película de SR no presenta la capacidad de absorber agua, una muestra de SR-g(NVCL/4VP) de presenta casi el 4% de hinchamiento. Un injerto del 42% le confiere un grado de hinchamiento aproximado del 10%.

El grado de hinchamiento para SR-g-NVCL fue mayor a los obtenidos para SR-g(NVCL/4VP) con los mismos porcentajes de injerto (anexo 12), esto nos indica que las cadenas de PNVCCL tienen una mejor eficiencia para interactuar con las moléculas de agua que la P4VP. Mientras que una película de SR-g-NVCL con 34% de injerto muestra un grado de hinchamiento de 21%, una película de SR-g-4VP con un injerto del 52% mostró apenas un grado de hinchamiento no superior al 10%. Esto significa que las películas de SR-g(NVCL/4VP) y (SR-g-4VP)-g-NVCL deben su baja hidrofilia por la presencia de P4VP injertada tal y como los corroboramos en la Figura 43. El tiempo de

hinchamiento máximo para todos los copolímeros de injerto obtenidos ya sea en uno o dos pasos, se alcanzó alrededor de 24 horas; es decir, el material alcanza su máxima capacidad de absorción de agua en ese tiempo. Se observó también que el grado de injerto no influye en el tiempo de hinchamiento límite, solo en el grado de hinchamiento.

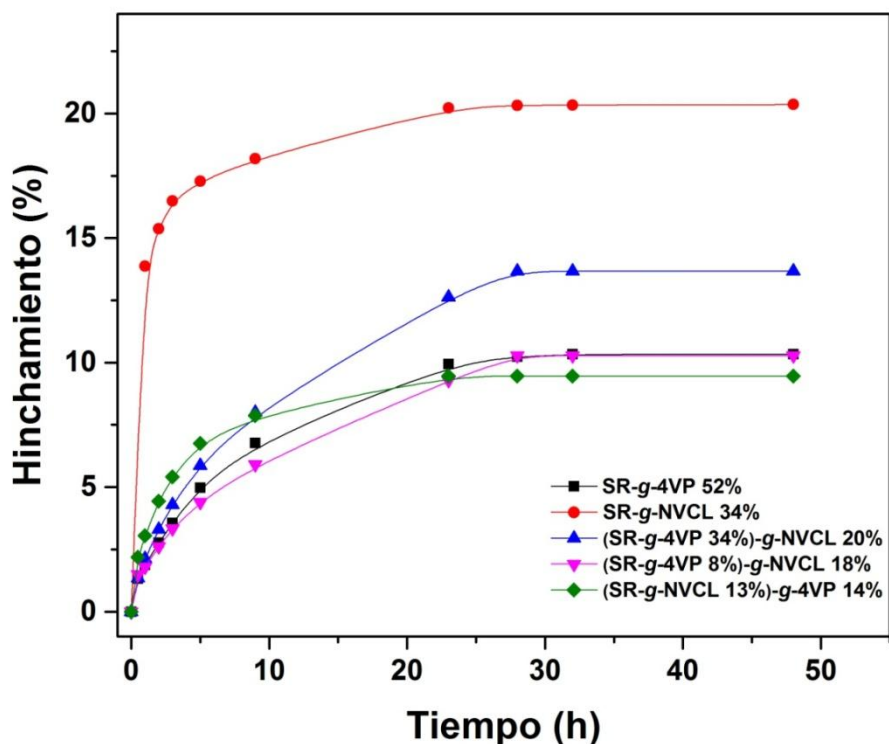


Figura 43. Cinética de hinchamiento de SR-g-NVCL, SR-g-4Vp y los copolímeros de injerto obtenidos en dos pasos, (SR-g-4VP)-g-NVCL.

Se observó una dependencia entre el grado de hinchamiento y el contenido de injerto, es decir, que las películas con un mayor grado de injerto presentaron mayor capacidad de adsorción. Este comportamiento se puede explicar por la presencia de grupos capaces de establecer puentes de hidrógeno con el agua tales como el N presente en el anillo de la piridina y el grupo carbonilo del anillo de la lactama. Algunos autores han descrito que tiempos de hinchamiento límite elevados son un factor determinante para una liberación prolongada de un fármaco hospedado en una matriz polimérica. El tiempo de hinchamiento obtenido en este estudio sirve para determinar los tiempos de inmersión para la determinación de pH crítico y temperatura de respuesta (LCST o UCST)⁸⁴.

5.4.3 pH crítico

El pH crítico de los copolímeros de injerto al igual que la respuesta a la temperatura crítica, mostró dependencia con el porcentaje de injerto en las películas. El pH crítico para SR-*g*-P4VP (Anexo 11) es de aproximadamente 4.7^{55, 85}, pero es sabido que cuando un monómero pH-sensible es polimerizado en compañía de un comonómero, la respuesta al pH se ve afectada, ese fue el caso con los copolímeros aleatorios obtenidos mediante este método. En la Figura 44 se observa que el sistema SR-*g*-(NVCL/4VP) con 42 % de injerto perdió su cualidad de respuesta al pH; la película con 108% de injerto muestra una ligera variación en el grado de hinchamiento, variación ligeramente notable. Los copolímeros de injerto con un alto porcentaje de injerto mostraron pH de respuesta; sin embargo esta se vio desplazada hasta valores ligeramente alcalinos. Mientras que la película presentó un pH crítico de 7.6, el de 300% de injerto lo mostró a 7.8, aunque es cierto que el pH estuvo muy lejos del esperado, eso no resulta del todo negativo debido a que ese pH es muy cercano al fisiológico (pH de la sangre).

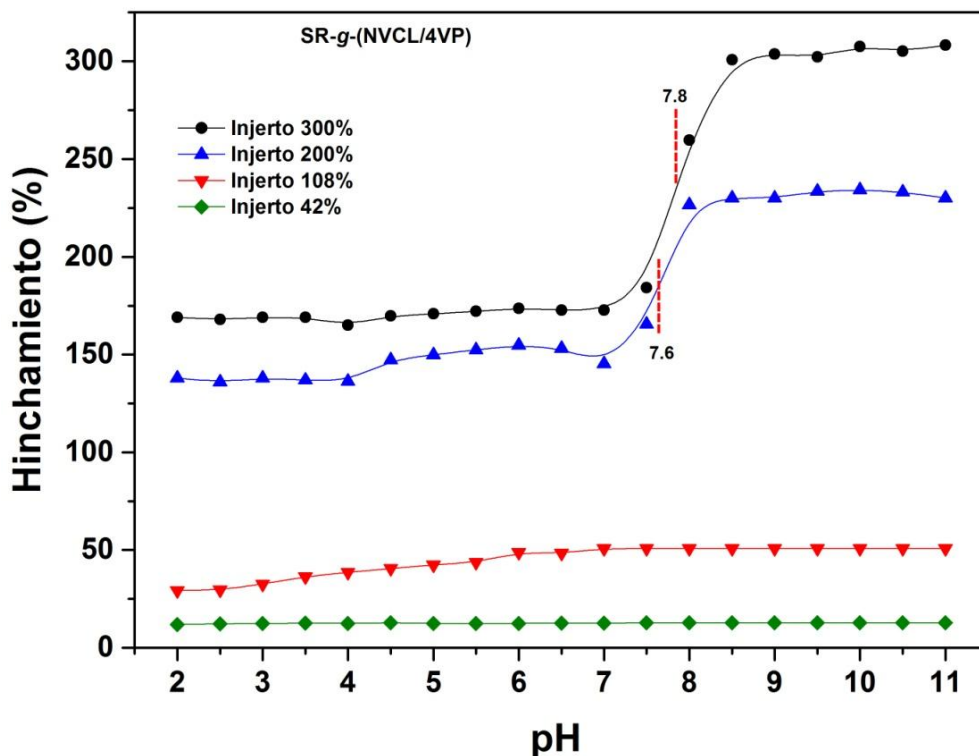


Figura 44. pH crítico de SR-*g*-(NVCL/4VP) a temperatura ambiente en diferentes soluciones amortiguadoras de pH.

El corrimiento del valor de pH crítico (7.6) que mostraron los copolímeros de injerto SR-g-NVCL/4VP, se debe a la presencia del anillo alifático de la NVCL. Al parecer, la presencia de la parte hidrofóbica de la NVCL (cabe recordar que es anfifílica, es decir tiene una parte hidrofóbica y una hidrofílica) afecta la sensibilidad de la P4VP al pH. Rogel-Hernández y colaboradores demostraron que el corrimiento del pH crítico a valores altos se debe a la presencia y longitud de alguna cadena o fragmento alifático unida a un fragmento sensible al pH⁵¹.

5.5 Temperatura crítica de respuesta (UCST y LCST)

La respuesta a la temperatura por parte de los copolímeros de injerto es un aspecto importante ya que de ello dependerá la velocidad de desorción del fármaco y/o enzima.

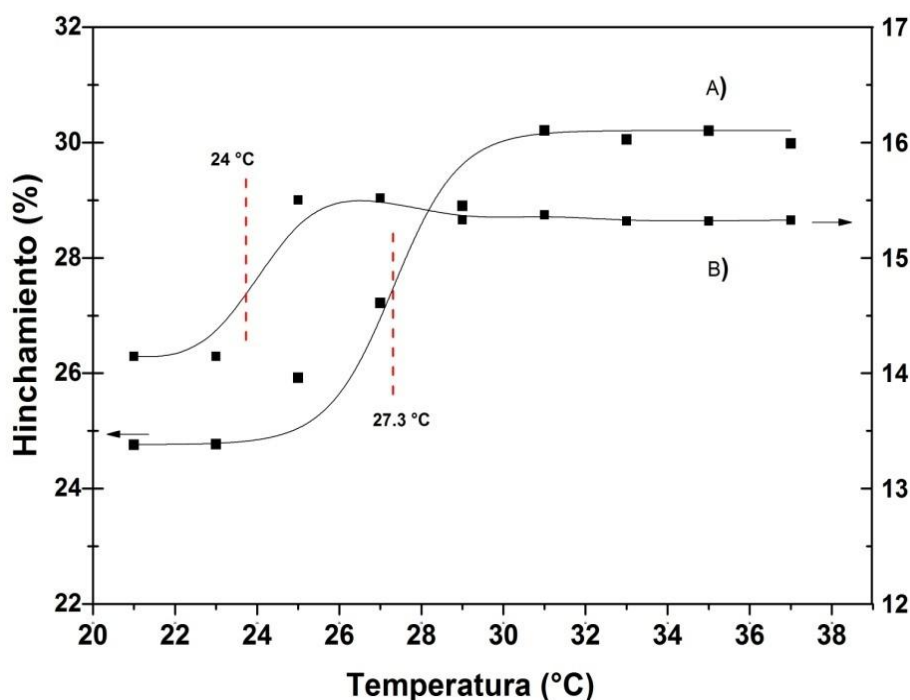


Figura 45. Cambios de hinchamiento de los copolímeros SR-g(NVCL/4VP) a diferentes temperaturas; A) 240% injerto, B) 90% injerto.

La PNVCL injertada en el hule de silicona presenta una temperatura crítica entre 32 y 34 °C (Anexo 13); sin embargo, ésta no fue la temperatura crítica de los copolímeros de injerto obtenidos en un paso, SR-g(NVCL/4VP). En la Figura 45 observamos que la

respuesta a la temperatura es afectada por el porcentaje de injerto; un copolímero con un porcentaje de injerto aproximado de 240 presentó una respuesta cercana a los 27 °C, por otro lado un copolímero con 90 % de injerto tuvo una temperatura crítica de 24 ° C (UCST).

La respuesta que presentaron los copolímeros aleatorios fue sorprendentemente de tipo UCST, algo realmente inesperado debido a que la NVCL presenta LCST; esto es debido probablemente a la presencia de la 4-vinilpiridina ya que esta tiene un carácter más hidrofóbico comparado con la NVCL por lo que influye directamente en el comportamiento termodinámico de las películas modificadas en medios acuosos. Generalmente la LCST se puede desplazar hacia valores más bajos si se adicionan especies hidrofóbicas y se desplaza a temperaturas un poco más altas cuando se le combina con polímeros hidrofílicos, en este caso todo parece indicar que hay un mayor porcentaje de 4VP injertado que de NVCL por lo tanto invierte la respuesta de LCST por UCST. Este argumento será demostrado con el estudio del efecto de la 4VP sobre SR-*g*-NVCL.

5.5.1 Estudio del efecto de la NVCL sobre el pH crítico de la 4VP

Cuando se injerta un monómero termo-sensible acompañado de un comonómero pH-sensible se corre el riesgo de que el material no presente la temperatura ni el pH crítico de respuesta que estos solían tener en sus respectivos homopolímeros, tal y como sucedió con los copolímeros de SR-*g*-(NVCL/4VP).

En la Figura 46 observamos que la NVCL afecta drásticamente al pH de respuesta de la P4VP, de hecho le confiere cierto carácter zwitteriónico. El comportamiento de (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL está muy lejos del comportamiento habitual de la P4VP, ya que presenta dos pH críticos. Una a pH cercano a 4.7, un comportamiento de hinchamiento debido a la protonación del átomo de N de la piridina y un pH crítico de 7.5 aproximadamente, un comportamiento de colapso. El colapso debe a que a pH básico ocurre la desprotonación del átomo de N.

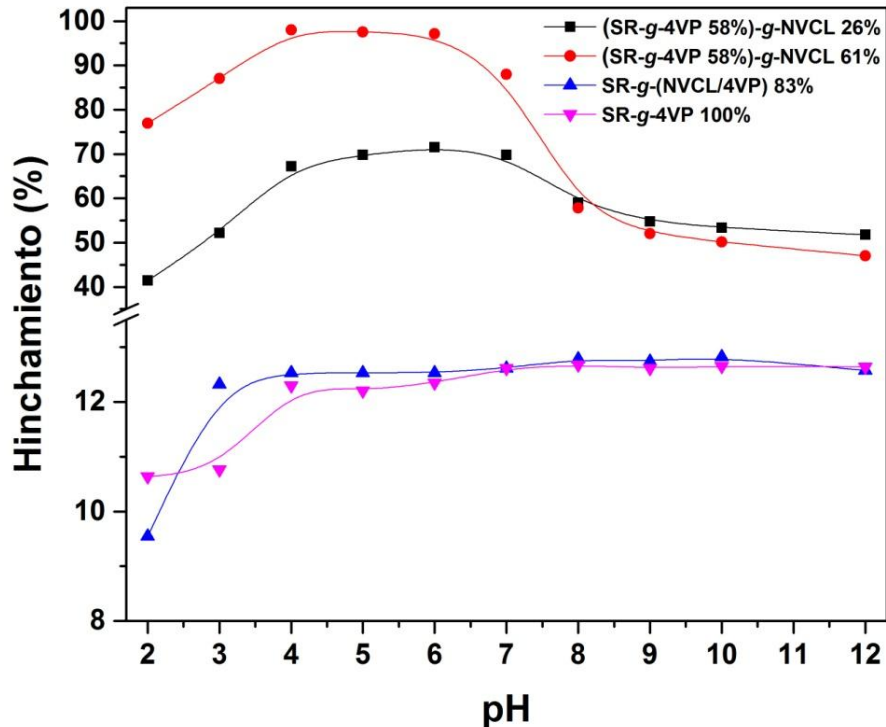


Figura 46. Efecto de la NVCL injertada sobre el pH crítico de SR-g-4VP.

5.5.2 Estudio del efecto de la 4VP sobre la LCST de NVCL

Durante el estudio de la temperatura crítica se observó que esta puede dar valores diversos dependiendo de la cantidad injertada del segundo comonomero, es por ello que se tomó la decisión de observar el efecto de la 4VP sobre la LCST y resolver de una vez la incógnita de la aparición de UCST en lugar de una LCST en las películas de SR-g-(NVCL/4VP). Como lo mencionamos anteriormente, la PNVCL tiene una LCST entre 32 y 34 °C. Esto quiere decir que parte de un estado hidrofílico a un estado hidrofóbico, comportamiento que observamos en las muestras de SR-g-NVCL (Anexo 13).

En la Figura 47 observamos que la muestra de SR-g-NVCL (11% injerto) presenta un comportamiento esperado (LCST); no obstante, al injertarle 15% de 4VP, la transición a 32.5 °C se atenúa ligeramente. Se injertó 18% de 4VP y el grado de hinchamiento bajo ligeramente comparado con el 15% 4VP.

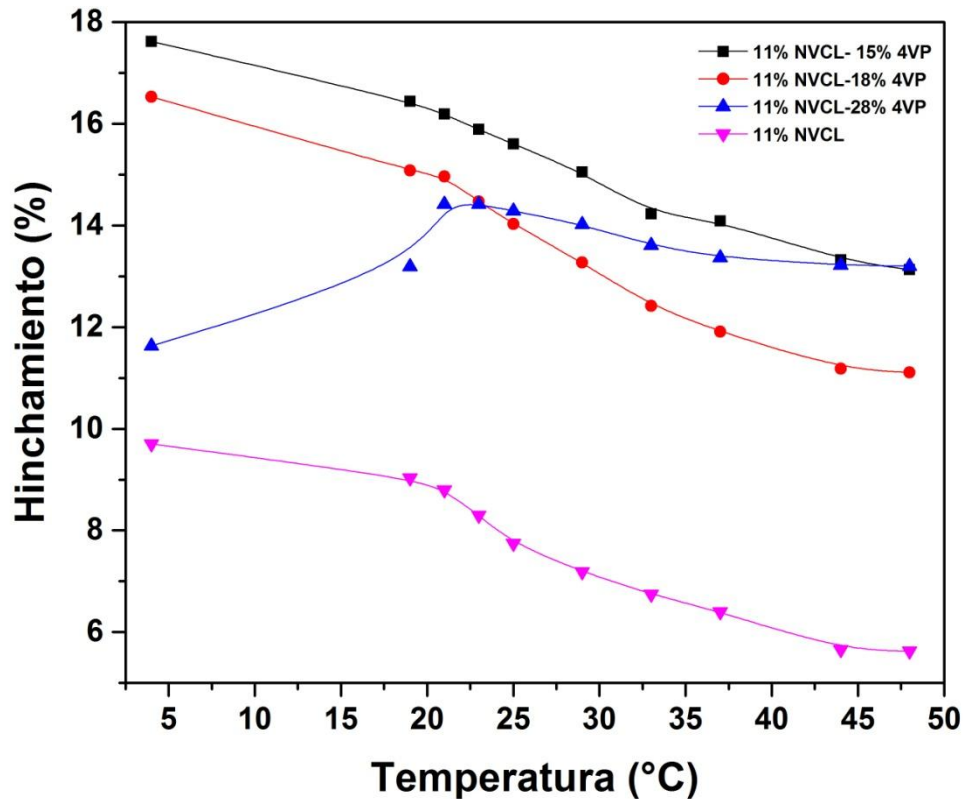


Figura 47. Estudio del efecto de la 4VP sobre la temperatura crítica de respuesta de SR-g-NVCL.

Para cuando la película de SR-g-NVCL tenía injertada 28% de 4VP [(SR-g-NVCL)-g-4VP], el comportamiento del material había cambiado, se observó la aparición de la UCST, es decir, la sensibilidad de la PNVCCL se había invertido. El sistema experimenta entonces una transición de hidrofóbico a hidrofílico con una temperatura crítica cercana a los 18 °C.

5.6 Carga de diclofenaco sódico

La forma en que se lleva a cabo la carga de diclofenaco sódico en los copolímeros de SR-g-(NVCL/4VP), SR-g-NVCL y SR-g-4VP; fue a través de interacciones intermoleculares débiles como son: de tipo van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones iónicas. En la Figura 48 podemos observar que la eficiencia de carga es mejor cuando la concentración de la disolución del fármaco se utiliza una concentración de 80 mg/L en lugar de uno de 40 mg/mL, esto se debe a que se establecen un mayor número de interacciones entre las cadenas poliméricas y el fármaco lo cual mejora la eficiencia de carga.

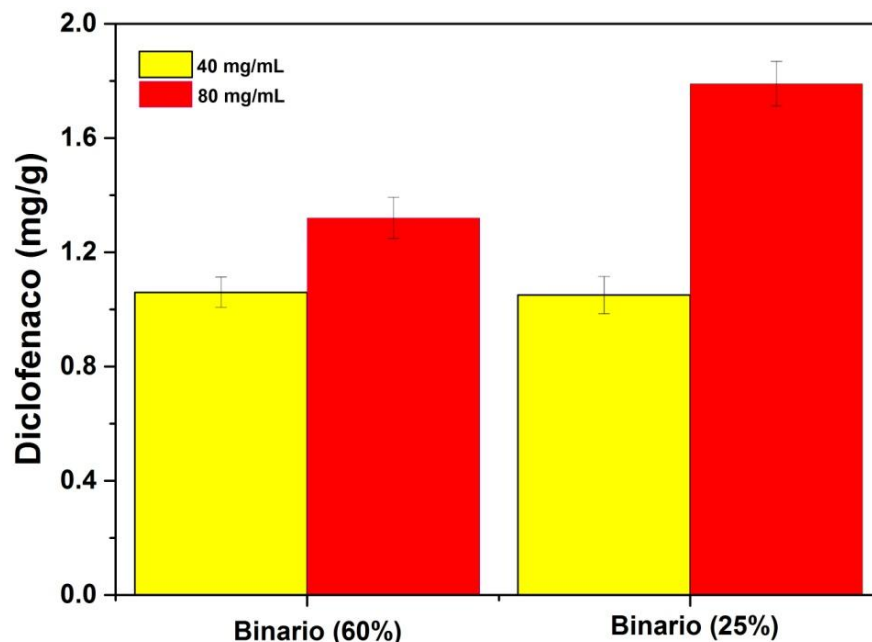


Figura 48. Estudio del efecto de la concentración de diclofenaco sódico sobre la eficiencia de carga.

En la Figura 48 podemos observar que las muestras de SR-g-(NVCL/4VP) con altos porcentajes de injerto cargaron menos diclofenaco; la película con 60% de injerto (1.32 mg/g) tuvo menor capacidad de carga comparado con un copolímero de 25 % de injerto 1.79 mg/g), esto se debe posiblemente a que el diclofenaco sódico experimentó cierto impedimento estérico con porcentajes de injerto altos, sabiendo que las cadenas poliméricas se encuentran de forma desordenada y que son capaces de asociarse entre ellas.

Es gracias a este ensayo que se pudo observar que existe una mejor afinidad por parte del fármaco hacia la PNVCL comparado con la P4VP ya que la película de SR-g-NVCL cargó el doble de la cantidad de diclofenaco que pudo adsorber la película de SR-g-4VP; este comportamiento puede ser atribuido a que las películas modificadas con NVCL presentan un mayor grado de hinchamiento y que los átomos de nitrógeno y oxígeno son capaces de establecer interacciones más eficientes que el átomo de N de la 4-vinilpiridina.

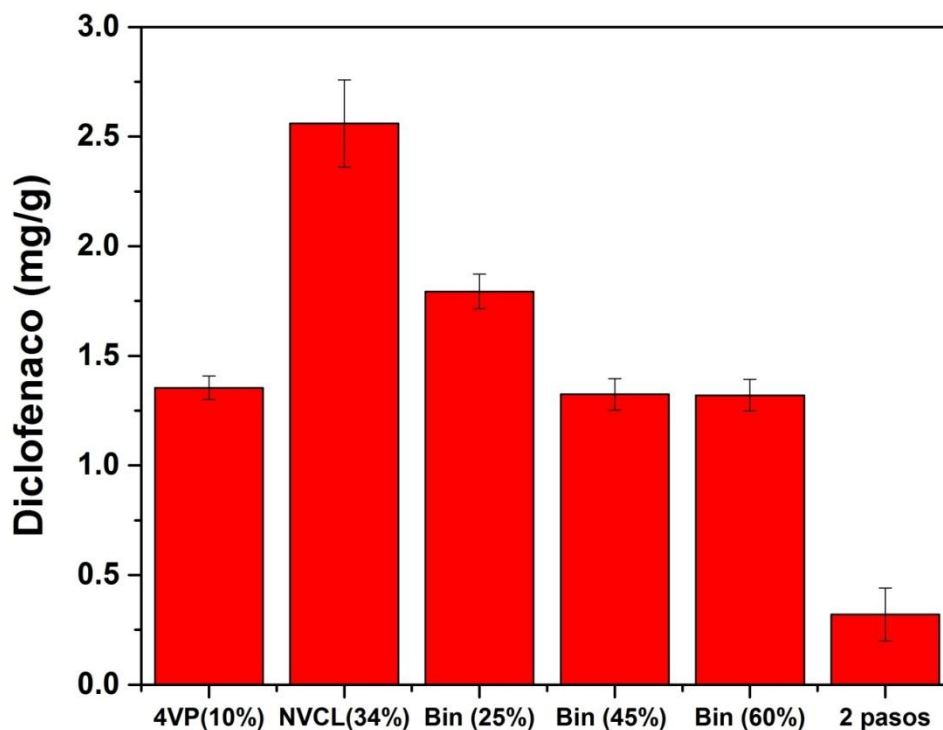
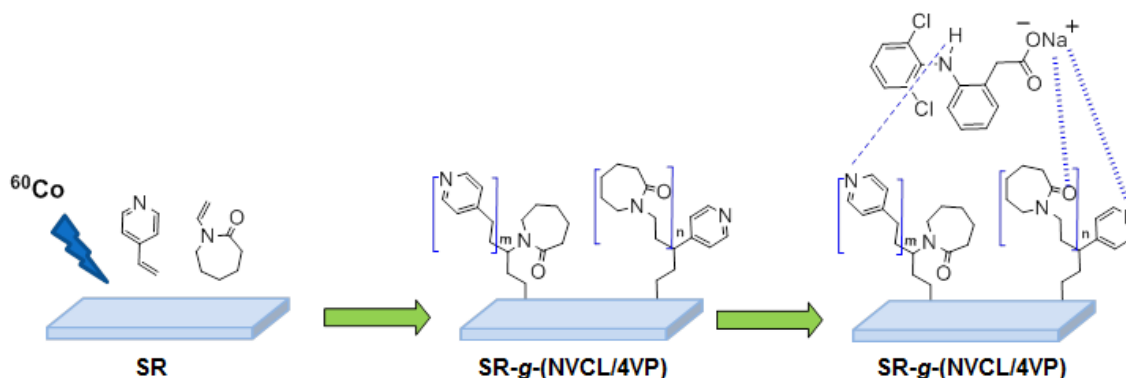


Figura 49. Cantidades de diclofenaco cargado en los copolímeros de injerto. Bin= binario y se refiere a SR-g-(NVCL/4VP), 4VP y NVCL son muestras de SR-g-4VP y SR-g-NVCL respectivamente. Los porcentajes entre paréntesis son los grados de injerto de dichas muestras. 2 pasos= SR-g-4VP 34%)-g-NVCL 17%.

El fenómeno de la disminución de la carga de diclofenaco cuando el porcentaje de injerto en los sistemas incrementa SR-g-(NVCL/4VP) nos da una idea que la carga del fármaco en las películas no ocurre simplemente por difusión del fármaco entre las cadenas poliméricas, si no que existe otro factor importante, que es el de interacciones electrostáticas. Esta conclusión está fundamentada en que los sistemas de SR-g-(NVCL/4VP) presentan mayor grado de hinchamiento a mayores porcentajes de injerto; sin embargo, esto no mejora la carga sino todo lo contrario, dicho fenómeno se le atribuye a un posible impedimento estérico.

El copolímero de injerto que tuvo mejor eficiencia de carga de diclofenaco sódico fue la película de SR-g-NVCL, misma que hospedó 2.5 mg/gramo de película aproximadamente. La película de (SR-g-4VP 34%)-g-NVCL17% representado como “2 pasos” en la Figura 49 fue el copolímero de injerto que mostro la peor eficiencia de adsorción de diclofenaco sódico, un comportamiento contrario a lo esperado debido a que la película de SR-g-NVCL había mostrado buena interacción con dicho fármaco.

Interacciones con diclofenaco sódico



Esquema 3. Interacciones débiles intermoleculares entre diclofenaco sódico y las cadenas injertadas.

5.6.1 Desorción de diclofenaco

El perfil de liberación de diclofenaco sódico se puede observar en la Figura 50; el copolímero de injerto que liberó una mayor cantidad del fármaco fue SR-g-NVCL (1.2 mg), debido a que este había cargado una mayor cantidad; este fue seguido de SR-g-(NVCL/4VP) con 25% de injerto (0.71 mg). No obstante, las muestras no liberaron el 100% del fármaco hospedado, liberaron alrededor del 50% comparado con lo que había hospedado. Este comportamiento fue similar para la película de SR-g-4VP y SR-g-(NVCL/4VP) con 60% injerto.

La desorción del antiinflamatorio a partir de los copolímeros fue lenta y prolongada, eso se debe a que el tiempo de hinchamiento límite de las películas injertadas fue aproximadamente 24 h. Sin embargo, la liberación del diclofenaco fue durante más de 48 horas y además no se liberó el fármaco en su totalidad, si no que quedó atrapado en el sistema matricial, esto nos da una idea de que aunque las interacciones fármaco-polímero son débiles (Esquema 3), son efectivas.

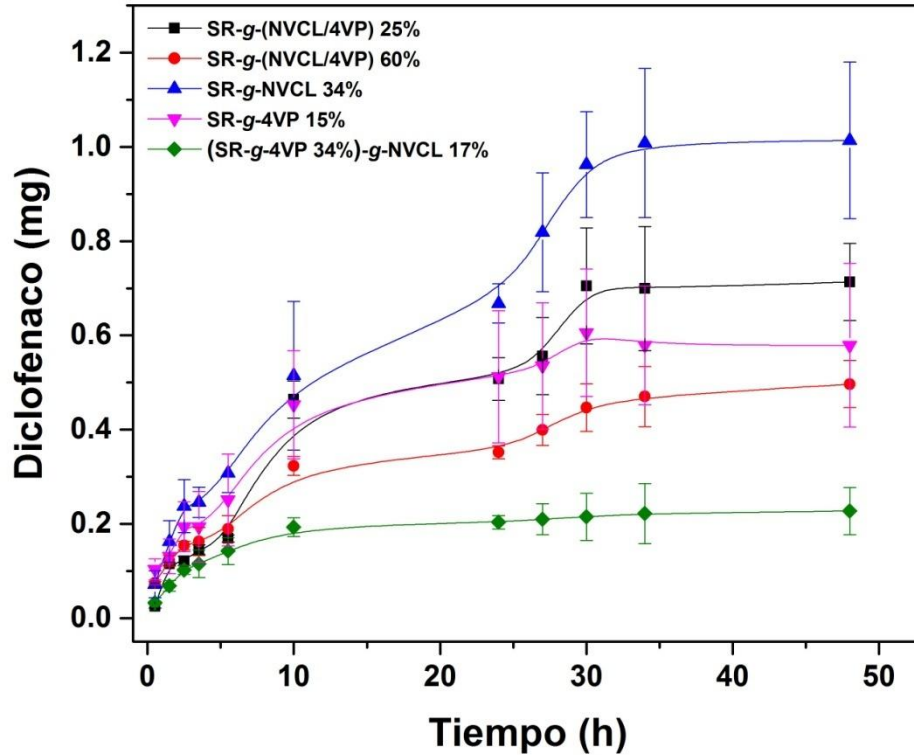


Figura 50. Perfil de liberación de diclofenaco sódico de los copolímeros de injerto.

5.6.2 Ensayo de actividad antimicrobiana

Los estudios de actividad antimicrobiana *in vitro*, se realizaron basándose en los experimentos realizados por Mazumdar y colaboradores³⁴, quienes publicaron trabajos relacionados con la acción biocida de diclofenaco. La Figura 51 muestra las cajas petri de los ensayos realizados *in vitro* contra *E. coli* y *S. aureus*; sin embargo los resultados no fueron satisfactorios. Hay dos explicaciones para la ausencia de los halos de inhibición: la primera es que el diclofenaco sódico no presenta tanta efectividad contra los microorganismos como cualquier otro antibiótico; y la segunda es que el diclofenaco se encontraba hospedado entre las cadenas poliméricas y no hubo un factor que detonara su liberación. Es importante mencionar que el diclofenaco sódico hospedado en las películas de SR-g-NVCL fue liberado alrededor del 50 % después de 48 horas.

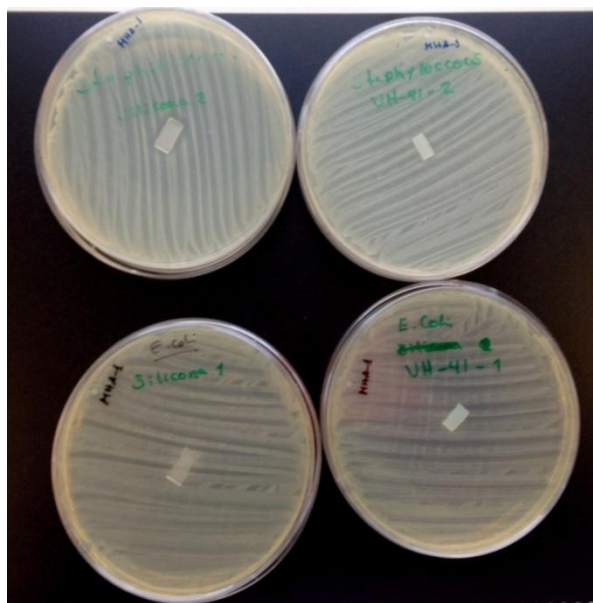


Figura 51. Ensayo de actividad antimicrobiana del diclofenaco hospedado en SR-*g*-(NVCL/4VP) y SR-*g*-NVCL.

5.6.3 Ensayo de actividad bacteriostática

Respecto a la actividad bacteriostática de diclofenaco también ya mencionada y publicada por otros autores^{32, 34}, se realizó el ensayo contra *E. coli* y los resultados se encuentran en la Tabla 8. Los copolímeros de injerto mostraron una ligera actividad bacteriostática y el número de UFC disminuyó en un orden de magnitud para las muestras de SR-*g*-(NVCL/4VP) con diclofenaco comparado contra los que no tenían el antiinflamatorio hospedado.

Tabla 8. Resultados del ensayo de actividad bacteriostática contra *E. coli*

Muestra	Injerto (%)	UFC sin diclofenaco	UFC con diclofenaco
SR	--	5.9×10^9	4.0×10^9
SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	24	2.7×10^9	7.7×10^8
SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	60	7.8×10^9	6.7×10^8

5.7 Inmovilización de lisozima

Después de varios estudios comparativos, los copolímeros que mostraron mejor capacidad para inmovilizar a la lisozima mediante adsorción física fueron las películas de SR-*g*-NVCL. Las muestras que mostraron mejor capacidad de inmovilización fueron las que contenían 10% de injerto de NVCL, siendo capaces de inmovilizar alrededor de .67 mg por gramo de polímero. Un injerto del 20% inmoviliza alrededor de 0.5 mg/g, mientras que el que tuvo la peor efectividad para inmovilizar a la enzima fue la muestra que contenía 50% de injerto (Tabla 9). Este comportamiento observado es similar al que experimentaron las muestras respecto al diclofenaco sódico, en el que se observa un decrecimiento en la eficiencia de carga al incrementar el porcentaje de injerto de los copolímeros.

Otra observación interesante está en que mientras que una muestra de SR-*g*-NVCL había mostrado la capacidad de hospedar alrededor de 2.5 mg/g de diclofenaco, para el caso de la enzima el valor de inmovilización fue menor a 0.7 mg/g de polímero; esto se debe a que la molécula de la enzima es por mucho una molécula más grande que el diclofenaco, motivo por el cual experimenta aun más el efecto del impedimento estérico, efecto que le evita difundir entre las cadenas poliméricas del injerto.

5.7.1 Desorción de lisozima

Los tiempos de desorción de la lisozima a partir de las muestras de SR-*g*-NVCL fueron menores comparados con los de la desorción de diclofenaco (Figura 52). Los copolímeros dejaron de liberar enzima después de dos horas de liberación en agitación constante. Sin embargo, no toda la enzima fue desorbida, sólo fue liberada el 30% aproximadamente; esto se debe a que probablemente la lisozima que difundió entre las cadenas poliméricas, estableció un número considerable de interacciones electrostáticas que le impidieron liberarse al medio.

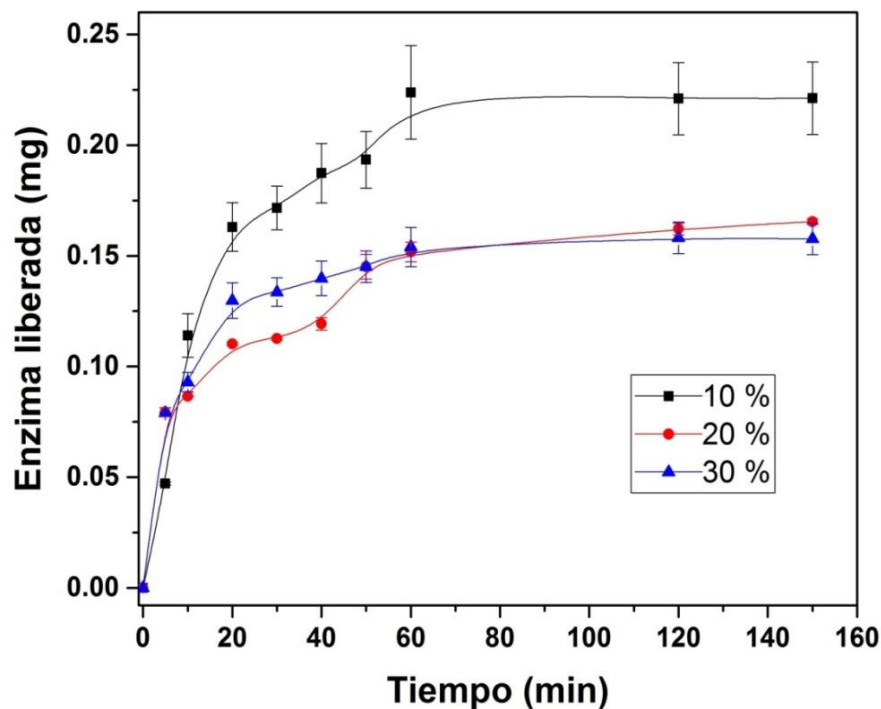


Figura 52. Perfil de liberación de lisozima de inmovilizada en SR-g-NVCL a 37 °C y solución amortiguadora de pH 7.4.

5.7.2 Estudio de la actividad catalítica de la enzima inmovilizada

En la Figura 53 observamos la disminución de la absorbancia de la disolución de *M. lysodeikticus* en contacto de los sistemas de SR-g-NVCL-Lis. Se observa una gran diferencia de disminución entre el blanco y los copolímeros de injerto de NVCL. Partiendo de una absorbancia cercana a 0.56, en cuestión de 20 minutos esta decrece aproximadamente a la mitad; la concentración de la bacteria siguió disminuyendo hasta alcanzar una absorbancia constante.

En la Tabla 9 se resumen las cantidades de enzima inmovilizada en los sistemas de SR-g-NVCL con diferente porcentaje de injerto y su respectiva actividad catalítica contra *M. lysodeikticus*.

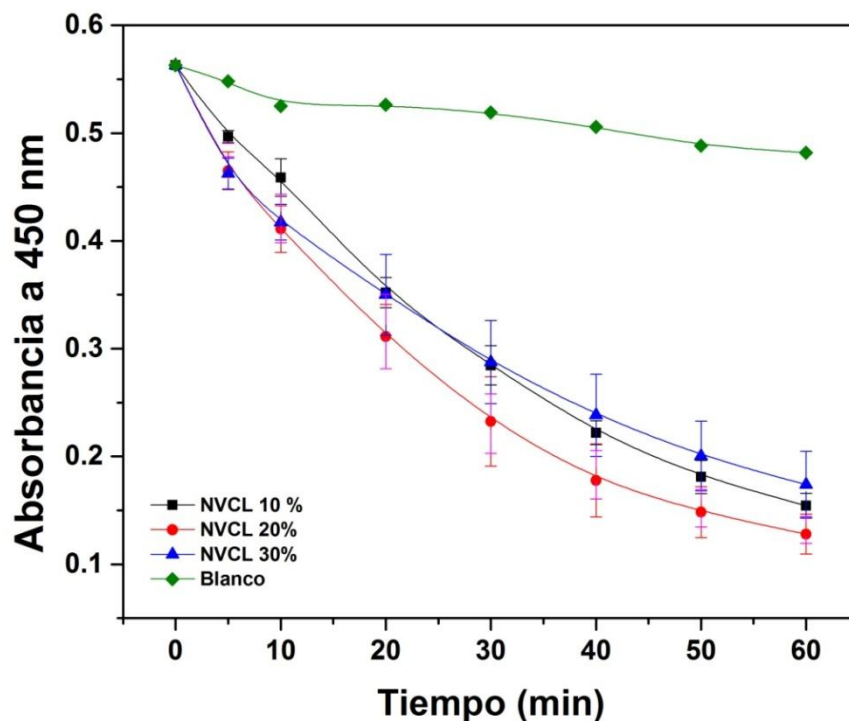


Figura 53. Cinética de actividad catalítica de la lisozima inmovilizada contra *M. lysodeikticus*.

Tabla 9. Actividad enzimática de SR-g-NVCL-Lis contra *M. lysodeikticus* a 25 °C en SBF pH 6.4.

SR-g-NVCL-Lis (injerto)	Enzima (mg/g polímero)	Actividad U/cm ²	Actividad U/g polímero
10%	0.67 ± 0.13	11.5 ± 1.8	89.5 ± 9.7
20%	0.50 ± 0.01	11.0 ± 1.4	86.1 ± 7.6
30%	0.48 ± 0.06	10.5 ± 1.0	85.2 ± 5.8
50%	0.46 ± 0.07	10.1 ± 1.1	81.4 ± 6.3

5.7.3 Ensayo de actividad antimicrobiana de la lisozima inmovilizada

La muestra que presentó mejor actividad catalítica contra *M. lysodeikticus* fue la película SR-g-NVCL con 10% de injerto seguido de la muestra con 20% de injerto; la muestra que presentó la menor actividad catalítica fue la película injertada al 50% debido a que esta última tuvo menor eficiencia de inmovilización.

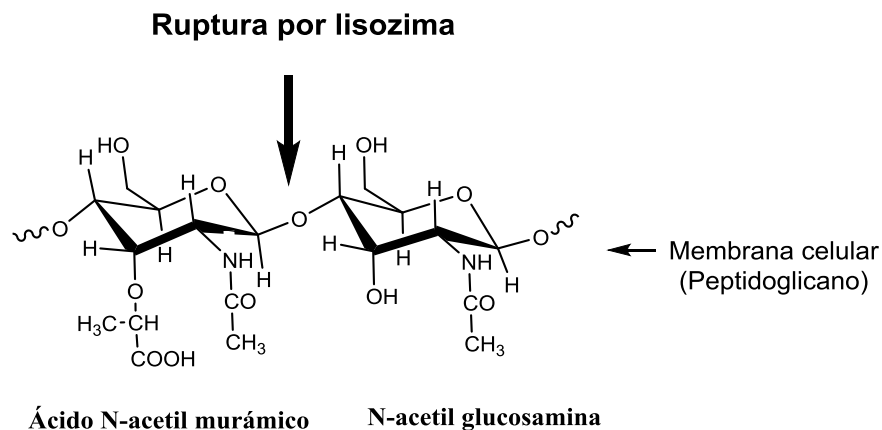
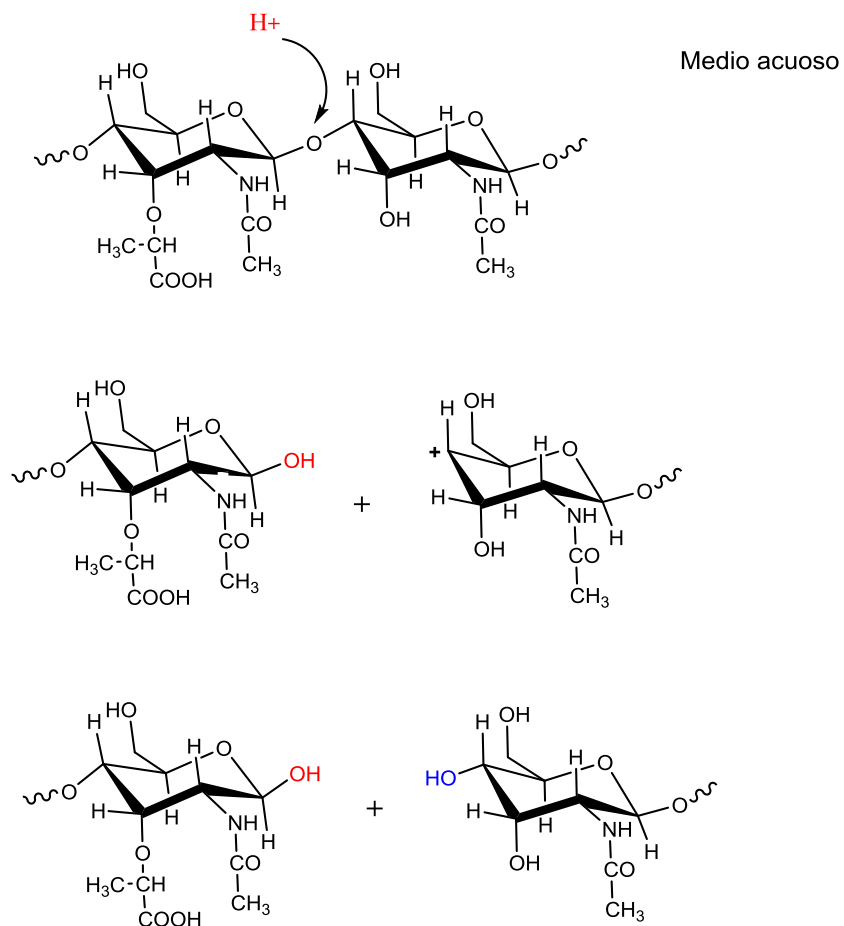


Figura 54. Ruptura del enlace glucosídico β 1-4 por la lisozima.

La razón del por qué no se obtuvieron halos de inhibición para las películas con lisozima cuando fueron expuestas a cultivos bacterianos en cajas petri con cepas de *E. Coli*, *S. aureus* y *S. epidermidis*, se debe a que el proceso de protonación del enlace glucosídico no fue posible debido a la falta de un medio acuoso. Es importante saber que la actividad hidrolítica de la enzima ocurre mediante la hidrólisis del enlace C-O por catálisis ácida llevada a cabo por el protón derivado de la ionización del ácido glutámico del residuo de la lisozima, dicho H^+ reacciona con el átomo de oxígeno rompiendo el enlace del hemiacetal (C-O) formando un carbocación el cual reacciona con un hidroxilo procedente del medio acuoso obteniendo los fragmentos glucosídicos correspondientes (Figura 54). Por último, la base conjugada del ácido glutámico obtiene un H^+ de una molécula de agua propagando la hidrólisis con el grupo ^-OH , el cual es un nucleófilo muy fuerte. Debido a que este proceso se dificulta en un medio sólido, los halos de inhibición no fueron observados, además cabe mencionar que en este medio de agar solidificado, la película no es posible llevar a cabo la desorción de la enzima, por lo que eso podría explicar la ausencia de la actividad antimicrobiana.

Proceso catalítico de la lisozima



Esquema 4. Mecanismo de acción de la lisozima contra la pared bacteriana de *M. lysodeikticus*.

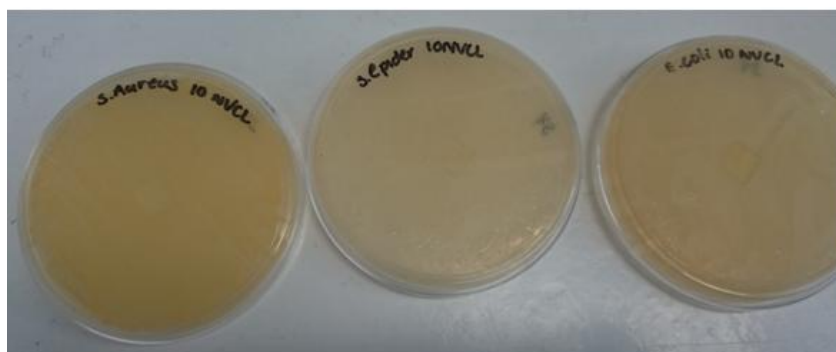


Figura 55. Ensayo de actividad antimicrobiana de SR-g-NVCL-Lis contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, (8×10^8 CFU/mL).

5.8 Desorción y cuantificación de fosfomicina

Los materiales que mostraron mejor eficiencia en la carga de fosfomicina fueron los injertos de SR-*g*-NVCL comparado con los copolímeros de injerto de SR-*g*-(NVCL/4VP). Los resultados de la cantidad se encuentran resumidos en la Tabla 10. No obstante cuantificar exactamente la cantidad de FOS hospedada en los copolímeros de injerto fue algo difícil. Es importante mencionar que las cantidades de FOS contenidas en la Tabla 9 fueron las detectadas en el medio, es decir, corresponden a la cantidad de fosfomicina liberada y no la cantidad hospedada en los copolímeros de injerto.

Tabla 10. Cantidades de FOS liberada a partir de los copolímeros de injerto.

Muestra	Injerto (%)	FOS ($\mu\text{g/g}$)
SR- <i>g</i> -NVCL	17	69.5 \pm
SR- <i>g</i> -NVCL	36	41.7 \pm
SR- <i>g</i> -4VP	15	37.9 \pm
SR- <i>g</i> -4VP	32	47.4 \pm
SR- <i>g</i> -4VP	60	47.9 \pm
SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	60	63.4 \pm
SR- <i>g</i> -(NVCL/4VP)	100	58.7 \pm
(SR- <i>g</i> -4VP)- <i>g</i> -NVCL	14-17	45.8 \pm

Aunque las cantidades de la fosfomicina liberada de los copolímeros de injerto fueron relativamente bajas (entre 40y 60 $\mu\text{g/g}$), estas no resultan tan despreciables como parece; esto debido a que la concentración hemática alcanzada es de 4 $\mu\text{g/mL}$ al administrar 500 mg de fosfomicina por vía oral. Mientras que por la vía intramuscular, una hora después de la aplicación de 250 y 500 mg, 1 y 2 gramos, se obtienen concentraciones plasmáticas de 8.7, 17.1, 28.4, y 45.5 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente^{86, 87}. Se sabe que la concentración plasmática de un fármaco se relaciona directamente con el efecto farmacológico. En base a lo anterior, las cantidades de fosfomicina hospedada los copolímeros de injerto dejan de ser menospreciables.

El perfil de liberación de la FOS nos indica la inestabilidad del fármaco fuera de las temperaturas de almacenamiento (- 4°C); sin embargo, se obtienen tiempos de liberación por encima de las 12 horas, lo cual es muy interesante teniendo en cuenta que la vida

media plasmática de FOS es aproximadamente de 2 horas y que esta tiende a disminuir con el tiempo. Por lo tanto, las cadenas de injerto llevan a cabo el papel de sistema matricial que le brinda protección al antibiótico. Además el copolímero de injerto efectuaría un papel fundamental al liberar el antibiótico de forma paulatina en el sitio de implante. Observamos que después de que el antibiótico es liberado al medio (alrededor de 12 h) el antibiótico ya no es tan estable, a esto se le debe el descenso en la concentración detectada en el equipo tal y como se nota en la Figura 56.

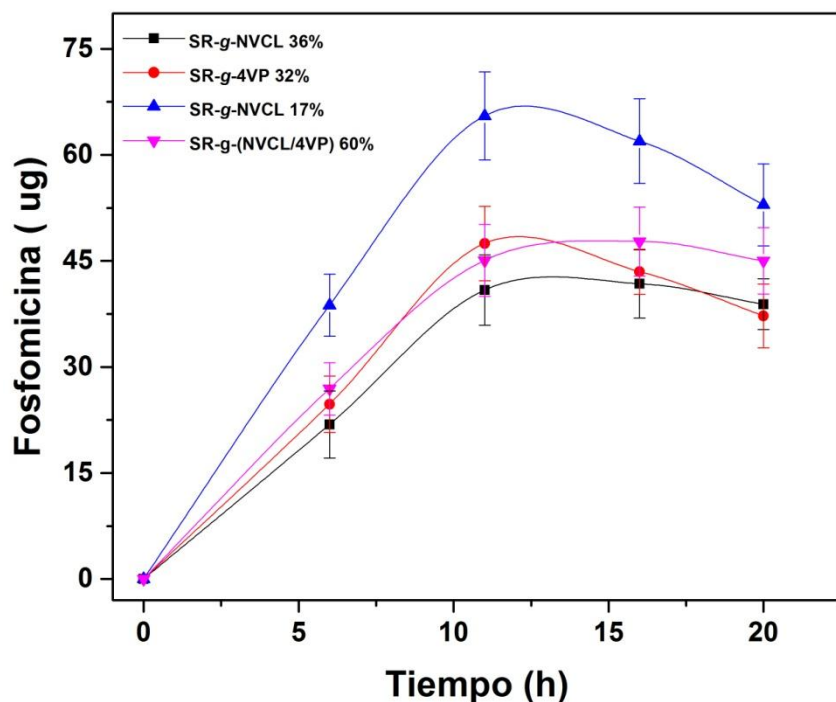


Figura 56. Perfil de desorción de la fosfomicina cuantificada por HPLC-MS.

5.9 Estudio de citocompatibilidad (ensayo MTT)

La biocompatibilidad de un material polimerico con potenciales aplicaciones biomedicas, representa uno de los mayores retos pues de ello depende si este sera seguro para el organismop vivo. La no compatibilidad de un polímero con el organismo vivo puede repercutir en una serie de complicaciones que van desde la formacion de trombos (adsorcion de propteinas), formacion de biopelículas e infecciones microbianas, hasta la remocion del implante o en casos extremos, la muerte del paciente. Debido a todo esto, este aspecto resulta primordial y abarca muchos aspectos del material, desde la

hidrofilicidad, ausencia de agentes tóxicos (remanentes), degradación (subproductos), etc. Factores que podrían activar el sistema inmune lo que repercutiría en complicaciones serias para el paciente.

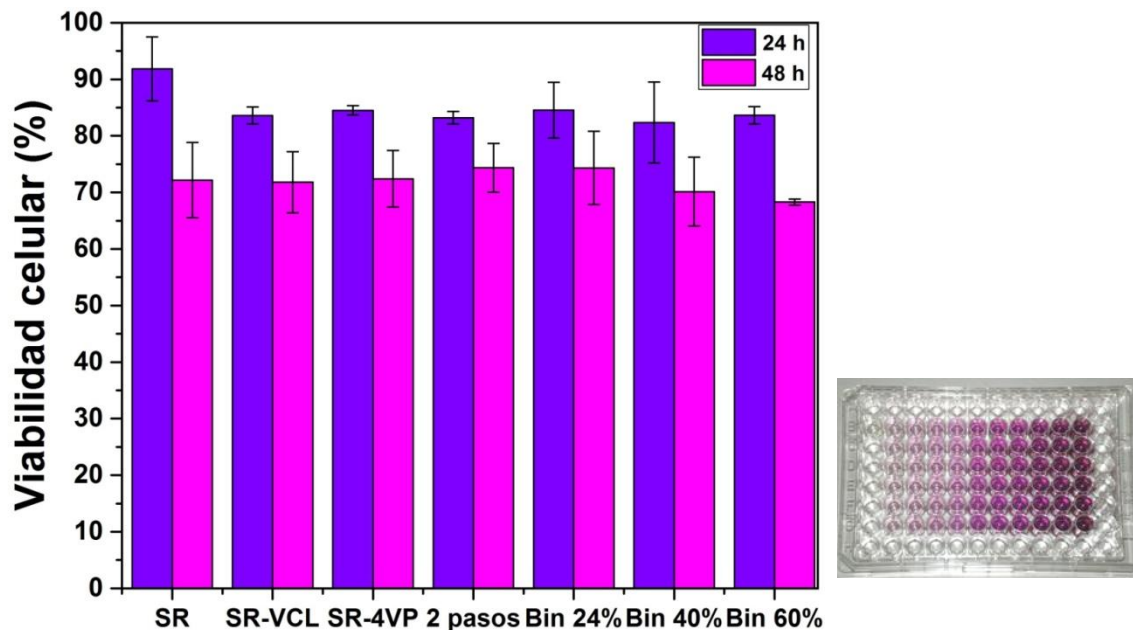


Figura 57. Viabilidad celular de los copolímeros de injerto contra células embrionarias de ratón (BALB 3T3).

Las películas de SR-g-NVCL, SR-g-4VP, SR-g-(NVCL/4VP) y SR-g-4VP)-g-NVCL, fueron examinadas para determinar su posible toxicidad, para lo cual se utilizaron células BALB 3T3, dichas células, son de clase embrionaria y son una de las más sensibles a agentes tóxicos que existen en el mercado. Estas células fueron cultivadas en pocillos en condiciones controladas para su posterior utilización.

Los resultados obtenidos en este ensayo mostraron que las películas modificadas con 4VP, NVCL, así como el sistema binario presentan baja citotoxicidad, es decir, son escasamente tóxicos para las células, de hecho mostraron una viabilidad celular similar al de SR. Mientras que SR mostró una supervivencia celular por encima del 90% durante las primeras 24 horas de exposición, la viabilidad celular de todos los copolímeros de injerto fue aproximadamente del 85%. Sin embargo, después de 48 horas de exposición, la viabilidad celular de SR disminuyó considerablemente (70% viabilidad), mientras que la mayoría de las películas modificadas mostró una supervivencia celular del ligeramente

superior al de la SR tras el segundo día de exposición. Para este estudio se utilizó un control positivo, el cual fue un pocillo sin película, dicho pocillo se utilizó como referente y representó el 100% de la viabilidad celular.

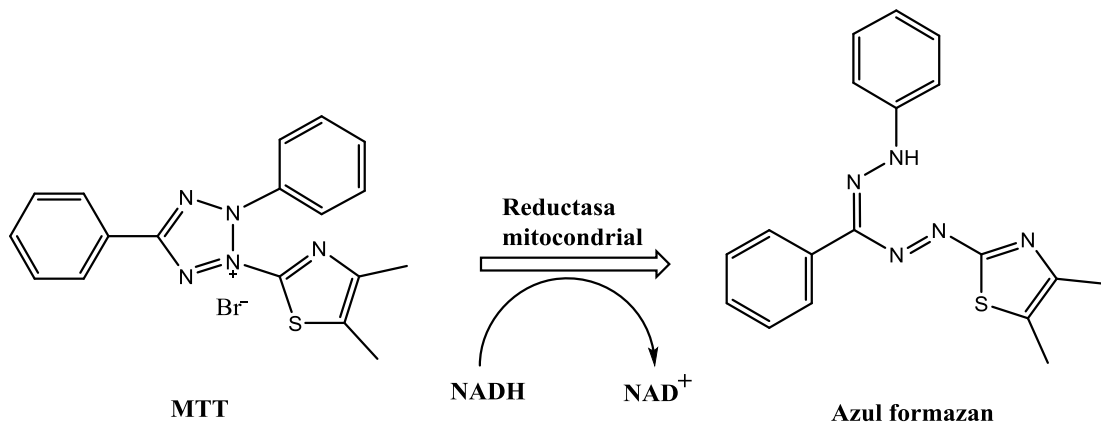


Figura 58. Reacción de reducción del bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5- difeniltetrazolio (MTT) a 1-(4,5-dimetil-2-il)-3,5-difenil formazan (azul formazan o azul de tiazolilo).

Es importante destacar que las películas injertadas al ser hidrofílicas, se hundían en el medio lo cual provocó que las células del fondo sufrieran de hipoxia (muerte celular por falta de oxígeno), dicho proceso influyó directamente en los porcentajes de viabilidad celular, resultando un poco bajos después de las 48 horas de exposición. Es decir, las viabilidades celulares *in vitro* pudieron ser mejores si las muestras no se hubieran hundido.

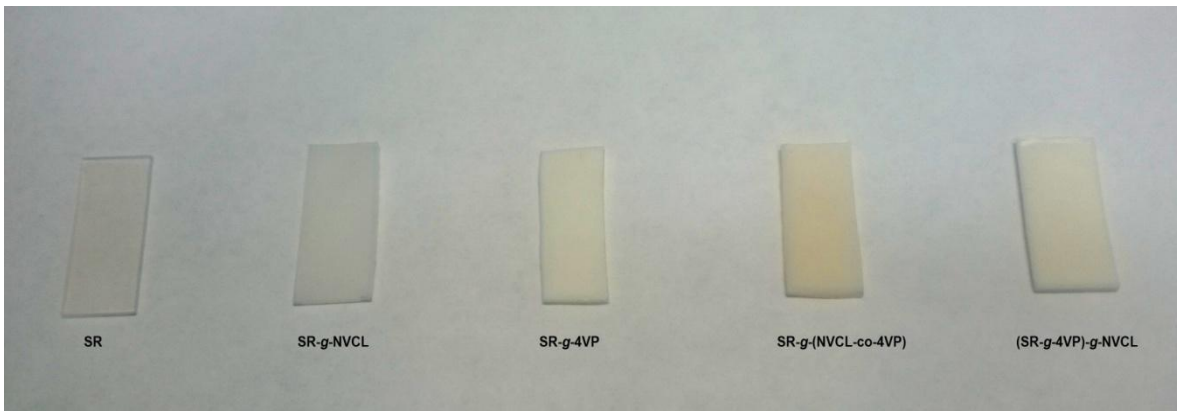
En este tipo de ensayo, el reactivo de MTT es reducido por la enzima nicotinamida adenina dinucleótido deshidrogenasa (NADH) proveniente de la mitocondria de las células BALB 3T3, formando de esta manera cristales de formazan, las cuales son de color púrpura. La cuantificación de la viabilidad celular se lleva a cabo por colorimetría 545 nm, en el cual las coloraciones purpuras más intensas indican una mejor viabilidad celular, es decir, hay una mayor cantidad de células vivas

Capítulo 6

Conclusiones

Los copolímeros de injerto obtenidos mediante radiación gamma en uno y dos pasos son los siguientes:

- ✓ SR-*g*-(NVCL/4VP)
- ✓ (SR-*g*-4VP)-*g*-NVCL
- ✓ SR-*g*-4VP
- ✓ SR-*g*-NVCL



El copolímero de injerto de SR-*g*-4VP, mostró un pH crítico cercano a 4.7, tal y como había sido publicado anteriormente para el homopolímero de la 4-vinilpiridina. El sistema de SR-*g*-NVCL presentó una LCST de 32.5 °C, la cual es consistente con la reportada en la literatura. Sin embargo, para el sistema SR-*g*-(NVCL/4VP) la temperatura crítica fue de 27.5 °C aproximadamente. El sistema de SR-*g*-NVCL, presentó mejor hidrofiliidad que el sistema SR-*g*-(NVCL/4VP) y que SR-*g*-4VP. Al ser este más hidrofílico, mostro mejor capacidad de cargar diclofenaco, fosfomicina sódica así como para inmovilizar lisozima.

El copolímero de injerto binario obtenido en un paso SR-*g*-(NVCL/4VP) presentó un pH crítico de 7.6, el cual está cercano al pH fisiológico del cuerpo humano (7.4), un valor ligeramente desplazado comparado con el de la P4VP (4.7); este corrimiento de pH se debe a la presencia de la NVCL aleatoriamente injertada.

Se estudio el efecto de la 4VP sobre la temperatura crítica de la NVCL injertada en la película de SR, llegando a observar la inversión del comportamiento respecto a la

temperatura, pasando de una LCST a una UCST cuando la proporción del comonomero fue mayor que la NVCL. Los copolímeros de injerto fueron caracterizados mediante diversas técnicas térmicas, espectroscópicas y por RMN de ^{13}C de estado sólido con la finalidad de elucidar sus estructuras.

La técnica de SEM nos demostró el grado de penetración del injerto fue aproximadamente de 10 micras de profundidad utilizando DMF como disolvente. Los materiales sintetizados en este trabajo tienen potenciales aplicaciones biomédicas debido a que mostraron tener la capacidad de cargar diclofenaco sódico, fosfomicina sódica y lisozima; y los desorbieron estos compuestos en forma prolongada. Los copolímeros de injerto mostraron buena citotoxicidad contra células embrionarias de ratón, razón por la cual se puede decir que pueden considerarse como biomateriales.

Referencias bibliográficas

1. Qiu Q-Q., Sun W-Q., Connor J. (2011). Sterilization of Biomaterials of Synthetic and Biological Origin, en *Comprehensive biomaterials II*, Editorial: Elsevier, Amsterdam, p. 180-199.
2. Rosenberg, L. E., Carbone, A. L., Römling, U., Uhrich, K. E., & Chikindas, M. L. (2008). Salicylic acid-based poly (anhydride esters) for control of biofilm formation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Letters in applied microbiology*, 46(5), 593-599.
3. Loera Muro, A., Ramírez Castillo, F. Y., Avelar González, F. J., & Guerrero Barrera, A. L. (2012). Biopelículas multi-especie: asociarse para sobrevivir. *Investigación y Ciencia*, 20(54).
4. Neut, D., Kluin, O. S., Crielaard, B. J., van der Mei, H. C., Busscher, H. J., & Grijpma, D. W. (2009). A biodegradable antibiotic delivery system based on poly-(trimethylene carbonate) for the treatment of osteomyelitis. *Acta Orthopaedica*, 80(5), 514-519.
5. Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
6. Reid G. (1999). Biofilms in infectious disease and on medical devices. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11(3), 223-226.
7. Khardori, N., & Yassien, M. (1995). Biofilms in device-related infections. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 15(3), 141-147.
8. Glinel, K., Thebault, P., Humblot, V., Pradier, C. M., & Jouenne, T. (2012). Antibacterial surfaces developed from bio-inspired approaches. *Acta Biomaterialia*, 8(5), 1670-1684.
9. Gristina A G, Oga M, Webb L X, Hobgood C D. (1985). Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis. *Science*, 228 (4702): 990-3.
10. Bos, R., Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions—its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 179-230
11. Goddard, J. M., & Hotchkiss, J. H. (2007). Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. *Progress in Polymer Science*, 32(7), 698-725.
12. Stoodley, P., Braxton, E. E., Nistico, L., Hall-Stoodley, L., Johnson, S., et al. (2010). Direct demonstration of a *Staphylococcus* biofilm in an external ventricular drain in a patient with a history of recurrent ventriculoperitoneal shunt failure. *Pediatric. Neurosurgery*, 46(2), 127–132.
13. Anderson, J. M., Rodriguez, A., & Chang, D. T. (2008). Foreign body reaction to biomaterials. In *Seminars in immunology*, Academic Press. 20(2) 86-100).
14. Anderson, J. M. (2001). Biological responses to materials. *Annual Review of Materials Research*, 31, 81–110.
15. Deng, J., Wang, L., Liu, L., & Yang, W. (2009). Developments and new applications of UV-induced surface graft polymerizations. *Progress in Polymer Science*, 34(2), 156-193.
16. Mendes, P. M. (2008). Stimuli-responsive surfaces for bio-applications. *Chemical Society Reviews*, 37(11), 2512-2529.
17. Arora, G., Singh, I., Nagpal, M. and Arora, S. (2011) Recent advances in stimuli induced pulsatile drug delivery system: A review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 4, 691–703.
18. Pillai, O., & Panchagnula, R. (2001). Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5(4), 447-451.

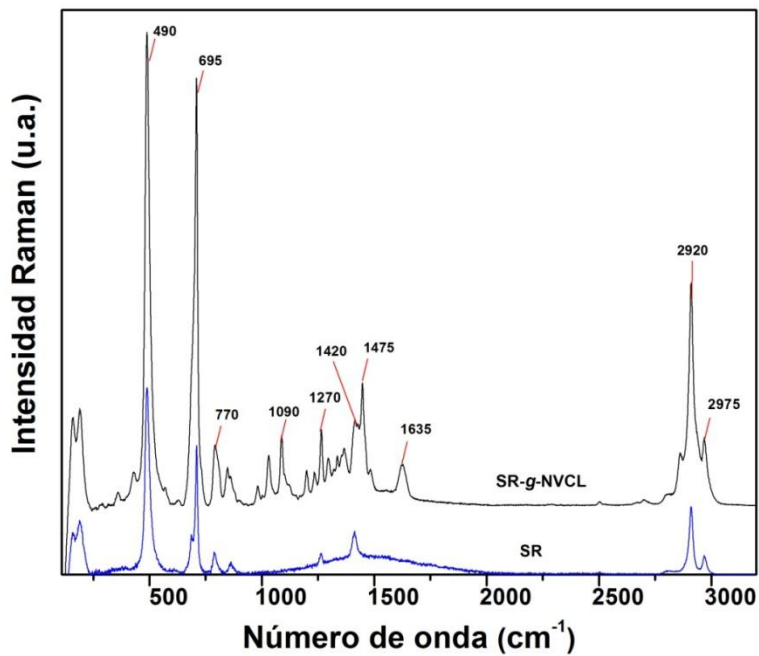
19. Khandare, J., & Minko, T. (2006). Polymer–drug conjugates: progress in polymeric prodrugs. *Progress in Polymer Science*, 31(4), 359-397.
20. Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(3), 217-23.
21. Seedat, N., Kalhapure, R. S., Mocktar, C., Vepuri, S., Jadhav, M., Soliman, M., & Govender, T. (2016). Co-encapsulation of multi-lipids and polymers enhances the performance of vancomycin in lipid–polymer hybrid nanoparticles: in vitro and in silico studies. *Materials Science and Engineering: C*, 61, 616-630.
22. Liu, L., Bai, S., Yang, H., Li, S., Quan, J., Zhu, L., & Nie, H. (2016). Controlled release from thermo-sensitive PNVCL-co-MAA electrospun nanofibers: the effects of hydrophilicity/hydrophobicity of a drug. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 581-589.
23. Cortez-Lemus, N. A., & Licea-Claverie, A. (2016). Poly (N-vinylcaprolactam), a comprehensive review on a thermoresponsive polymer becoming popular. *Progress in Polymer Science*, 53, 1-51.
24. Kavitha T, Kang IK, Park S. Y. (2014). Poly(N-vinyl caprolactam) grown on nanographene oxide as an effective nanocargo for drug delivery. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces* 1(15), 37–45.
25. Lou S., Gao S, Wang W., Zhang M., Zhang Q., Wang C., Li C., Kong D.(2014). Temperature/pH dual responsive microgels of crosslinkedpoly(N-vinylcaprolactam-co-undecenoic acid) as biocompatiblematerials for controlled release of doxorubicin. *Journal of Applied Polymer Science*, 131, 1–7.
26. Guadarrama-Zempoalteca, Y., Díaz-Gómez, L., Meléndez-Ortiz, H. I., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., & Bucio, E. (2016). Lysozyme immobilization onto PVC catheters grafted with NVCL and HEMA for reduction of bacterial adhesion. *Radiation Physics and Chemistry*, 126, 1-8.
27. Rao, K. M., Mallikarjuna, B., Rao, K. K., Siraj, S., Rao, K. C., & Subha, M. C. S. (2013). Novel thermo/pH sensitive nanogels composed from poly (N-vinylcaprolactam) for controlled release of an anticancer drug. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 891-897.
28. Vihola, H., Laukkanen, A., Hirvonen, J., & Tenhu, H. (2002). Binding and release of drugs into and from thermosensitive poly (N-vinyl caprolactam) nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(1), 69-74.
29. Ding, J., Chen, L., Xiao, C., Chen, L., Zhuang, X., Chen, X. (2014). Noncovalent interaction-assisted polymeric micelles for controlled drug delivery. *Chemical Communications*, 50(77), 11274-11290.
30. Quinteros, D. A., Ferreira, L. M., Schaffazick, S. R., Palma, S. D., Allemandi, D. A., & Cruz, L. (2016). Novel polymeric nanoparticles intended for ophthalmic administration of acetazolamide. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(10), 3183-3190.
31. Dutta, N. K., Mazumdar, K., Dastidar, S. G., & Park, J. H. (2007). Activity of diclofenac used alone and in combination with streptomycin against Mycobacterium tuberculosis in mice. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 30(4), 336-340.
32. Dastidar SG, Ganguly K, Chaudhuri K, Chakrabarty AN. (2000). The antibacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA synthesis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(3), 249–251.
33. Mazumdar K, Dutta NK, Dastidar SG, Motohashi N, Shirataki Y. (2006). Diclofenac in the management of *E. coli* urinary tract infections. *In Vivo*, 20(5), 613–619.
34. Popovic, M., Steinort, D., Pillai, S., Joukhadar, C. (2010). Fosfomycin: an old, new friend?. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 29(2), 127-142.

35. Mazzei, T., Cassetta, M. I., Fallani, S., Arrigucci, S., Novelli, A. (2006). Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28, 35-41.
36. Castañeda-García, A., Blázquez, J., & Rodríguez-Rojas, A. (2013). Molecular mechanisms and clinical impact of acquired and intrinsic fosfomycin resistance. *Antibiotics*, 2(2), 217-236.
37. James, H. P., John, R., Alex, A., & Anoop, K. R. (2014). Smart polymers for the controlled delivery of drugs—a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(2), 120-127.
38. Bian Q., Xiao Y., Lang M., (2012). Thermoresponsive biotinylated star amphiphilic block copolymer: Synthesis, self-assembly, and specific target recognition, *Polymer* 53 1684-1693.
39. Bag D.S., Rao K.U.B. (2006). Smart polymers and their applications. *Journal of Polymer Materials*, 23(3), 225-248.
40. Aguilar, M. R., Elvira, C., Gallardo, A., Vázquez, B., & Román, J. S. (2007). Smart polymers and their applications as biomaterials. *Topics in tissue engineering*, vol. 3 num (6).
41. Seuring, J., & Agarwal, S. (2012). Polymers with upper critical solution temperature in aqueous solution. *Macromolecular rapid communications*, 33(22), 1898-1920.
42. Seuring, J., & Agarwal, S. (2013). Polymers with upper critical solution temperature in aqueous solution: unexpected properties from known building blocks. *ACS Macro Letters*, 2, 597–600.
43. Zheng Q., Hu P., Tang Q., Tang M., Zang, Z. Zhao S., Shao P., Wang Z., He Y. (2017). Dually responsive amphiphilic block copolymer with oxidation responsiveness and tuneable LCST behaviours, *Materials Letters*, 201, 133–136.
44. Kozanoğlu S., Özdemir T., & Usanmaz A. (2011). Polymerization of N-vinylcaprolactam and characterization of poly (N-vinylcaprolactam). *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 48(6), 467-477.
45. Lozinsky V.I., Simenel I.A., Kurskaya E.A., Kulakova V.K., Galaev I.Y., Mattiasson B., & Khokhlov A.R. (2000). Synthesis of N-vinylcaprolactam polymers in water-containing media. *Polymer*, 41(17), 6507-6518.
46. Vihola H., Laukkanen A., Valtola L., Tenhu H., & Hirvonen J. (2005). Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly (N-isopropylacrylamide), poly (N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly (N-vinylcaprolactam). *Biomaterials*, 26(16), 3055-3064.
47. Vihola H., Laukkanen A., Hirvonen J., & Tenhu H. (2002). Binding and release of drugs into and from thermosensitive poly (N-vinyl caprolactam) nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(1), 69-74.
48. Honey P., Rijo J., Anju A., Anoop K., (2014). Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview, *Acta Pharmaceutica Sinica B* 4(2), 120–127.
49. Qiu Y, Park K (2015). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*, 53, 321-339.
50. Rogel-Hernández E., Licea-Claverie A., Cornejo-Bravo J.M, Arndt K.F (2003). Preparación de hidrogeles anfífilicos sensibles a diferentes valores de pH utilizando monómeros ácidos con espaciadores hidrofóbicos. *Revista de la Sociedad Química de México*, 47(3) 251-257.
51. Pezzoli, D. and Candiani, G. (2013) Non-viral gene delivery strategies for gene therapy: A 'm é nage à trois' among nucleic acids, materials, and the biological environment: Stimuli-responsive gene delivery vectors. *Journal of Nanoparticle Research*, 15 , num. 1523
52. Kost, J. and Langer, R. (2012) Responsive polymeric delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 327–341.
53. Lazo, L. M., & Burillo, G. (2010). Novel comb-type hydrogels of net-[PP-g-AAc]-g-4VP synthesized by gamma radiation, with possible application on Cu²⁺ immobilization. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(1), 1-8.

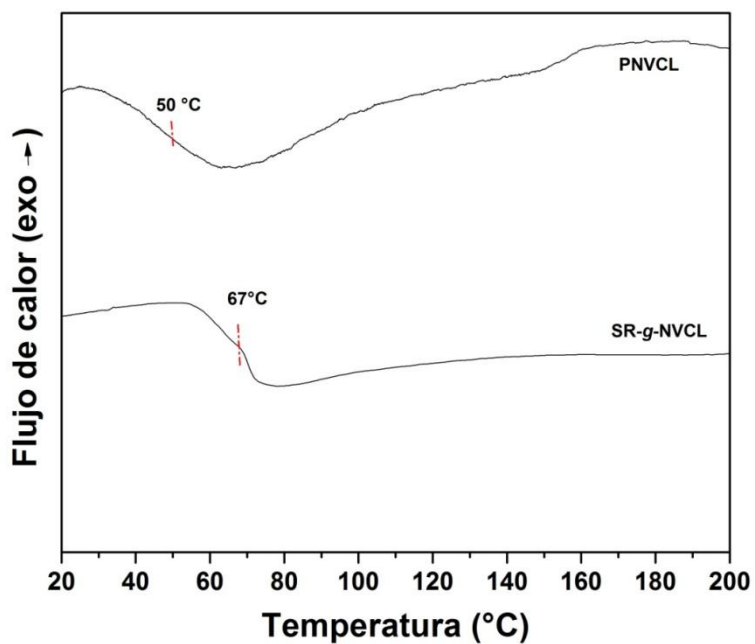
54. Meléndez-Ortiz, H. I., Bucio, E., Burillo, G. (2009). Radiation-grafting of 4-vinylpyridine and N-isopropylacrylamide onto polypropylene to give novel pH and thermo-sensitive films. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(1), 1-7.
55. Sahiner, N., & Ozay, O. (2011). Responsive tunable colloidal soft materials based on p (4-VP) for potential biomedical and environmental applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 378(1), 50-59.
56. Kato, K., Uchida, E., Kang, E. T., Uyama, Y., & Ikada, Y. (2003). Polymer surface with graft chains. *Progress in Polymer Science*, 28(2), 209-259.
57. Bhattacharya, A., & Misra, B. N. (2004). Grafting: a versatile means to modify polymers: techniques, factors and applications. *Progress in Polymer Science*, 29(8), 767-814.
58. Ducheyne K., Hutmacher D.W. Grainger D. W. , Kirkpatrick C. J. *Comprehensive materials II*, segunda edición, pags 128-129, editorial: Elsevier, Amsterdam, 2017, ISBN 9780081006924.
59. Palsule A., Clarson S., Widenhouse C., (2008). Gamma Irradiation of Silicones, *J. Inorg. Organomet. Polym.* 18, 207–221.
60. Gautriaud, E., Stafford, K. T., Adamchuk, J., Simon, M. W., & Ou, D. L. (2010). Effect of sterilization on the mechanical properties of silicone rubbers. *BioProcess Int*, vol. 8 num (4).
61. Introducción al estudio de los radioisótopos, Navarrete M., Cabrera L.; prólogo Flores J., segunda edición, Porcia editores, 1993, pags 33-60.
62. Extremina, C. I., Da Fonseca, A. F., Granja, P. L., & Fonseca, A. P. (2010). Anti-adhesion and antiproliferative cellulose triacetate membrane for prevention of biomaterial-centred infections associated with *Staphylococcus epidermidis*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(2), 164-168.
63. García-Vargas, M., González-Chomón, C., Magariños, B., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., & Bucio, E. (2014). Acrylic polymer-grafted polypropylene sutures for covalent immobilization or reversible adsorption of vancomycin. *International Journal of Pharmaceutics*, 461(1), 286-295.
64. Islas, L., Alvarez-Lorenzo, C., Magariños, B., Concheiro, A., del Castillo, L. F., & Burillo, G. (2015). Singly and binary grafted poly (vinyl chloride) urinary catheters that elute ciprofloxacin and prevent bacteria adhesion. *International Journal of Pharmaceutics*, 488(1), 20-28.
65. Nakamae K., Nizuka T., Miyata T., Furukawa M., Nishino T., Kato K. , Inoue T., Hoffman A. and Kanzaki Y. (1998). Lysozyme loading and release from hydrogels carrying pendant phosphate groups, *Journal of Biomaterials Science*, Polymer Edition, 9, 43-53.
66. Singh, S., & Singh, J. (2004). Controlled release of a model protein lysozyme from phase sensitive smart polymer systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 271(1), 189-196.
67. Ghaderi, R., & Carlfors, J. (1997). Biological activity of lysozyme after entrapment in poly (d, l-lactide-co-glycolide)-microspheres. *Pharmaceutical Research*, 14(11), 1556-1562.
68. van de Weert, M., Hoehstetter, J., Hennink, W. E., & Crommelin, D. J. (2000). The effect of a water/organic solvent interface on the structural stability of lysozyme. *Journal of Controlled Release*, 68(3), 351-359.
69. Ding, H. M., Shao, L., Liu, R. J., Xiao, Q. G., & Chen, J. F. (2005). Silica nanotubes for lysozyme immobilization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 290(1), 102-106.
70. Park, J. M., Kim, M., Park, H. S., Jang, A., Min, J., & Kim, Y. H. (2013). Immobilization of lysozyme-CLEA onto electrospun chitosan nanofiber for effective antibacterial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54, 37-43.
71. Hughey, V. L., & Johnson, E. A. (1987). Antimicrobial activity of lysozyme against bacteria involved in food spoilage and food-borne disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(9), 2165-2170.

72. Fernandez-Paggi, M.B., Soraci, A. L., & Amanto, F. (2012). Estudio de la distribución del antibiótico fosfomicina en calostro-leche de cerdas. *Analecta Veterinaria*, 32.
73. Li, L., Chen, X., Dai, X., Chen, H., & Zhong, D. (2007). Rapid and selective liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the determination of fosfomycin in human plasma. *Journal of Chromatography B*, 856(1), 171-177.
74. Ramírez-Jiménez, A., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., & Bucio, E. (2014). Temperature-responsiveness and biocompatibility of DEGMA/OEGMA radiation-grafted onto PP and LDPE films. *Radiation Physics and Chemistry*, 99, 53-61.
75. O'Neil, G. A., Wisnudel, M. B., & Torkelson, J.M. (1996). A critical experimental examination of the gel effect in free radical polymerization: Do entanglements cause autoacceleration?, *Macromolecules*, 29(23),7477-7490
76. O'Shaughnessy, B., & Yu, J. (1994). Autoacceleration in free radical polymerization. 1. Conversion. *Macromolecules*, 27(18), 5067-5078.
77. Cai, D., Neyer, A., Kuckuk, R., & Heise, H. M. (2010). Raman, mid-infrared, near-infrared and ultraviolet-visible spectroscopy of PDMS silicone rubber for characterization of polymer optical waveguide materials. *Journal of Molecular Structure*, 976(1), 274-281.
78. Chang, H., Wan, Z., Chen, X., Wan, J., Luo, L., Zhang, H., & Tu, Z. (2016). Temperature and humidity effect on aging of silicone rubbers as sealing materials for proton exchange membrane fuel cell applications. *Applied Thermal Engineering*, 104, 472-478.
79. Morgan, A. M., Pollack, S. K., & Beshah, K. (2002). Synthesis and multidimensional NMR characterization of PDMS-b-PS prepared by combined anionic ring-opening and nitroxide-mediated radical polymerization. *Macromolecules*, 35(11), 4238-4246.
80. Wang, J., Cheung, M. K., & Mi, Y. (2001). Miscibility in blends of poly (4-vinylpyridine)/poly (4-vinylphenol) as studied by ¹³C solid-state NMR. *Polymer*, 42(7), 3087-3093.
81. Qian, W., Xu, P., Lu, G., & Huang, X. (2014). Synthesis of PAA-g-PNVCL Graft Copolymer and Studies on Its Loading of Ornidazole. *Chinese Journal of Chemistry*, 32(10), 1049-1056.
82. Gushikem, Y., Benvenuto, E. V., & Kholin, Y. V. (2008). Synthesis and applications of functionalized silsesquioxane polymers attached to organic and inorganic matrices. *Pure and Applied Chemistry*, 80(7), 1593-1611.
83. Jeong, B., Bae, Y. H., & Kim, S. W. (2000). Drug release from biodegradable injectable thermosensitive hydrogel of PEG-PLGA-PEG triblock copolymers. *Journal of Controlled Release*, 63(1), 155-163.
84. Xu, Y., Shi, L., Ma, R., Zhang, W., An, Y., & Zhu, X. X. (2007). Synthesis and micellization of thermo- and pH-responsive block copolymer of poly (N-isopropylacrylamide)-block-poly (4-vinylpyridine). *Polymer*, 48(6), 1711-1717.
85. Roussos, N., Karageorgopoulos, D. E., Samonis, G., & Falagas, M. E. (2009). Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of fosfomycin for the treatment of patients with systemic infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 34(6), 506-515.
86. Soraci, A. L., Perez, D. S., Martinez, G., Dieguez, S., Tapia, M. O., Amanto, F., & Romano, O. (2011). Disodium-fosfomycin pharmacokinetics and bioavailability in post weaning piglets. *Research in Veterinary Science*, 90(3), 498-502.

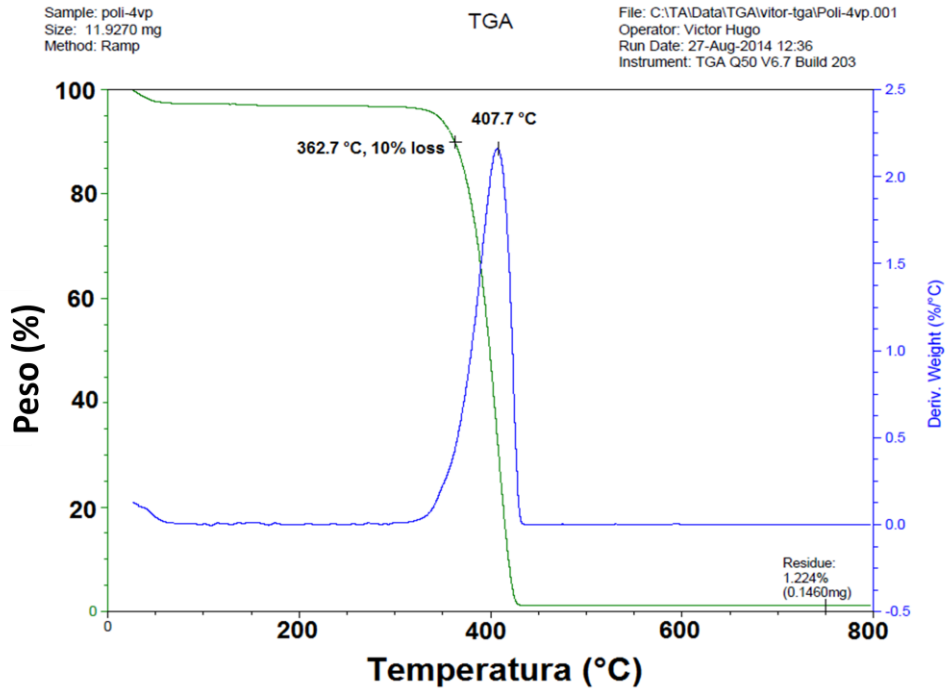
Anexos



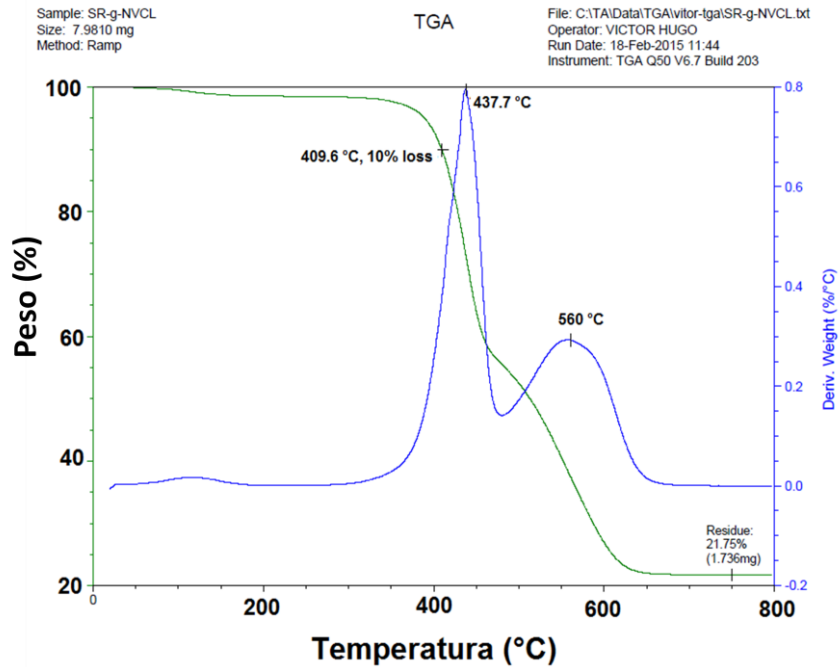
Anexo 1. Espectro Raman de SR-g-NVCL comparado con espectro Raman de SR.



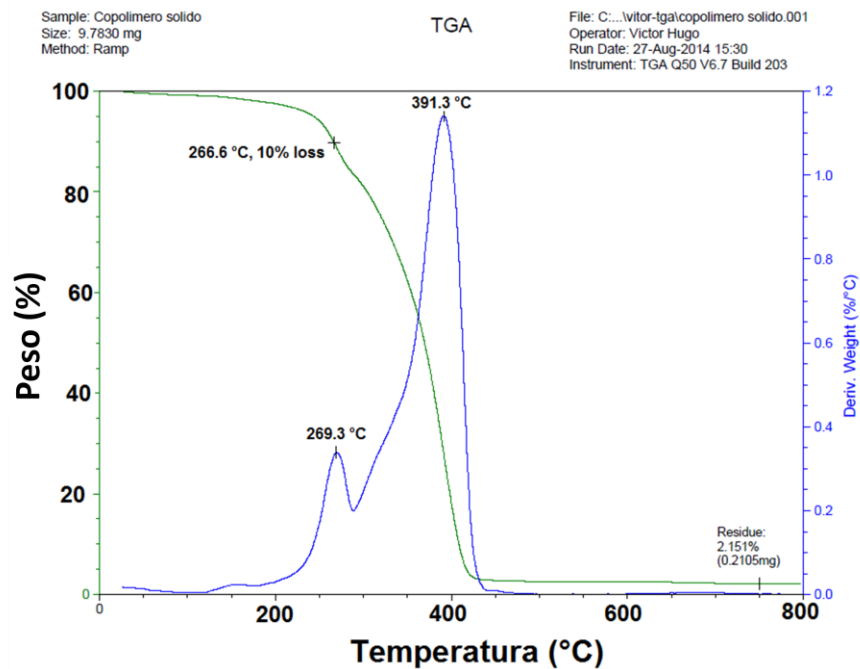
Anexo 2. Termograma DSC de PNVCL y SR-g-NVCL, rampa de calentamiento de 5°C/min.



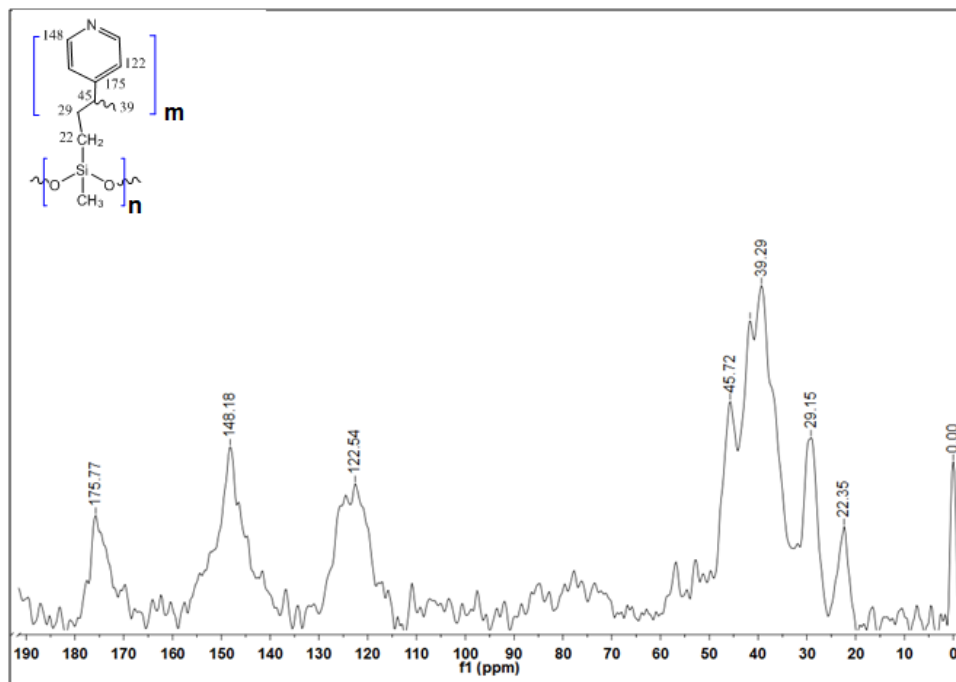
Anexo 3. Termograma de P4VP e atmosfera de nitrógeno a 10°C/min de 25 a 800°C.



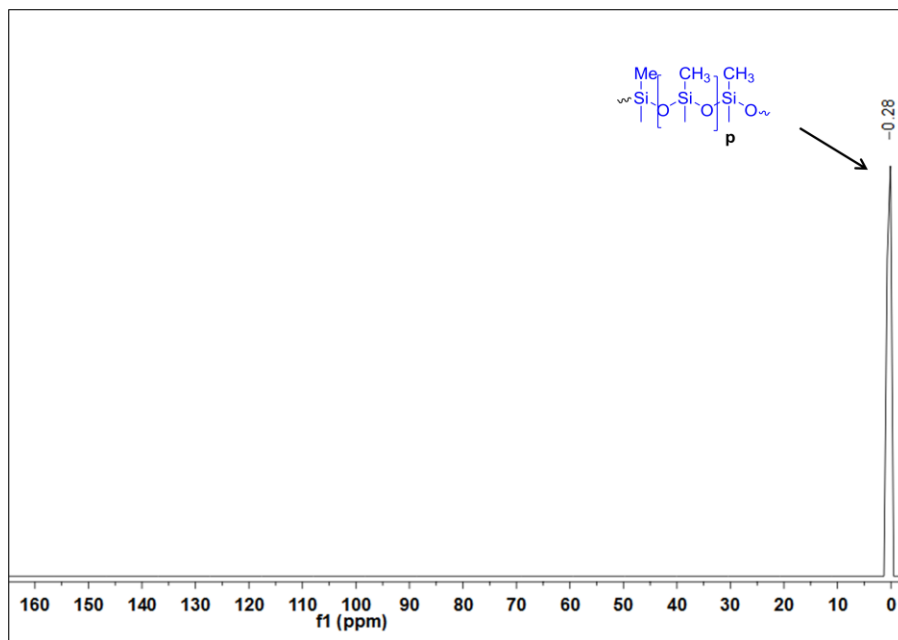
Anexo 4. Perfil de descomposición TGA de SR-g-NVCL en atmosfera inerte, rampa de calentamiento de 10°C/min.



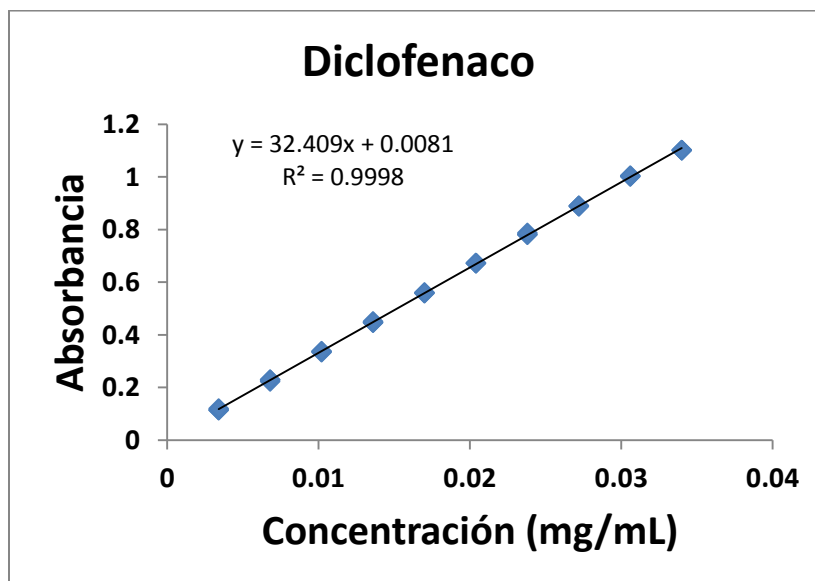
Anexo 5. Termograma TGA de Poli(NVCL-co-4VP), rampa de calentamiento 10°C/min de 25 a 800°C.



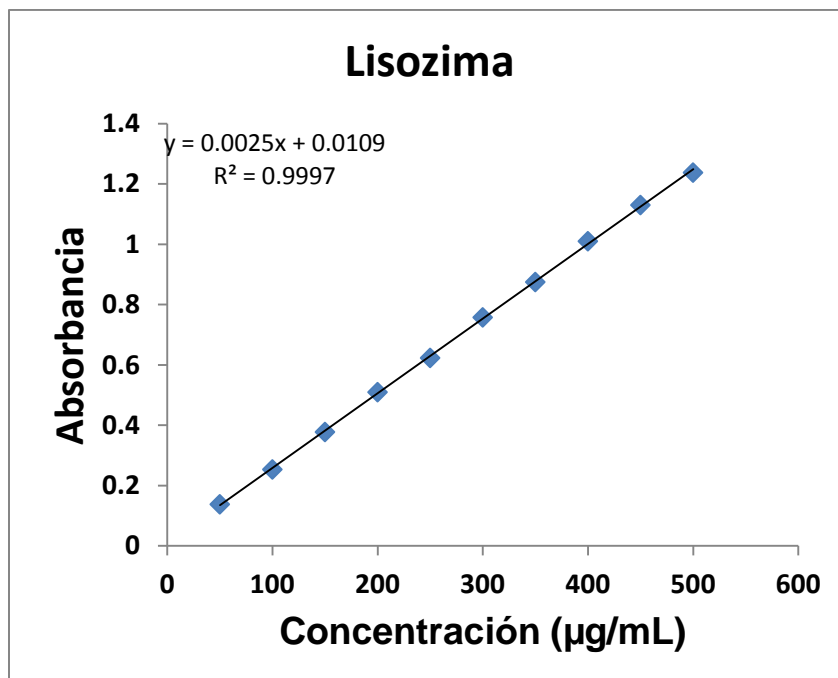
Anexo 6. Espectro RMN ¹³C-CPMAS de SR-g-4VP.



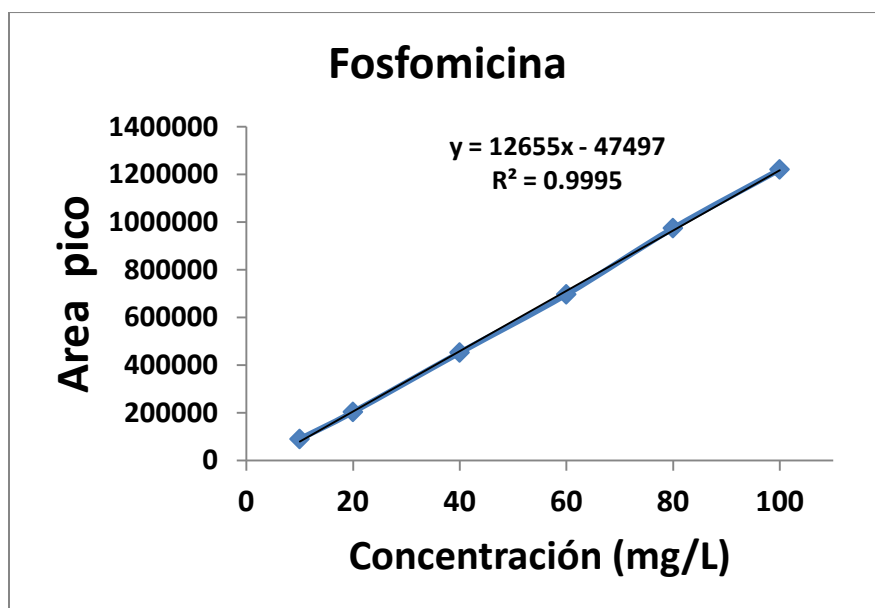
Anexo 7. Espectro RMN ^{13}C -CPMAS de SR (PDMS) en estado sólido, analizado a 400 MHz.



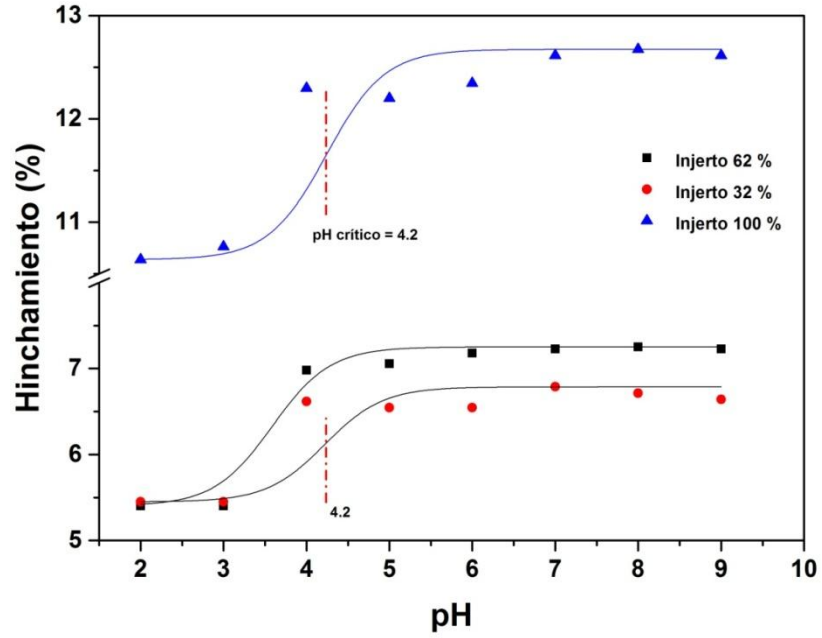
Anexo 8. Curva de calibración diclofenaco medida a 276 nm en solución salina 0.9% de concentración.



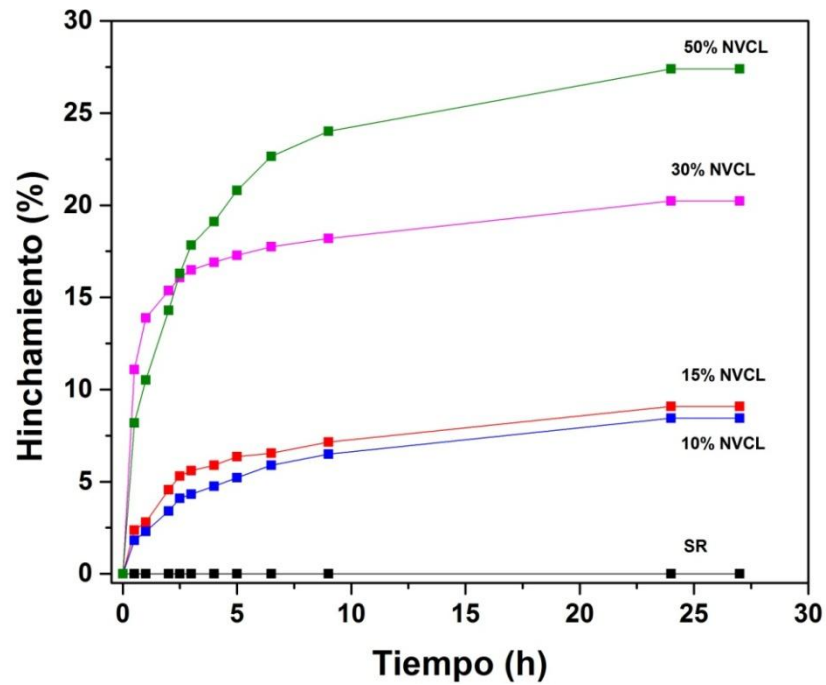
Anexo 9. Curva de calibración de lisozima en solución amortiguadora pH 6.2 medido a 281 nm.



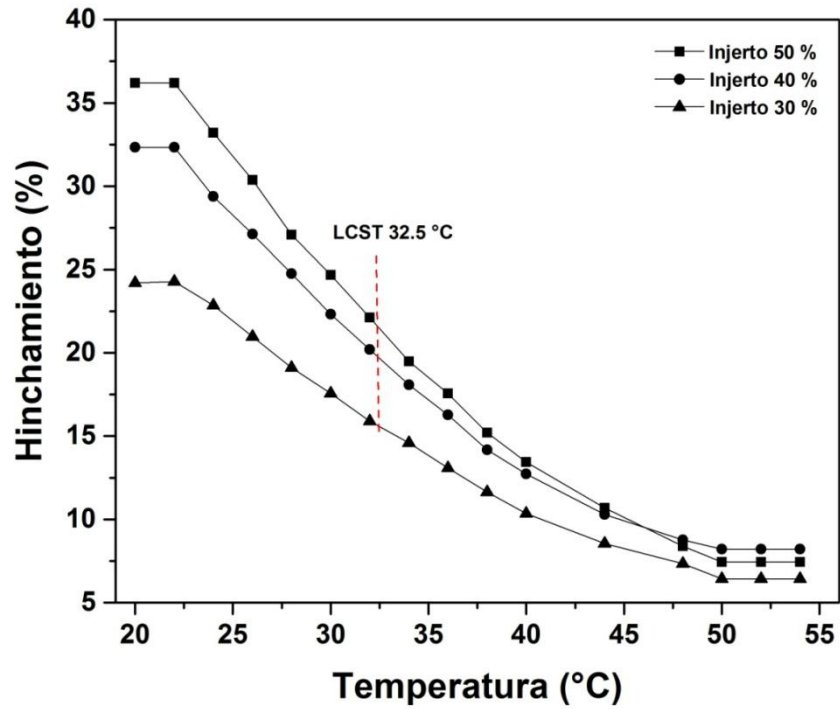
Anexo 10. Curva de calibración de FOS mediante HPLC-MS, linealizada respecto al área del pico (en el cromatograma) contra la concentración de la disolución del antibiótico.



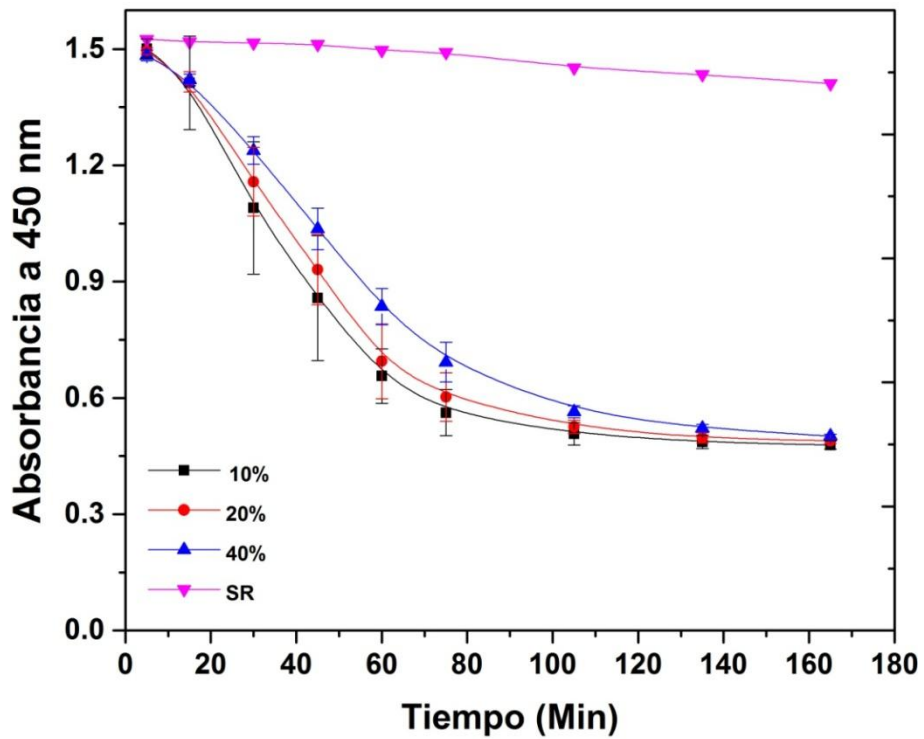
Anexo 11. pH crítico de SR-g-4VP en soluciones amortiguadoras de diverso pH y a temperatura ambiente.



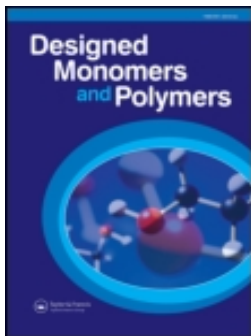
Anexo 12. Estudio del tiempo de hinchamiento máximo de las películas de SR-g-NVCL en medio acuoso.



Anexo 13. Determinación de LCST de las películas de SR-g-NVCL en medio acuoso.



Anexo 14. Actividad catalítica de la lisozima inmovilizada en SR-g-NVCL contra *M. lysodeikticus* a 1.52 de absorbancia, el ensayo fue monitoreado a 450 nm.



One-step grafting of temperature-and pH-sensitive (N-vinylcaprolactam-co-4-vinylpyridine) onto silicone rubber for drug delivery

Victor H. Pino-Ramos, Carmen Alvarez-Lorenzo, Angel Concheiro & Emilio Bucio

To cite this article: Victor H. Pino-Ramos, Carmen Alvarez-Lorenzo, Angel Concheiro & Emilio Bucio (2017) One-step grafting of temperature-and pH-sensitive (N-vinylcaprolactam-co-4-vinylpyridine) onto silicone rubber for drug delivery, *Designed Monomers and Polymers*, 20:1, 33-41, DOI: [10.1080/15685551.2016.1231033](https://doi.org/10.1080/15685551.2016.1231033)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/15685551.2016.1231033>



© 2016 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



Published online: 20 Sep 2016.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

One-step grafting of temperature- and pH-sensitive (N-vinylcaprolactam-co-4-vinylpyridine) onto silicone rubber for drug delivery

Victor H. Pino-Ramos^a, Carmen Alvarez-Lorenzo^b , Angel Concheiro^b  and Emilio Bucio^a 

^aDepartamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México DF 04510, Mexico; ^bFacultad de Farmacia, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, R+D Pharma Group (GI-1645), Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

ABSTRACT

A one-step method was implemented to graft N-vinylcaprolactam (NVCL) and 4-vinylpyridine (4VP) onto silicone rubber (SR) films using gamma radiation in order to endow the silicone surface with temperature- and pH-responsiveness, and give it the ability to host and release diclofenac in a controlled manner and thus prevent bacterial adhesion. The effects of radiation conditions (e.g., dose and monomers concentration) on the grafting percentage were evaluated, and the modified films were characterized by means of FTIR-ATR, Raman spectroscopy, calorimetry techniques (DSC and TGA) and contact angle measurements. The films responsiveness to stimuli was evaluated by recording the swelling degree of pristine and modified SR in buffer solutions (critical pH point) and as a function of changes in temperature (Upper Critical Solution Temperature, UCST). The graft copolymers of SR-g-(NVCL-co-4VP) showed good cytocompatibility against fibroblast cells for prolonged times, could host diclofenac and release it in a sustained manner for up to 24 h, and exhibited bacteriostatic activity when challenged against *Escherichia coli*.

ARTICLE HISTORY

Received 28 April 2016
Accepted 30 July 2016

KEYWORDS

Dually responsive; silicone rubber; drug-eluting device; diclofenac sodium; cytocompatibility; bacteria adhesion

1. Introduction

The combination of medical devices with drugs, namely the preparation of drug-eluting medical devices, is receiving a great deal of attention as it can provide relevant therapeutic synergisms.[1,2] Implantable medical devices mainly exert the therapeutic function through a physical mechanism of support or replacement of an affected tissue. However, they are quite prone to the adhesion of proteins and cells from the host, which can lead to adverse foreign-body reactions (inflammation, restenosis, opacification, etc.), as well as to surface colonization by microorganisms, which in turn transforms the device on a focus of infection.[3] The incorporation of anti-inflammatory, antimicrobial or antiproliferative drugs on a medical device may attenuate the host response and the microbial adhesion. In addition, the device can act as a suitable platform for the release of a variety of other drugs for a prolonged time in a specific site, enhancing the therapeutic performance compared to a systemic administration.[4,5] Consequently, the efficacy and the safety of the treatment, as well as its cost-effectiveness, are improved.

The first drug-combined medical devices were drug-eluting stents, which were approved in 2003, and

since then the field has opened up to include various other medical devices, such as sutures and catheters.[6,7] Nonetheless, some of the challenges that hinder the further development of drug-eluting medical devices include the low affinity of most biomaterials for drugs, which limits drug adsorption on the surface, and the deleterious effects that incorporating high amounts of drug in the bulk material might cause on the performance of the medical device. Several strategies, among them polymer grafting, are under development to overcome these limitations.[8] Polymer nanobrushes grafted on the surface of the medical device, as either individual or cross-linked chains, serve as a suitable wrapping nanolayer that can host and control the release of drugs. The grafting can be initiated by means of chemicals or applying ionizing energy.[9] In this regard, gamma radiation is particularly attractive for the functionalization of medical devices [10,11] because it has the advantage of being widely used for a variety of high scale-up processes including sterilization, and does not require chemical adjuvants such as catalysts, thus avoiding subsequent steps for their removal.[6]

Drug release can be controlled by diffusion and/or competitive mechanisms or by the responsiveness of polymer

CONTACT Emilio Bucio  ebucio@nucleares.unam.mx

© 2016 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

brushes (stimuli-responsive polymers) to certain physiological or external stimuli.[12] Stimuli-sensitive polymers undergo abrupt conformational changes in response to tiny variations in pH, temperature, medium composition, light, and magnetic or electrical fields.[13,14] A variety of pH- and temperature-sensitive polymers have been already grafted onto solid surfaces; drug molecules can be readily loaded when the network is swollen, while drug diffusion occurs slowly when the network is collapsed at physiological conditions.[15]

The aim of this work was to implement a one-step method to graft N-vinylcaprolactam (NVCL) and 4-vinylpyridine (4VP) onto silicone rubber (SR), using gamma irradiation, in order to endow the silicone surface with temperature- and pH-responsive brushes that can host and release diclofenac in a controlled manner. SR is one of the most common components of insertable medical devices. Diclofenac is one of the most used non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), but it also exhibits bacteriostatic [16] and antimicrobial activity against many microorganisms.[17] Therefore, diclofenac-eluting medical devices may simultaneously exhibit reduced inflammatory response and lower risk of microbial colonization. NVCL and 4VP have not been grafted together before, and thus a first aim of the work was to elucidate the effects of the monomers concentration and absorbed dose on the grafting percentage. These two compounds were chosen because (i) NVCL is a monomer with amphiphilic character and in its polymer form is biocompatible and exhibits temperature-responsiveness, making it a safer alternative than PNIPAAm [18–23]; and (ii) poly(4-vinylpyridine) (P4VP) is a cationic polymer that exhibits pH-responsiveness.[24] Dual temperature- and pH-responsive copolymers have been extensively studied because of the shifts that the pH-responsive component produces in the temperature-responsive polymer, which could move the phase volume transition temperature in or out of the physiological range.[23,25] Hence, a second aim of the work was to elucidate the effect that co-grafting NVCL and P4VP might have on the original responsiveness of each component. Finally, since both NVCL and P4VP bear chemical groups that can interact with sodium diclofenac, the effect of grafting percentage on drug loading/release profiles was investigated, as well as the prevention of bacteria adhesion. Cytocompatibility tests were carried out to verify compatibility of the modified SR with mammalian cells.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Silicone rubber films (SR, 1 mm in thickness) were from GoodFellow (Huntingdon, UK). N-vinylcaprolactam and 4-vinylpyridine were from Sigma–Aldrich Co. (St. Louis, MO,

USA) and purified by vacuum distillation before use. Toluene (analytical grade) was from J.T. Baker Co. (Mexico) and used as received. Diclofenac sodium from Vorquímica, S.L. (Spain). The MTT proliferation kit was from Roche (Germany) and the fibroblast cells (BALB/3T3; ATCC CCI-163™) were from the American Type Culture Collection (Manassas, VA, USA).

2.2. Synthesis of graft copolymer

Films of SR were washed with ethanol during 3 h and dried, weighed and placed in glass ampoules containing a mixture of NVCL and 4VP (1/1 v/v) in toluene (total monomers concentration ranged from 10 to 70% v/v). Then the ampoules were degassed by freeze-thaw cycles (5 times), sealed, and irradiated with a ⁶⁰Co γ -source (Gammabeam 651 PT, MDS Nordion, Canada) at 10.3 kGy/h of intensity. The obtained SR-g-(NVCL-co-4VP) films were washed in ethanol for 12 h to remove residual monomers and homopolymer formed during the reaction, and then dried under vacuum to constant weight. The grafting percentage was calculated as follows:

$$G(\%) = 100[(W_g - W_0)/W_0] \quad (1)$$

where W_0 and W_g represent the weights of the initial and grafted films, respectively.

2.3. Structural and thermal characterization

Infrared (FTIR) spectra in attenuated total reflection mode (ATR) of copolymers were recorded using a Perkin–Elmer Spectrum 100 spectrometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) with 16 scans. Raman spectra were recorded using a Renishaw inVia confocal Raman microscope (Renishaw Ibérica S.A.U., Spain). Thermal decomposition was determined in nitrogen atmosphere between 25 and 800 °C at a heating rate of 10 °C/min using a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE, USA). Differential scanning calorimetry (DSC) studies for the determination of thermal transitions were carried out under nitrogen flow using a DSC 2010 calorimeter (TA Instruments, New Castle, DE, USA) from 25 to 250 °C at a heating rate of 10 °C/min.

2.4. Degree of swelling and contact angle measurements

Pieces of SR and SR-g-(NVCL-co-4VP) copolymers were weighed and immersed in distilled water at 25 °C. At preestablished time intervals (from 15 min to 48 h), the samples were removed from the medium and weighed after removal of excess water with a piece of paper. The swelling percentage was calculated as follows:

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

where W_s and W_d are the weights of the swollen and dried pieces, respectively.

The temperature responsiveness of SR-g-(NVCL-co-4VP) was estimated from the changes in swelling in phosphate buffer solution (PBS pH 7.4) as a function of temperature [26] in the 22–36 °C range. The upper critical solution temperature (UCST) value was considered to be the inflection point of the degree of swelling vs. temperature plot.

The critical pH value was determined from the changes in the swelling degree of copolymer films that were placed in buffer media of pH ranging from 4 to 10 at 25 °C, during 24 h. The buffers were prepared by mixing adequate volumes of boric acid (0.2 M) and citric acid (0.05 M) solutions with a trisodium phosphate dodecahydrated (0.1 M) solution.[27] The critical pH value was defined as the inflection point in the swelling degree vs. solution pH plot.

A DSA 100 (Krüss GmbH, Hamburg, Germany) was used to measure the water contact angle of SR-g-(NVCL-co-4VP) by depositing a droplet of distilled water onto the modified film (previously washed and dried) and measuring the water-surface contact angle immediately after. The measurement was done 3 times at different zones of the film and at 25 °C. Films with different graft percentages were analyzed.

2.5. Cytocompatibility assay

The assay was carried out using embryonic mouse fibroblast BALB/3T3 cells. First, SR and SR-g-(NVCL-co-4VP) copolymer pieces were washed with water under constant stirring for 24 h to remove impurities, and subsequently dried in an oven at 40 °C to constant weight. The samples were exposed to UV radiation during 20 min,[28] and immediately after placed in 300 µL of culture medium (DMEM F12 supplied with 10% FBS and 1% of antibiotic solution) and incubated at 37 °C for 24 h. BALB/3T3 cells in DMEM F12 Ham supplemented with 10% FBS and 1% antibiotic solution (200,000 cell/mL; 100 µL) were seeded in 96-well plates. After 24 h of incubation, 100 µL of medium in contact with the copolymers were poured into the wells containing cells, which were then incubated (37 °C, 5% CO₂, 90% RH) during 24 or 48 h more. Afterwards, the culture medium was replaced with 100 µL of fresh medium, and 10 µL of the reagent 1 of the MTT kit was added. After 4 h of incubation at 37 °C, 100 µL of the reagent 2 of the MTT kit was added and incubated again at 37 °C during 4 h. Plates were read at 550 nm using an ELISA plate reader (BIORAD Model 680 Microplate Reader, USA). Tests were done in triplicate.[29] Negative controls were also prepared by just adding fresh culture medium to cells and treating them in the same way. Cell viability was calculated as follows:

$$\text{Cell Viability (\%)} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{negative control}}} \right) \cdot 100 \quad (3)$$

2.6. Diclofenac loading and release

The graft copolymers were extensively washed with water, dried in an oven at 40 °C and finally weighed. Pieces of the films (0.3 cm²) were placed in vials with a diclofenac sodium aqueous solution (80 mg/L; 5 mL) and kept under constant stirring for 48 h, protected from light and at room temperature. At pre-established time intervals, samples were taken from the release medium and the absorbance was measured at 276 nm (UV-Vis spectrophotometer, Agilent 8453, Germany). The experiment was carried out in triplicate. Using a validated calibration curve, the amount of drug loaded was calculated as follows.

$$\text{Diclofenac loaded (mg/g)} = (C_1 - C_2) \cdot V/W \quad (4)$$

where C_1 and C_2 represent the initial and final concentration of drug in the loading medium, respectively, V the volume of solution used for loading, and W the weight of film.

Diclofenac-loaded films were dried and then transferred to vials with saline serum (0.9% NaCl; 5 mL) and kept at 37 °C under constant stirring (300 rpm) and protected from light.[30,31] The amount of diclofenac released was monitored by measuring the absorbance of samples that were taken at different times from the release medium (276 nm; UV-Vis spectrophotometer, Agilent 8453, Germany). The samples were returned to the medium. The tests were carried out in triplicate.

2.7. Bacterial adhesion assay

Copolymer pieces (0.3 cm²) were placed in vials containing 5 mL of a diclofenac solution (0.04 mg/mL), which were then sealed, autoclaved at 120 °C for 20 min, and gently shaken for 48 h at room temperature. Then, the copolymer pieces were placed in vials with 2 mL of an *Escherichia coli* culture solution in trypticase soy broth (TSB; 8×10^8 CFU/mL) and incubated at 37 °C for 3 h. Afterwards, the films were removed from the culture medium, washed with phosphate buffer solution (PBS), placed in vials with 2 mL of PBS and sonicated with a Bronson Sonifier 250 for 5 min to release the bacteria that had adhered to the films. Solution samples obtained from the sonication process were taken, and dilutions were made and seeded in Petri dishes with agar medium.[32] CFU counting was performed after incubation for 24 h at 37 °C.

2.8. Statistical analysis

Effects of grafting percentage on cytocompatibility, diclofenac loading and bacteria adhesion were analyzed using ANOVA and multiple range test (Statgraphics Centurion XVI 1.15, StatPoint Technologies Inc., Warrenton VA).

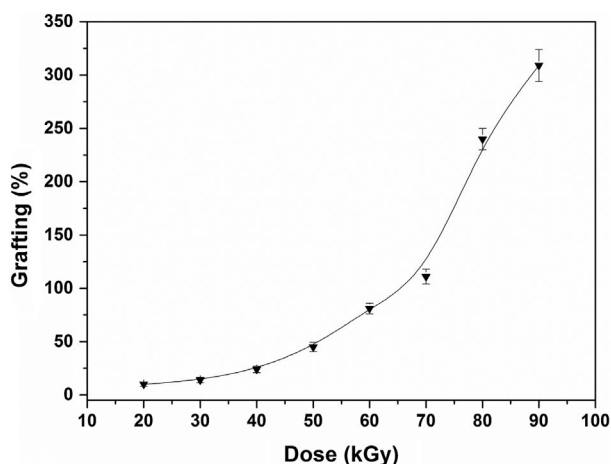


Figure 1. Grafting percentage of NVCL and 4VP onto silicone as a function of dose, NVCL/4VP monomers/toluene 7/3 (v/v), $I = 10.3$ kGy/h.

3. Results and discussion

3.1. Grafting process

SR-g-(NVCL-co-4VP) copolymers were synthesised applying a one-step radiation grafting method. To the best of our knowledge, NVCL and 4VP have not been grafted together before and, therefore, attention was paid to the effects of monomers concentration and absorbed dose on the graft percent. All experiments were carried out using a fixed NVCL:4VP 1:1 v/v ratio, but the monomers mixture was diluted with toluene at various proportions. The effect of the dose needed to carry out the polymerization reaction was evaluated by varying the dose rate using a constant toluene solution of 70% monomers (Figure 1). The grafting percentage steadily increased as the absorbed dose increased up to 70 kGy ($\approx 100\%$ grafting), but then a jump occurred and at 80 kGy the grafting percentage was above 200%. Further increases in dose led to additional increments in the amount of copolymer grafted. At high doses more C–H bonds are broken and higher number of reactive sites is created on the SR, meaning that more N-vinylcaprolactam and 4-vinylpyridine monomers can react. A similar dependence was observed when the effect of the monomer concentration was evaluated (Figure 2). For a fixed absorbed dose of 70 kGy, there was a rapid increase in the grafting percentage when the monomers concentration was raised from 60 to 70%. Similar dependences have been previously observed for other monomer combinations and are related to an increase in the probability of interaction of the monomer molecules with the radicals formed on the SR, starting thereby the grafting reaction. Thus, by tuning both the absorbed dose and monomers concentration a variety of grafting percentages can be obtained.

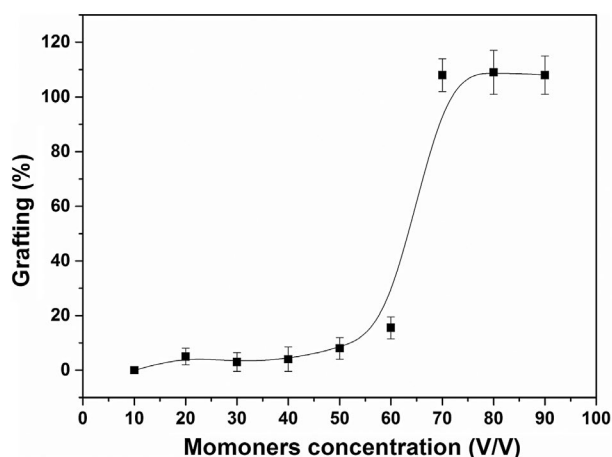


Figure 2. Grafting percentage of SR-g-(NVCL-co-4VP) as a function of monomers concentration in toluene (v/v), dose 70 kGy, $I = 10.3$ kGy/h.

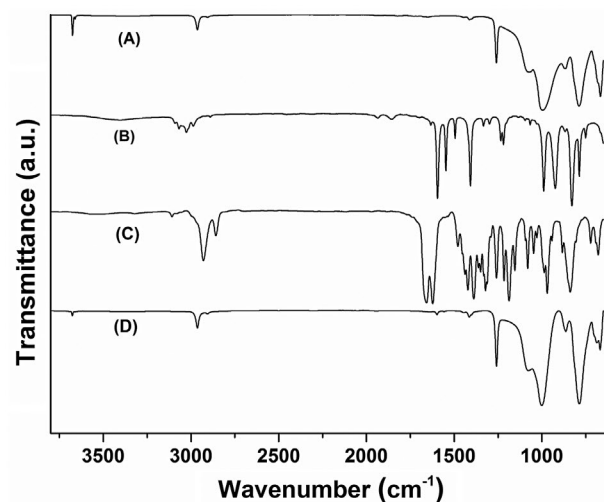


Figure 3. IR spectra of (A) pristine silicone rubber, (B) 4VP, (C) NVCL and (D) SR-g-(NVCL-co-4VP), (42%).

3.2. Characterization of SR-g-(NVCL-co-4VP) copolymers

SR and SR-g-(NVCL-co-4VP) copolymers showed similar FTIR-ATR spectra probably because an overlapping of the bands of the grafted monomers with those of SR (Figure 3). Bands at 2963 and 1258 cm^{-1} corresponded to Si–C asymmetrical stretching of C–H bonds, and at 1008 cm^{-1} to the stretching vibration of the Si–O bond of silicon main chain. The absorption band at 1657 cm^{-1} , which is typical of a C=C double bond stretching, did not appear in the graft copolymer, and the carbonyl group of the amide at 1622 cm^{-1} was not perceptible. Bands at 2908 cm^{-1} corresponded to aromatic C–H vibrations, while at 1598 and 1415 cm^{-1} corresponded to the stretching of C=N due to the pyridine ring grafted onto silicone. The presence of

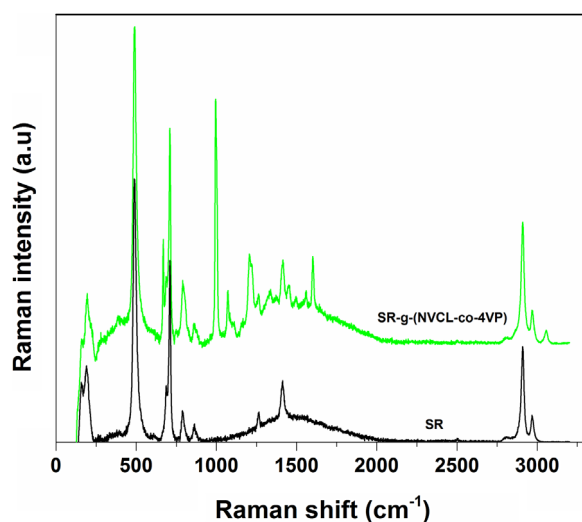


Figure 4. Raman spectra of pristine silicone rubber and SR-g-(NVCL-co-4VP) (42%) using a laser of neon at 785 nm.

these bands confirmed the grafting by comparison with absorption bands of the raw materials (Figure 3).

A more detailed analysis was carried out by means of Raman spectroscopy of the film surface (Figure 4). The copolymers exhibited a new band at 3090 cm^{-1} that corresponded to C–H stretching from the aromatic ring of 4VP, bands at 2964 and 2905 cm^{-1} which corresponded to the symmetrical and asymmetrical stretching of C–H, at 1657 cm^{-1} due to the stretching band of C=O from NVCL grafted, at 1240 cm^{-1} associated to C–N stretching, at 1032 cm^{-1} due to aromatic C–H bending, at 710 cm^{-1} associated to stretching of Si–C and at 494 cm^{-1} because of the stretching of the Si–O bond.[33] Differences with respect to pristine SR confirmed the binary graft (Figure 4).

The thermal stability of the materials was evaluated by means of TGA by recording the weight-loss as a function of temperature. The temperature at which 10 wt% weight loss occurred was 518 °C for SR, 405 °C for SR-g-(NVCL-co-4VP) with 42% graft, 382 °C for SR-g-(NVCL-co-4VP) with 300% graft, and 230 °C for a poly(NVCL-co-4VP) prepared under similar conditions (Figure 5). These findings indicate that the grafting has moderate detrimental effect on thermal stability due to the lower decomposition temperature of poly(NVCL-co-4VP) compared to that of SR. Nevertheless, the obtained copolymers may exhibit sufficient stability under common manufacturing processes for biomedical applications. The glass transition temperature (T_g) was recorded using a DSC equipment. Typical T_g values of SR are between -80 and -85 °C , [34,35] which falls out of the range of the DSC apparatus used. The T_g value of SR-g-(NVCL-co-4VP) films was of 150 °C for a 108% graft, while for poly(NVCL-co-4VP) the T_g was 138 °C . Overall, the T_g values were similar for all graft percentages.

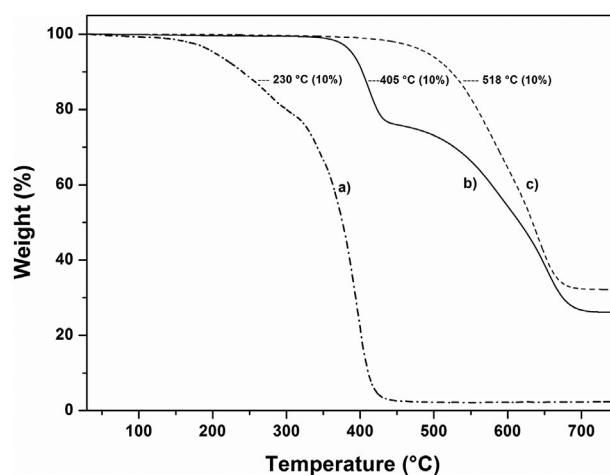


Figure 5. Thermogravimetric curves of (a) poly(NVCL-co-4VP), (b) SR-g-(NVCL-co-4VP) 42% grafting, and (c) SR pristine. The values in parentheses correspond to the weight loss percentage up to the given temperature.

3.3. Water contact angle and swelling degree

Water contact angle of pristine SR was 108.3° , as expected from its hydrophobic character. Increasing the content in grafted NVCL-co-4VP copolymer caused a progressive decrease in the water contact angle; for 20, 45, 90, 240 and 340% grafting the water contact angle were 105.2° , 101.7° , 97.3° , 92.5° and 89.7° . Thus, the SR-g-(NVCL-co-4VP) films had a more hydrophilic surface than SR.

When immersed in an aqueous medium SR did not absorb water. Grafting of NVCL and 4VP endowed capability to uptake water to the modified films (Figure 6). The swelling degree of grafted films increased as greater amounts of hydrophilic chains (higher grafting percentage) were grafted onto the SR surface. Water can be absorbed by the hydrophilic groups present in the grafted polymer chains via hydrogen bonding with the carbonyl groups of the lactam ring and protonation of the nitrogen atom present on the pyridine ring. The swelling process was relatively slow at 25 °C and the material reached the swelling equilibrium after 24 h.

The temperature-responsive behavior of the copolymers was estimated from the temperature dependence of the swelling degree in PBS (pH 7.4) of SR-g-(NVCL-co-4VP) films. Differently from pure poly(NVCL), which exhibits a lower critical solution temperature in the $31\text{--}34\text{ °C}$ range, [21] SR-g-(NVCL-co-4VP) copolymers exhibited an UCST in the $24\text{--}27.3\text{ °C}$ range (Figure 7). Those copolymers with the highest graft percentages showed a slightly higher UCST, probably due to the effect of copolymer molecular weight on this parameter.[36] High graft percentages are not only related to more nanobrush chains, but also to longer nanobrushes. The phase transition of grafted films as a function of temperature confirmed that

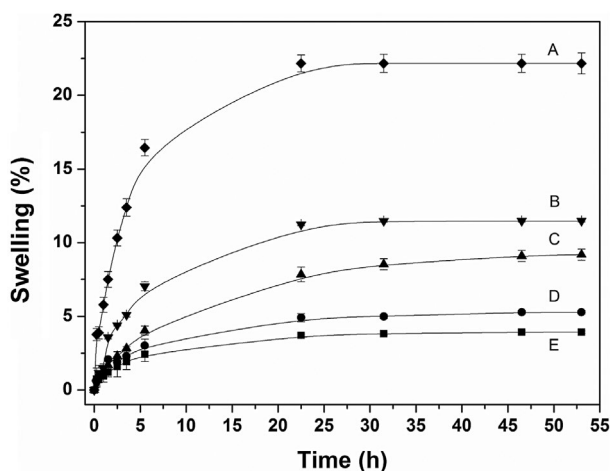


Figure 6. Swelling degree in water of SR-g-(NVCL-co-4VP) films with (A) 240%, (B) 80%, (C) 42%, (D) 29%, and (E) 10% grafting percentage.

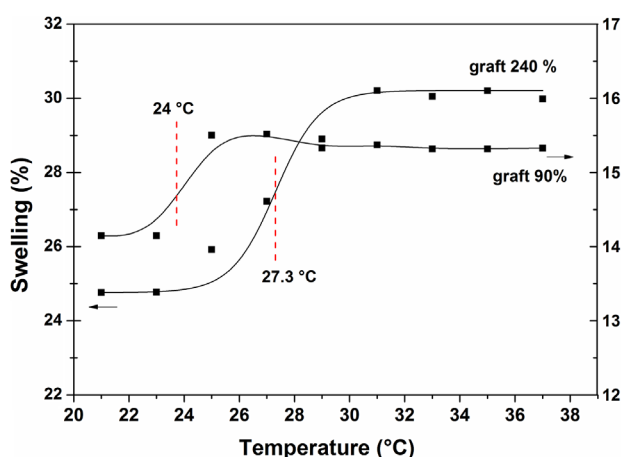


Figure 7. Swelling percentage in PBS (pH 7.4) as a function of temperature for SR-g-(NVCL-co-4VP) with grafting percentages of (A) 240% (y-axis on the left) and (B) 90% (y-axis on the right).

NVCL was grafted onto silicone. The phase transition of polyNVCL from hydrophobic to hydrophilic is due to the weakening of the associative interactions among polymer chains when the temperature is above a certain threshold, which favours the contact of individualized chains with the aqueous medium and subsequent interaction of polymer hydrophilic groups with water.[37,38]

The swelling behavior of SR-g-(NVCL-co-4VP) as a function of pH is shown in Figure 8. The pH responsiveness was due to the 4VP moieties. A volume phase transition was recorded at a pH close to 7.8, which is slightly above the physiological value of 7.4. The degree of swelling remained almost constant up to pH 7.5, but then a sharp expansion of the network occurred. The biggest change in volume was observed for films with longer grafted chains. The critical pH may be useful for triggering a more rapid release

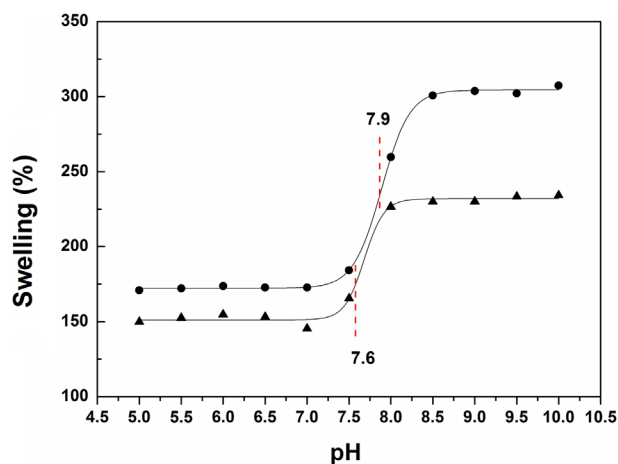


Figure 8. Swelling degree as a function of pH for SR-g-(NVCL-co-4VP) with grafting percentages of (A) 315% and (B) 240% at room temperature.

of the drug when an increase in pH occurs, as it happens, for example, during some urinary tract infections because bacteria transform urea into ammonia and other alkaline waste products. Overall, the results obtained indicate that grafting NVCL and 4VP in one-step leads to nanobrushes that exhibit responsiveness to both temperature and pH. However, the point at which the stimuli-response took place was altered when the compounds were randomly grafted as copolymers.

3.4. Cytocompatibility

SR-g-(NVCL-co-4VP) films showed good cytocompatibility when an indirect contact method was used, which consisted in exposing Balb/3T3 cells to the extraction medium. This fibroblast cell line has been widely used to evaluate toxicity of materials due to its sensitiveness.[29] As shown in Figure 9, SR-g-(NVCL-co-4VP) films did not cause any detrimental effect on cell proliferation levels, which were similar to those recorded for pristine SR after 24 and 48 h incubation (no statistical differences for $p < 0.05$). All SR-g-(NVCL-co-4VP) films showed similar cytocompatibility disregarding the grafting percentage, with cell viability values above 80% at 24 h. Although the cell viability showed a slight decrease after 48 h, it remained above 70%.

3.5. Diclofenac loading and release

SR did not load quantifiable amounts of diclofenac. Differently, carbonyl groups (from NVCL) and amino groups (from 4VP) made SR-g-(NVCL-co-4VP) films particularly suitable for hosting diclofenac (Figure 10). This NSAID can interact through its C-Cl bonds with the carbonyl function of NVCL, mimicking a common mechanism of interaction

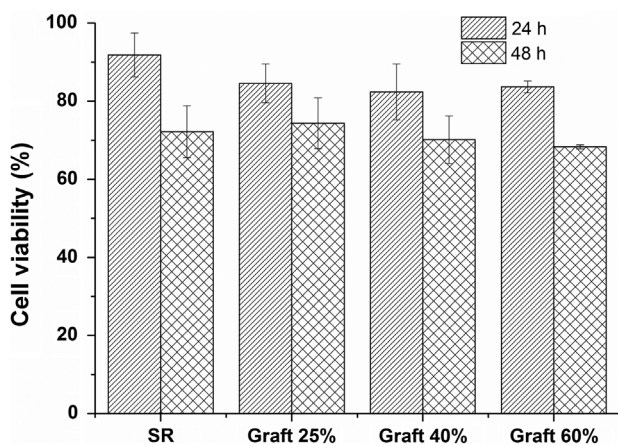


Figure 9. BALB 3T3 cells viability after 24 and 48 h exposition to extraction medium of copolymers prepared with different graft percentage. 100% cell viability corresponds to the negative control (i.e., cells grow under the same conditions as the cells exposed to the extraction medium of grafted polymers).

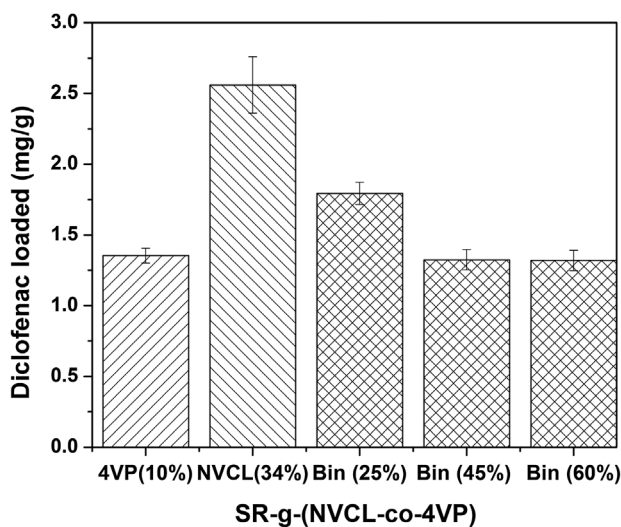


Figure 10. Sodium diclofenac loaded in SR-g-(NVCL-co-4VP) films with different grafting percentages. Drug loading was carried out by soaking of film pieces in aqueous solutions of diclofenac (80 mg/L) for 48 h at room temperature and protecting them from light. As controls, amounts loaded by SR-g-4VP (10% grafting) and by SR-g-NVCL (34% grafting) were also recorded.

in the living organisms. The carboxylic acid group as well as the aromatic rings of diclofenac may establish ionic as well as hydrophobic interactions with 4VP functionalities.

Drug loading was affected by the concentration of drug in the soaking solution. Preliminary tests revealed that immersion in 40 mg/L diclofenac solution was not sufficient for saturation of the loading ability of the films, and thus a 2-fold drug concentration was used for subsequent tests. Interestingly, drug loading negatively correlated with the grafting percentage (Figure 10); SR-g-(NVCL-co-4VP)

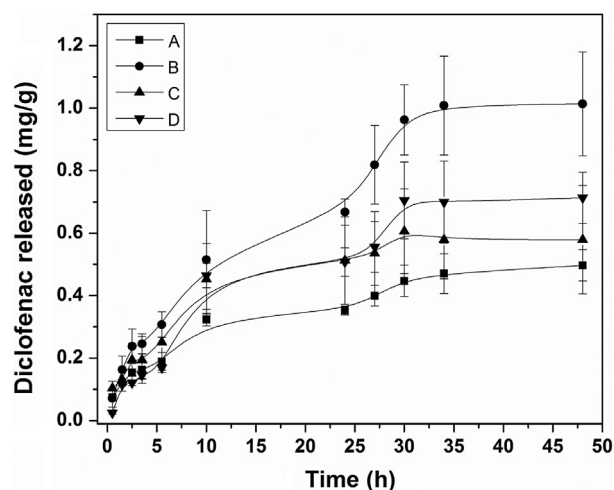


Figure 11. Diclofenac release profiles in 0.9% NaCl medium at 37 °C from drug-loaded SR-g-4VP 12% graft (A), SR-g-NVCL 34% graft (B), SR-g-(NVCL-co-4VP) 45% graft (C), and SR-g-(NVCL-co-4VP) 25% graft (D).

films with 25% graft loaded significantly larger amounts than 45% graft and 60% graft ($p < 0.01$). Some control experiments were carried out with SR films that were grafted with 4VP or NVCL in separate in order to confirm that both components of the grafted layer in SR-g-(NVCL-co-4VP) films were able to host diclofenac. SR-g-NVCL 34% graft showed an statistically greater loading ($p < 0.01$) than the others films. The decrease in diclofenac loading as NVCL-co-4VP grafting increased suggests that denser and longer nanobrushes cause steric hindrance to drug penetration in the grafted layer. Nevertheless, even for the SR-g-(NVCL-co-4VP) film with the highest grafting percentage tested, the amount of diclofenac loaded was above 1 mg/g, which may be suitable for obtaining therapeutic effects.[22,31,39]

Drug release was carried out at 37 °C in serum saline medium under sink conditions (Figure 11). SR-g-(NVCL-co-4VP) films sustained drug release for at least two days. Therefore, although the conditions used for the release tests (mimicking physiological ones) may trigger greater swelling of the grafted films, the affinity of both NVCL and 4VP for the drug still controls drug release for prolonged time. Once a medical device is implanted or inserted in the body, first hours are critical for foreign body reactions and bacteria adhesion. Thus, the performance of SR-g-(NVCL-co-4VP) films regulating diclofenac release in those first hours/days may prevent undesirable events.

3.6. Bacterial adhesion assay

One should keep in mind that grafting of swellable nanobrushes to endow medical devices with drug-eluting performance may have the negative impact of that

Table 1. CFU of *E. coli* to measure its microbial adhesion onto modified films.

Film	CFU without drug	CFU with drug
SR-g-(NVCL-co-4VP) (24%)	2.7×10^9	7.7×10^8
SR-g-(NVCL-co-4VP) (60%)	7.8×10^9	6.7×10^8

porous network facilitates bacteria adhesion and growth onto the device. To gain an insight into the feasibility of diclofenac-loaded SR-g-(NVCL-co-4VP) films to diminish the risk of bacteria adhesion, pristine and modified films were challenged against adhesion of an *E. coli* strain. The experiments were carried out incubating the films in a high concentration *E. coli* medium for 3 h. Pristine SR did not cause any decrease in bacterial growth. Compared to non-loaded modified films, diclofenac-loaded counterparts were less prone to bacteria adhesion (Table 1; $p < 0.01$). Drug-loaded SR-g-(NVCL-co-4VP) films with 60% graft caused more than 1 log decrease in bacteria adhesion (namely, 91% less adhered bacteria).

4. Conclusions

NVCL and 4VP can be simultaneously grafted onto SR films in one-step using an irradiation grafting method where gamma rays serve as the reaction initiator. Tuning absorbed dose and monomer concentration a variety of grafting percentages can be achieved. SR-g-(NVCL-co-4VP) films are more hydrophilic than SR films and show temperature and pH responsiveness. The new graft copolymer exhibits moderate thermal stability, with a decomposition temperature between 382 and 403 °C (10 wt% loss). Moreover, SR-g-(NVCL-co-4VP) films can host relevant amounts of diclofenac and release it in a controlled manner, diminishing bacterial adhesion.

Acknowledgements

The authors thank B. Leal, M. Cruz, M. L. Escamilla, and A. A. Ramírez from ICN-UNAM, and B. Magariños and B. Blanco-Fernandez from USC for technical assistance.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by DGAPA-UNAM [grant number IN200714] (México); MICINN [grant number SAF2014-52632-R] (Spain); FEDER; and the Ibero-American Program for Science, Technology and Development of CYTED ('Red iberoamericana de nuevos materiales para el diseño de sistemas avanzados de liberación de fármacos en enfermedades de alto impacto socio-económico' RIMADEL).

ORCID

Carmen Alvarez-Lorenzo  <http://orcid.org/0000-0002-8546-7085>
 Angel Concheiro  <http://orcid.org/0000-0003-0507-049X>
 Emilio Bucio  <http://orcid.org/0000-0003-4853-125X>

References

- [1] Wang Y, Burgess DJ. Drug-device combination products. In: Lewis A, editor. Drug-device combination products. Oxford: Woodhead Publishing Limited, CRC Press LLC; 2010. p. 3–28.
- [2] Couto DS, Perez-Breva L, Saraiva P, et al. Lessons from innovation in drug-device combination products. Adv. Drug Deliv. Rev. 2012;64:69–77.
- [3] Pavithra D, Doble M. Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants: issues and prevention. Biomed. Mater. 2008;3:034003.
- [4] Wu P, Grainger DW. Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis. Biomaterials. 2006;27:2450–2467.
- [5] Blanchemain N, Karrouit Y, Tabary N, et al. Comparative study of vascular prostheses coated with polycyclodextrins for controlled ciprofloxacin release. Carbohydr. Polym. 2012;90:1695–1703.
- [6] Alvarez-Lorenzo C, Bucio E, Burillo G, et al. Medical devices modified at the surface by g-ray grafting for drug loading and delivery. Expert Opin. Drug Delivery. 2010;7:173–185.
- [7] Chen WL, Habraken TCJ, Hennink WE, et al. Polymer-free drug-eluting stents: an overview of coating strategies and comparison with polymer-coated drug-eluting stents. Bioconjugate Chem. 2015;26:1277–1288.
- [8] Goddard JM, Hotchkiss JH. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. Prog. Polym. Sci. 2007;32:698–725.
- [9] Minko S. Grafting on solid surfaces: "Grafting to" and "grafting from" methods. In: Stamm M, editor. Polymer surfaces and interfaces. Leipzig: Springer; 2008. p. 215–234.
- [10] Ferraz CC, Varca GHC, Ruiz JC, et al. Radiation-grafting of thermo- and pH-responsive poly(N-vinylcaprolactam-co-acrylic acid) onto silicone rubber and polypropylene films for biomedical purposes. Radiat. Phys. Chem. 2014;97:298–303.
- [11] Ramírez-Jiménez A, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, et al. Temperature-responsiveness and biocompatibility of DEGMA/OEGMA radiation-grafted onto PP and LDPE films. Radiat. Phys. Chem. 2014;99:53–61.
- [12] Arruebo M, Vilaboa N, Santamaria J. Drug delivery from internally implanted biomedical devices used in traumatology and in orthopedic surgery. Expert Opin. Drug Delivery. 2010;7:589–603.
- [13] Neoha KG, Kang ET. Responsive surfaces for biomedical applications. MRS Bull. 2010;35:673–681.
- [14] Fernández-Quiroz D, González-Gómez A, Lizardi-Mendoza J, et al. Effect of the molecular architecture on the thermosensitive properties of chitosan-g-poly(N-vinylcaprolactam). Carbohydr. Polym. 2015;10:92–101.
- [15] Sjollemma J, Dijkstra RJ, Abeln C, et al. On-demand antimicrobial release from a temperature-sensitive polymer comparison with ad libitum release from central venous catheters. J. Controlled Release. 2014;188:61–66.

- [16] Dastidar SG, Ganguly K, Chaudhuri K, et al. The anti-bacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA synthesis. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2000;14:249–251.
- [17] Dutta NK, Annadurai S, Mazumdar K, et al. Potential management of resistant microbial infections with a novel non-antibiotic: the anti-inflammatory drug diclofenac sodium. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2007;30:242–249.
- [18] Kozanoğlu S, Özdemir T, Usanmaz A. Polymerization of N-vinylcaprolactam and characterization of Poly(N-vinylcaprolactam). *J. Macromol. Sci. Part A*. 2011;48:467–477.
- [19] Vihola H, Laukkanen A, Hirvonen J, et al. Binding and release of drugs into and from thermosensitive poly(N-vinyl caprolactam) nanoparticles. *Eur. Polym. J*. 2002;16:69–74.
- [20] Madhusudana Rao K, Mallikarjuna B, Krishna Rao KS, et al. Novel thermo/pH sensitive nanogels composed from poly(N-vinylcaprolactam) for controlled release of an anticancer drug. *Colloids Surf., B*. 2013;102:891–897.
- [21] Laukkanen A, Valtola L, Winnik FM, et al. Thermosensitive graft copolymers of an amphiphilic macromonomer and N-vinylcaprolactam: synthesis and solution properties in dilute aqueous solutions below and above the LCST. *Polymer*. 2005;46:7055–7065.
- [22] Magaña H, Palomino K, Cornejo-Bravo JM, et al. Radiation-grafting of acrylamide onto silicone rubber films for diclofenac delivery. *Radiat. Phys. Chem*. 2015;107:164–170.
- [23] Yang B, Wang C, Zhang Y, et al. A thermoresponsive poly(N-vinylcaprolactam-co-sulfobetaine methacrylate) zwitterionic hydrogel exhibiting switchable anti-biofouling and cytocompatibility. *Polym. Chem*. 2015;6:3431–3442.
- [24] Meléndez-Ortiz HI, Bucio E, Burillo G. Radiation-grafting of 4-vinylpyridine and N-isopropylacrylamide onto polypropylene to give novel pH and thermo-sensitive films. *Radiat. Phys. Chem*. 2009;78:1–7.
- [25] Schmaljohann D. Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev*. 2006;58:1655–1670.
- [26] Can A, Zhang Q, Rudolph T, et al. Schizophrenic thermoresponsive block copolymer micelles based on LCST and UCST behavior in ethanol–water mixtures. *Eur. Polym. J*. 2015;69:460–471.
- [27] Bucio E, Burillo G. Radiation grafting of pH and thermosensitive N-isopropylacrylamide and acrylic acid onto PTFE films by two-steps process. *Radiat. Phys. Chem*. 2007;76:1724–1727.
- [28] Tanaka N, Bohnenberger S, Kunkelmann T, et al. Prevalidation study of the BALB/c 3T3 cell transformation assay for assessment of carcinogenic potential of chemicals. *Mutat. Res-Fund. Mol. M*. 2012;744:20–29.
- [29] Sasaki K, Bohnenberger S, Hayashi K, et al. Recommended protocol for the BALB/c 3T3 cell transformation assay. *Mutat. Res-Fund. Mol. M*. 2012;744:30–35.
- [30] Contreras-García A, Alvarez-Lorenzo C, Taboada C, et al. Stimuli-responsive networks grafted onto polypropylene for the sustained delivery of NSAIDs. *Acta Biomater*. 2011;7:996–1008.
- [31] Melendez-Ortiz HI, Díaz-Rodríguez P, Alvarez-Lorenzo C, et al. Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug–device combo products. *J. Pharm. Sci*. 2014;103:1269–1277.
- [32] Islas L, Alvarez-Lorenzo C, Magariños B, et al. Singly and binary grafted poly(vinyl chloride) urinary catheters that elute ciprofloxacin and prevent bacteria adhesion. *Int. J. Pharm*. 2015;488:20–28.
- [33] Cai D, Neyer A, Kuckuk R, et al. Raman, mid-infrared near-infrared and ultraviolet–visible spectroscopy of PDMS silicone rubber for characterization of polymer optical waveguide materials. *J. Mol. Struct*. 2010;976:274–281.
- [34] Maxwell RS, Cohenour R, Sung W, et al. The effects of γ -radiation on the thermal, mechanical, and segmental dynamics of a silica filled, room temperature vulcanized polysiloxane rubber. *Polym. Degrad. Stab*. 2003;80:443–450.
- [35] Zhang L, Xu Z, Wei Q, et al. Effect of 200 keV proton irradiation on the properties of methyl silicone rubber. *Radiat. Phys. Chem*. 2006;75:350–355.
- [36] Beija M, Marty J, Destarac M. Thermoresponsive poly(N-vinyl caprolactam)-coated gold nanoparticles: sharp reversible response and easy tenability. *Chem. Commun*. 2011;47:2826–2828.
- [37] Pietsch C, Hoogenboom R, Schubert US. PMMA based soluble polymeric temperature sensors based on UCST transition and solvatochromic dyes. *Polym. Chem*. 2010;1:1005–1008.
- [38] Zhang Q, Hoogenboom R. Polymers with upper critical solution temperature behavior in alcohol/water solvent mixtures. *Prog. Polym. Sci*. 2015;48:122–142.
- [39] Nava-Ortiz CAB, Alvarez-Lorenzo C, Bucio E, et al. Cyclodextrin-functionalized polyethylene and polypropylene as biocompatible materials for diclofenac delivery. *Int. J. Pharm*. 2009;382:183–191.

Radiation Grafting for the Functionalization and Development of Smart Polymeric Materials

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

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

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

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

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

✉ Emilio Bucio
ebucio@nucleares.unam.mx

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

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

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

1 Introduction

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

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

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

2 Grafting Techniques

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

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

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

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

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

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

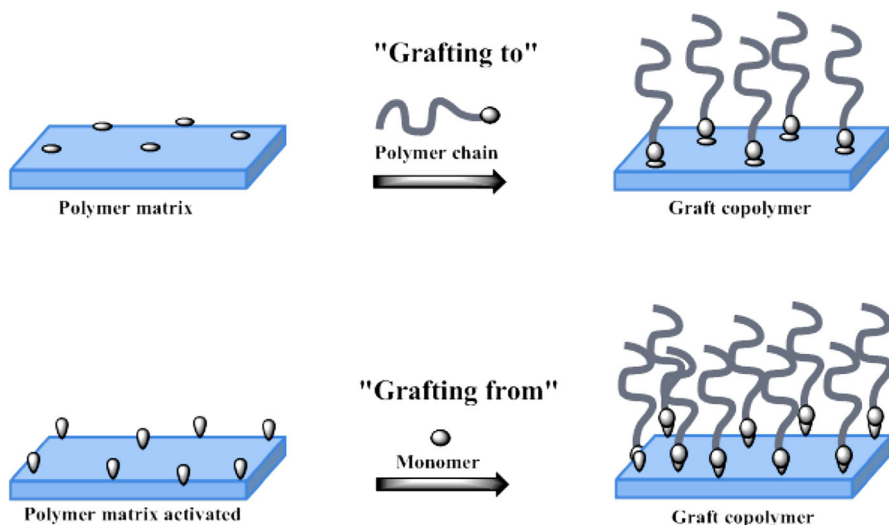


Fig. 1 Synthesis of polymer brushes using “grafting to” and “grafting from” approaches

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

3 Radiation-Induced Grafting

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

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

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

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

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

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

3.1 Methods of Synthesis

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

3.1.1 Direct Radiation Grafting Method

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

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

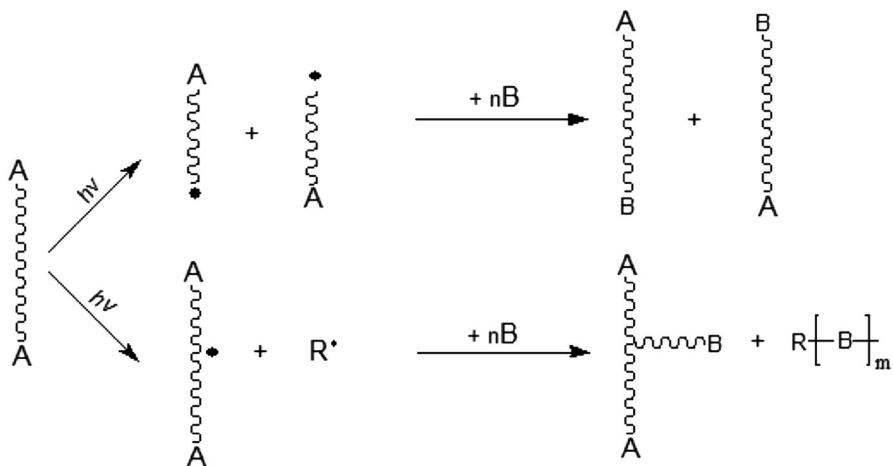


Fig. 2 Grafting by γ -irradiation applying a direct method

3.1.2 Pre-Irradiation Grafting Method

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

3.1.3 Pre-Irradiation Oxidative Grafting Method

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

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

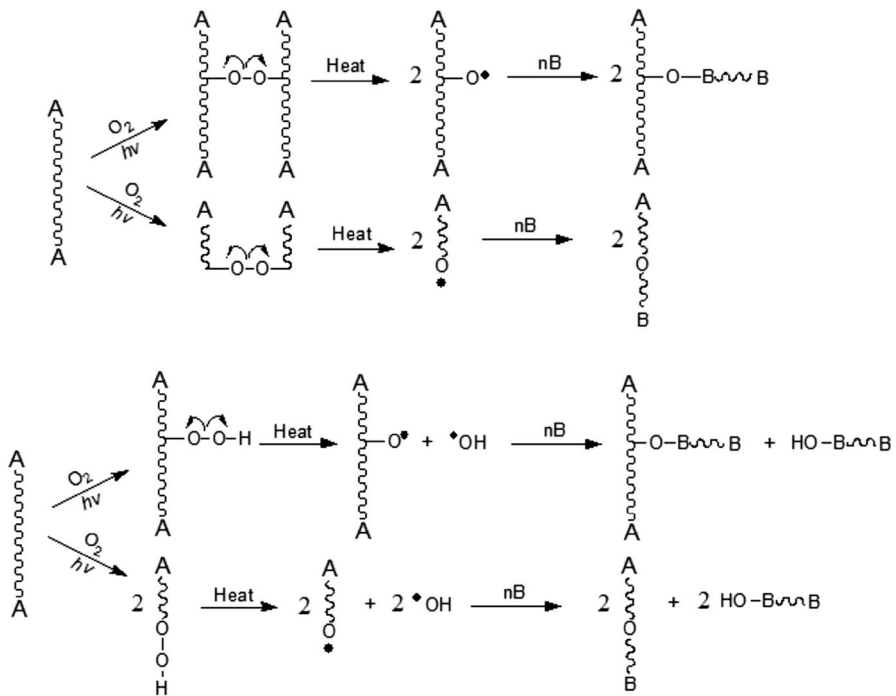


Fig. 3 Grafting by γ -irradiation applying a pre-irradiation method

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

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

3.2 Modifying Properties by Grafting

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

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

3.3 Grafting Quantification and Characterization Techniques

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

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

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

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

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

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

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

4 Smart Polymers

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

4.1 Smart Polymeric Materials Obtained by Ionizing Radiation

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

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

4.1.1 Temperature-Responsive Polymers

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

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

4.1.2 pH-Responsive Polymers

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

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

5 Applications

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

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

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

5.1 Surface Modification Polymers for Medical Purposes

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

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

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

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

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

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

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

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

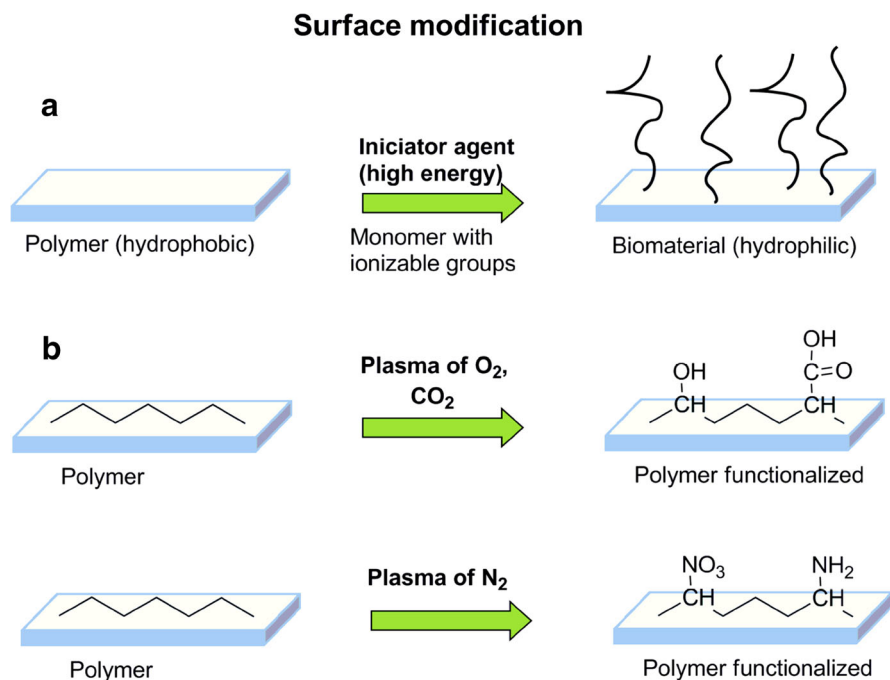


Fig. 4 Surface modification of polymers using ionizing radiation: gamma rays, UV, and electrons (a). Functionalization using plasma with different agents (b)

Table 1 Surface modification of polymer materials

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

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

Infections catheter-associated

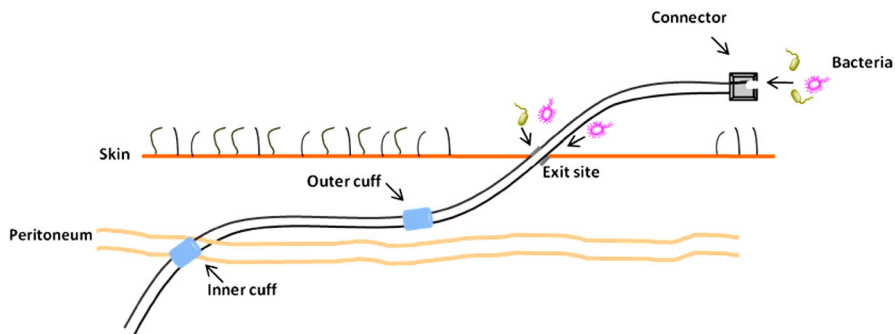


Fig. 5 Infection sites in an implanted urinary catheter. Bacteria can gain access to the peritoneal cavity either by contaminating the connector and the catheter lumen, or by migration from the skin exit site down the catheter track through the tissue

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

5.1.1 Catheters

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

5.1.2 Coating with Shape-Memory Polymers

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

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

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

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

5.1.3 Graft Sutures

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

Table 2 Biomedical-related surface properties with corresponding measuring methods

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

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

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

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

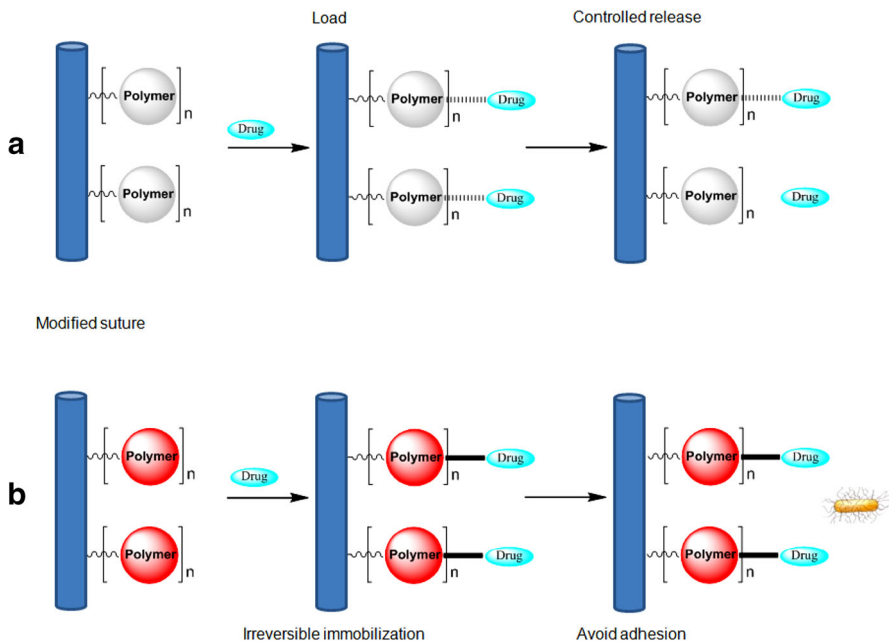


Fig. 6 Electrostatic load-release (a) and covalent immobilization (b) of drugs on modified sutures

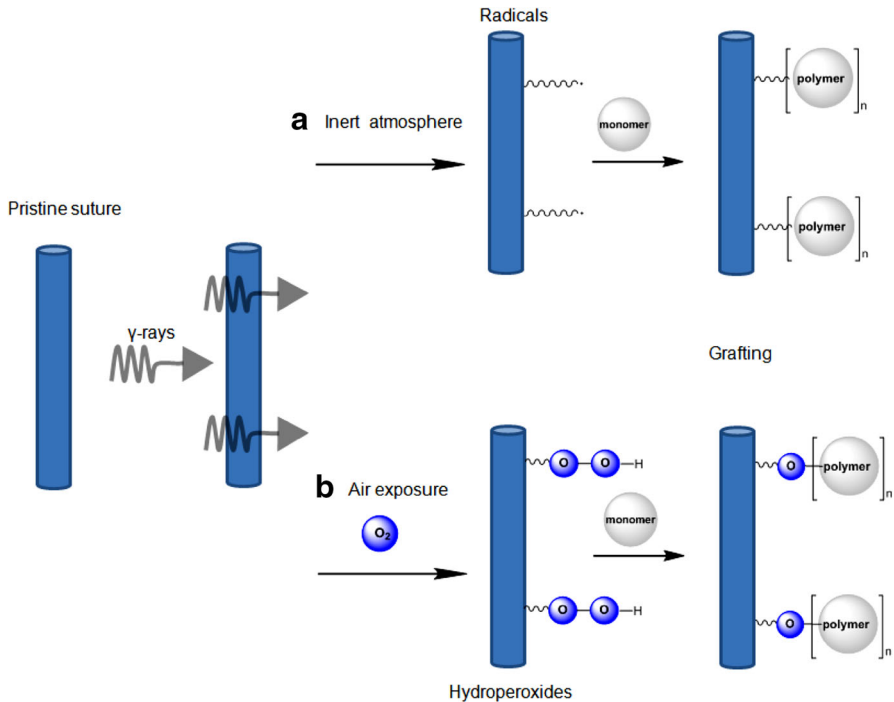


Fig. 7 Suture γ -radiation grafting: **a** direct irradiation and **b** pre-irradiation grafting method

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

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

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

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

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

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

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

5.2 Biosensors

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

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

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

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

Table 3 Types of sensors (interface)

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

Table 4 General classification of sensors (biomedical application)

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

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

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

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

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

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

5.3 Grafting Polymer Matrixes for Cell and Tissue Cultivation

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

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

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

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

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

6 Conclusions and Remarks

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

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

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

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

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

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

References

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

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

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

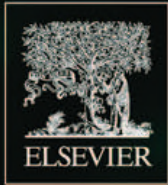
51. Bignotti F, Penco M, Sartore L, Peroni I, Mendichi R, Casolaro M, D'Amore A (2000) Synthesis, characterization and solution behavior of thermo- and pH-responsive polymers bearing L-leucine residues in the side chains. *Polymer* 41:8247–8256. doi:[10.1016/S0032-3861\(00\)00177-4](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00177-4)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

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

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

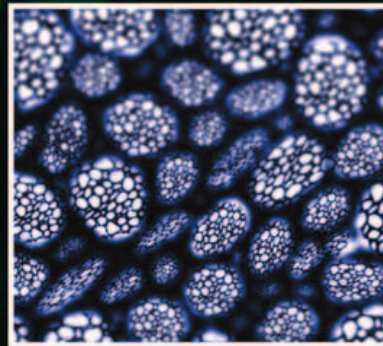
116. Ouyang J, Chu C, Chen F, Xu Q, Yang Y (2005) High conductivity poly(3,4-ethylenedioxythiophene): poly(styrene sulfonate) film and its application in polymer optoelectronic devices. *Adv Funct Mater* 15:203–208. doi:[10.1002/adfm.200400016](https://doi.org/10.1002/adfm.200400016)
117. Balint R, Cassidy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

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



ADVANCES IN POLYMERS AND FIBERS

BIOPOLYMER GRAFTING APPLICATIONS



EDITED BY
VIJAY KUMAR THAKUR

1.7 Grafting: A Promising Technique for Modification.....	159
1.8 Methods of Graft Copolymerization.....	161
1.9 Microwave Radiation: A Viable Case.....	168
1.10 The Present Study: Microwave-Assisted Method of Graft Copolymerization.....	169
1.11 Adhesive	169
1.12 Theories of Adhesion	169
2. Experimental.....	173
2.1 Materials	173
2.2 Synthesis of GT-g-PAM by Microwave-Assisted Process	173
2.3 Characterization	175
2.4 Instrumental Analysis	176
2.5 Fourier Transform Infrared Spectrophotometry	177
2.6 Investigation of Adhesive Property of Graft Copolymer	182
3. Results and Discussions	186
3.1 Synthesis of GT-g-PAM by Microwave-Assisted Process	186
3.2 Characterization	190
3.3 Instrumental Analysis	191
3.4 Determination of Adhesive Strength	193
4. Conclusion	198
Acknowledgments	198
References	199

**CHAPTER 6 Radiation Grafting of Biopolymers and Synthetic Polymers:
Synthesis and Biomedical Applications 205**

Victor H. Pino-Ramos, H. Iván Meléndez-Ortiz, Alejandro Ramos-Ballesteros, Emilio Bucio	
1. Introduction.....	205
2. Biopolymers.....	206
2.1 Natural Biopolymers.....	206
2.2 Synthetic Biopolymers.....	210
3. Properties of Biopolymers	212
3.1 Density	213
3.2 Solubility	213
3.3 Mechanical Properties.....	214
3.4 Thermal Properties.....	215
3.5 Biodegradability.....	217
3.6 Properties of Main Petroleum-Based Biopolymers	218
4. Grafting Methods Applied to Biopolymers.....	221
4.1 Conventional Method by Chemical Means	222

4.2	Microwave Method.....	222
4.3	High Energy Radiation Methods.....	224
5.	Radiation Grafting of Biopolymers.....	224
5.1	Radiation Grafting of Chitosan.....	226
5.2	Radiation Grafting of Cellulose.....	228
5.3	Radiation Grafting of Alginate.....	231
5.4	Radiation Grafting of Gelatin.....	232
6.	Biomedical Applications.....	232
6.1	Polymers in Biomedical Uses.....	233
6.2	Application of Stimuli Responsive Polymers.....	234
7.	Potential Medical Devices.....	237
7.1	Lysozyme Immobilization Onto PVC Urinary Catheters.....	237
7.2	Functionalized Prodrug Onto Polypropylene Films for Drug Delivery of Salicylic Acid.....	237
7.3	IPNs Grafted of N-isopropylacrylamide and Acrylic Acid Onto Polyurethane Catheters for Medical Devices.....	238
8.	Conclusions.....	238
	Acknowledgments.....	239
	References.....	239
CHAPTER 7	Derivatized Chitosan: Fundamentals to Applications.....	251
	Deepali Rahangdale, Anupama Kumar	
1.	Introduction.....	251
2.	Modification of Chitosan.....	254
2.1	Physical Modification.....	254
2.2	Chemical Modification.....	256
3.	Density Functional Theory.....	267
4.	Molecular Imprinting Technique.....	269
5.	Applications.....	270
5.1	Dye Removal.....	270
5.2	Antibacterial Activity.....	271
5.3	Metal Ion Removal.....	273
5.4	Wastewater Treatment.....	275
5.5	Biomedical Applications.....	277
6.	Conclusion.....	277
	References.....	278

Radiation Grafting of Biopolymers and Synthetic Polymers: Synthesis and Biomedical Applications

Victor H. Pino-Ramos¹, H. Iván Meléndez-Ortiz², Alejandro Ramos-Ballesteros¹ and Emilio Bucio¹

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CDMX, Mexico; ²CONACyT—Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo, Mexico

1. INTRODUCTION

Initially, the term “biopolymer” was used to define polymeric macromolecules of high molecular weight formed by hundreds or thousands of repeated subunits, which are covalently bonded and produced by living organisms. Inside this definition, there are three varieties of biopolymers that can be cataloged in families: polynucleotides (RNA and DNA), polysaccharides (starch and chitin), and proteins (fibroin, globulin, etc.). However, now the term “biopolymer” is used for materials evolved from biological sources (biodegradable) (Thakur et al., 2016), such as microorganisms, plants or trees (biobased), and for biocompatible synthetic polymers obtained by chemical methods (nonbiodegradable or biodegradable), for instance, the poly(lactic acid) (PLA) (Huang et al., 2013a) and poly(glycolic acid). So there is not an exact definition of biopolymers because some authors focus on the biodegradability of polymers and others on the origin of the polymeric material. Although the term biopolymer is used for biobased and for biodegradable polymers, they have very different meanings, and in most cases, they have different applications. Biobased polymers are natural biomacromolecules synthesized through biological process (Kaplan, 1998) such as polysaccharides (chitin, cellulose, etc.). On the other hand, a biodegradable polymer is a material susceptible to degradation for biological factors, such as microorganisms or by environmental actions, as they are the final products of the process of carbon dioxide and water; however, it does not mean that the material has strictly a biological origin because there are also biodegradable polymers that are petroleum-based, for example, poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and poly(butylene succinate) (PBS). The

interest in characteristics and properties of biopolymers has been increasing due to biocompatibility with the human body (Nava-Ortíz et al., 2009; Jiang and Zhang, 2013).

Some authors also classify the polymers used in the health sciences field as biopolymers (or biomedical polymers), but in this case, they are called “biopolymers” because they are in direct contact with biological systems. Both natural and synthetic polymers are included in this definition (Van de Velde and Kiekens, 2002). It is important to mention that most of the biomedical polymers are from fossil fuel sources, and they have many applications in medicine, such as medical device coating and drug delivery systems, and are in high demand due to their compatibility with living tissue (biocompatibility). The biopolymers can be classified based on their origin and biodegradability (Table 6.1). In this chapter, we will discuss the modification of natural and synthetic biopolymers obtained from both renewable and petroleum sources by applying radiation graft copolymerization techniques. Also, we will describe their potential biomedical applications.

2. BIOPOLYMERS

Natural polymers frequently have a well-defined structure and adopt specific 3-D shapes; this factor in specific makes them biologically active. For instance, hemoglobin would not be able to transport oxygen in the blood if it was not bent in quaternary structure (Mohan et al., 2016). The importance of natural products for biomedical applications has become extremely clear with increasing emphasis on their potential applications in the biomedical field. Biopolymers of both natural and synthetic origin have been intensively studied for their possible use as drug delivery systems and engineering tissue. The main difference between biopolymers from natural sources and petroleum-based ones is in their sustainability. Another property that distinguishes the natural polymers is their complex molecular assemblies compared with the simpler structure of synthetic polymers.

2.1 Natural Biopolymers

Natural polymers can be classified into three great groups: polysaccharides, which are composed of glucosidic compounds (e.g., cellulose, found in plants); proteins, which are constituted of amino acids (e.g., myoglobin found in muscle tissues); and nucleic acids (RNA, DNA, genetic material of any living organism). Natural polymers are produced by plants or microorganisms and therefore are widely distributed in nature. Many natural biopolymers are recognized by biological environments and can be eliminated from the body by metabolic degradation. Also, natural polymers may avoid

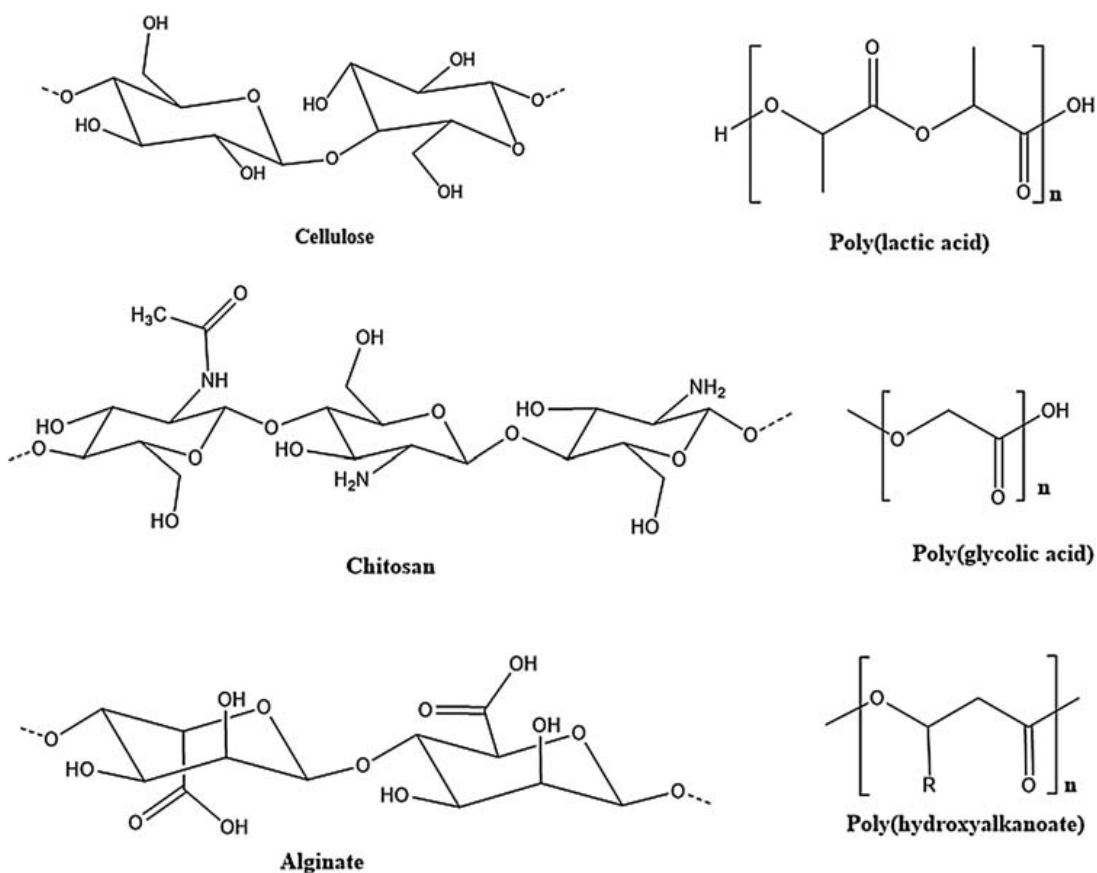
Table 6.1 Classification of Biopolymers

		Biodegradable		Nonbiodegradable
Plants	Biobased		Fossil-Based	Biobased
	Microorganisms	Animals		
Cellulose and its derivatives (polysaccharides)	PHAs, (e.g., P3HB, P4HB, PHBHV)	Chitin (polysaccharides)	Poly(alkylene dicarboxylate)s (e.g., PBA, PBS, PBSA, PEA)	Poly(ethylene) (LDPE, HDPE), PP, PVC
Lignin	PHF	Chitosan (polysaccharides)	PGA	PET, PPT
Starch and its derivatives	Bacterial cellulose	Hyaluronan (polysaccharides)	PCL	PU
Alginates	Hyaluronan (polysaccharide)	Casein (protein)	PVOH	PC
Lipids	Xanthan (polysaccharides)	Whey (protein)	POE	Poly(ether-ester)s
Wheat, corn, potato, soy, pea (protein)	Curdlan (polysaccharides)	Collagen (protein)	Polyanhydrides	Polyamides (e.g., PA 11, PA 410, PA 610)
Gums (e.g., cis-1, 4-polyisoprene)	Pullulan (polysaccharides)	Albumin (protein)	PPHOS	Polyester amides
Carrageenan	Silk (protein)	Keratin (protein)		Unsaturated polyesters
PLA (from starch or sugar cane)		Leather (protein)		Epoxy
				Phenolic resins

HDPE and LDPE, high density and low density polyethylene, respectively; P3HB, poly(3-hydroxybutyrate); P4HB, poly(4-hydroxybutyrate); PBA, poly(butylene adipate); PBS, poly(butylene succinate); PBSA, poly(butylene succinate-co-adipate); PC, polycarbonate; PCL, poly(ϵ -caprolactone); PE, poly(ethylene); PEA, poly(ethylene adipate); PET, poly(ethylene terephthalate); PGA, poly(glycolic acid); PHBHV, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate); PLA, poly(lactic acid); POE, poly(ortho ester); PP, polypropylene; PPHOS, polyphosphazenes PVC poly(vinyl chloride); PVOH, poly(vinyl alcohol); PU, polyurethane.
 Reproduced from Niaounakis, M., 2015a. *Biopolymers: Processing and Products*, first ed. Elsevier Inc., USA, ISBN:978032326698.

the stimulation of the immunological system so, they can be used for biomedical applications with even less risks than synthetic polymers. For these reasons, many biopolymers have been intensively studied; actually, many of them have been already used in pharmaceuticals for human as excipients (Karolewicz, 2015), prosthetic parts, imaging applications, and also as drug delivery systems. However, natural polymers have inherent flexibility and poor mechanical properties. In order to overcome these problems, have emerged methods to reinforce their structures in order to take advantage their biocompatibility knowing that there is a great need to develop high-performance materials made from natural sources (Yu et al., 2006). Methods such as blending, grafting, and cross-linking, are some of the techniques used to reach the objective. Biopolymers from renewable sources have attracted attention due to discovering their various biological activities; many of them have been used in various pharmaceutical formulations.

Some examples of the most investigated natural biopolymers (Fig. 6.1) are described below.



■ FIGURE 6.1 Examples of natural polymers.

Cellulose (poly-1,4- β -glucopyranose) is without a doubt the most plentiful biopolymer on earth and is the main component of plants (Kabanov et al., 2009). Cellulose and its derivatives have potential for many applications in biomedicine. Its structure consists in a chain of D-anhydroglucopyranose units bonded by glycosidic β -(1–4) linkages (John and Thomas, 2008). Cellulose is insoluble in common organic solvents due to the OH polar groups, which establish a lot of hydrogen bonds with hydroxyl groups (OH) on contiguous chains. Therefore a chemical modification is necessary to obtain soluble ether, ester, or acetal derivatives and so exploit its properties in the biomedical field. Cellulose and its derivatives have been used in nanofibrils form (Gandini, 2008) because they are biodegradable and can be used for medical purposes. Carboxymethylcellulose (CMC) is the major cellulose ester used in several drug delivery and tissue engineering purposes (Thomas et al., 2016); for example, apomorphine (a drug used to regulate motor responses in Parkinson's disease) has been incorporated into CMC powder for a formulation exhibiting a sustained release.

Chitosan is a polysaccharide commercially available obtained from the hydrolysis of chitin. It is soluble in acidic aqueous media and is composed predominantly by α -(1–4)-linked 2-amino-2-deoxy- β -D-glucopyranose. This biopolymer can be used in solutions, hydrogels, and macro/nanoparticles, and therefore chitosan is under intensive investigation for a broad variety of biomedical applications such as drug carriers, gene delivery, biofibers and biocomposites (Faruk et al., 2012), wound healing, tissue engineering, vaccine delivery (Koppolu et al., 2014), and cosmetic products (Muzzarelli and Muzarelli, 2005). Chitosan has a cationic nature due to the presence of amino groups in its structure, which are easily protonated in acidic media. This property leads the interaction with negative small molecules and biological systems. Chitosan is also known to have antibacterial properties that are attributed to the attack of negatively charged groups on the cell wall by positively charged chitosan polymers (Aravamudhan et al., 2014). This results in cell membrane rupture, leakage of intercellular material, and eventually leads to cell death. Much effort has been made trying to combine the interesting properties of chitosan with some synthetic polymers by physical and chemical methods in order to obtain hybrid polymeric materials with tailored properties for its possible use in biomedicine (Mas Haris, 2013).

Alginates are polysaccharides produced by a wide variety of brown seaweeds (*Lamaria* sp., *Macrocystis* sp., *Lessonia* sp., etc.) and can be synthesized by some bacteria. Most of the alginates used on a large scale are extracted from natural sources such as seaweeds. The most interesting property of alginate is its ability to gel in the presence of cations such as Ca^{2+} and

Ba²⁺ (Mignon et al., 2016). Alginates present enzymatic degradation in the body, which represents an advantage or disadvantage depending on the purpose of its application. To avoid their degradation, alginates are frequently combined with other polymers to enhance their mechanical properties. The high hydrophilicity of alginates renders the material biocompatible and nonimmunogenic; therefore it is widely used in the pharmaceutical industry as a drug excipient, like dental impression material, and as a material for wound dressing (Aravamudhan et al., 2014).

The poly(3-hydroxyalkanoates) (PHA) is an important polymer family that has gained significant attention. The (PHA)s are an array of linear and biodegradable polyesters (Shah et al., 2008) that are produced by many species of microorganisms through the fermentation of sugars and lipids, among other organic compounds, although they also can be obtained by the ring opening process of β -lactones. These biopolymers are susceptible to degradation in living systems, nontoxic, and biocompatible with the human body; therefore they are particularly studied for drug releasing in medicine as biodegradable matrix, surgical swabs (Yu et al., 2006), wound dressing, and blood-compatible membranes, etc. Poly(lactic acid) is a class of linear aliphatic polyester whose origin is from renewable sources (fermentation of lactic acid). Also, it can be obtained by polycondensation of lactic acid or by ring opening polymerization of lactide. It is considered a biodegradable and compostable polymer (Lucas et al., 2008), and it can be used to manufacture bioabsorbable medical devices (Shishatskaya, 2004).

2.2 Synthetic Biopolymers

In many applications, the petroleum-based biopolymers have been demonstrated as better than the natural ones in many aspects such as stability, composition, mechanical properties, and resistance to degradation (Abbasi et al., 2001). Generally, synthetic biopolymers are hydrolytically more stable than natural biopolymers, and therefore are extensively studied, especially if they are biocompatible and/or biodegradable. Some examples of synthetic polymers showing biodegradability are the aliphatic poly(ester)s, poly(glycolic acid) (PGA), PLA, and poly(ϵ -caprolactone) (Lucas et al., 2008). The synthetic biopolymers can be mixed with natural ones to enhance the biodegradability, or its biocompatibility (Steele et al., 2011).

Poly(glycolic acids) are an array of linear poly(ester) characterized by their high crystallinity and biocompatibility with human tissue. They are commonly synthesized via ring opening polymerization of glycolide. They are frequently used for medical device manufacturing, sutures, bioimplants, drug carriers, bones fixation parts, and scaffolds for tissue

engineering (Mohaček-Grošev et al., 2015). On the other hand, poly(ϵ -caprolactone) (PCL) is a fossil fuel-based aliphatic polyester, synthesized by ring-opening polymerization of (ϵ -caprolactone) in the presence of organic metal complexes as catalysts. PCL is a polymer that shows a semicrystalline structure with good flexibility, biocompatibility, and biodegradability; therefore it is commonly used for preparing scaffolds due to its ability to support a variety of cells (Steele et al., 2011). Besides, PCL does not show cell adhesion and proliferation; first, because it has poor surface wetting and second, due to its poor interaction with biological fluids (Mohan et al., 2016). The importance of this polymer lies in its biodegradability in physiological conditions due to the ester linkages that are susceptible to hydrolysis mainly in basic conditions (Shimao, 2001; Ramírez et al., 2013). This characteristic makes the PCL very useful for the manufacturing of biomedical devices. Since its degradation rate is lower than of polylactide, it is a serious candidate to be used in the manufacture of long-term implantable biomaterials.

Poly(ethylene glycols) (PEG) are highly biocompatible polymers with high solubility in both aqueous and organic solvents, which contributes to its biocompatibility and processability, respectively. Due to their low toxicity and nonimmunogenicity, poly(ethylene glycols) are considered in the category of biopolymers and therefore represent an interesting choice for the surface modification of polymeric materials (Steele et al., 2011), particles, and micelles for active molecule transport.

Poly(urethane)s (produced by diisocyanate polyaddition process) are highly versatile biomaterials with several applications by virtue of their processability and hemocompatibility (Xie et al., 2009). Consequently, they have become an interesting choice for long-term implantation applications, including cardiovascular devices and breast implants. Poly(urethane)s are synthetic biomaterials, and they present biodegradability and biocompatibility in the human body; therefore, they are used in the fabrication of bioresorbable materials (Santerre et al., 2005). Poly(ethylene), poly(propylene), poly(tetrafluoroethylene), poly(vinylchloride), poly(styrene), silicone rubber, etc., are synthetic polymers and they are nonbiodegradable (Satyanarayana et al., 2009; Shah et al., 2008); however, they are widely used in the biomedical field due to the necessity to manufacture medical devices with good mechanical properties and low cost (Yu et al., 2006). This kind of polymer has a hydrophobic surface, which is susceptible to microbial adhesion, and therefore much effort is being made to overcome this problem. To improve their biocompatibility, they are modified and/or functionalized with chemical compounds that have hydrophilic functional groups. Poly(carboxylic acids), poly(acrylamides) (Contreras-García et al., 2008), poly(N-alkyl aminoethyl methacrylate's) poly(ethylene glycols), poly(esters), etc., are some examples

of polymers that have been used to improve the hydrophilicity of a hydrophobic material.

Polyelectrolytes have weak acids or basic groups in their structure, which can accept or donate protons in aqueous media depending on pH (Aguilar et al., 2007). The affinity of these hydrophilic groups gives biocompatibility to polymeric backbone. Poly(acrylic acid) and poly(methacrylic acid) are some examples of polyelectrolytes that have been intensively studied to synthesize hydrogels (Jagur-Grodzinski, 2010), nanoparticles, micelles, graft copolymers, copolymers, etc. They have many applications in the biomedical field as gene and drug delivery systems, and as glucose sensors.

Polymers derived from N-alkyl acrylamides and N-alkyl acrylates are polymeric compounds able to establish hydrogen bonds with water molecules. Due to their hydrophilic behavior, they are considered biocompatible (Boyko et al., 2003) and can be considered suitable for their use in biomedicine. Some examples of the most studied N-alkyl acrylamides are poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) (Bromberg and Ron, 1998), N-vinylcaprolactam (NVCL), poly(N-(L)-(1-hydroxymethyl)propylmethacrylamide), poly(dimethylaminoethyl methacrylate), poly(methyl methacrylate), poly(ethyl methacrylate), etc. These polymers can be used as implantation of artificial organs and tissues, coating drugs (Priya James et al., 2014), prodrugs, purification of enzymes (Kozanoğlu et al., 2011), proteins, and many other pharmaceutical applications.

3. PROPERTIES OF BIOPOLYMERS

Biopolymer properties are determined, as any other substance or compound, by its chemical composition, structure, and processing. Biopolymers and their derivatives are diverse, abundant, and important for life. They exhibit fascinating properties and are of increasing importance for different applications. The idea of using polymers “manufactured” by living organisms is based on the premise that something produced by nature is nontoxic; therefore it is harmless to the environment, and the ecosystem can “manage” those compounds and provide the required conditions for subsequent degradation and integration.

The characteristics of biopolymers are very varied and in some cases dissimilar, but two of them that must be present in a mandatory way are biocompatibility and biodegradability. As far as physical properties are concerned, it is desirable that the biomaterials can be manufactured in different physical forms, sizes, and flexibility, all depending on the final application. In some applications, it is required or desired to promote cell growth

Table 6.2 Densities of Main Biopolymers and Nonbiodegradable Polymers

Biopolymer		Nonbiodegradable Polymers	
Polymer	Density (g/cm ³)	Polymer	Density (g/cm ³)
P3HB	1.177–1.260	ABS	1.040–1.120
PHBHV	1.25	Nylon 6	1.130–1.140
PLA	1.210–1.250	PP	<1.0
PLLA	1.250–1.290	GPPS	1
PDLA	1.250–1.270	HIPS	1.040–1.070
scPLA	1.210–1.342	HDPE	0.941–0.970
PGA	1.500–1.690	UHMWPE	0.930–0.935
PCL	1.060–1.130	PC/ABS	1.120–1.150
PBS	1.26	PET	>1.2

(scaffolds) or otherwise inhibit cell or protein adhesion that might cause several complications. For these cases, biomaterials can be modified by means of various grafting techniques, incorporating certain chemical functional groups on the surface to endow them of suitable characteristics for their adequate performance in the medicine sector (Francis et al., 2013; Gunatillake and Adhikari, 2003).

3.1 Density

Most biopolymers have higher densities than synthetic analogs derived from fossil fuels. The density will be determined by the crystallinity of the polymer, structure, functional groups, and thermal history. This is because they are commonly hydrophilic materials, and their polymer chains present intramolecular interactions through hydrogen bonds, causing more compact molecular arrangements. Poly(lactic acid), which is the most widely used biodegradable polymer, has an average density of about 1.250 g/cm³, which is much higher than polyolefins (0.880–0.970 g/cm³) (Niaounakis, 2015b). Table 6.2 shows densities of the most used biopolymers compared to some of the main petroleum-based polymers. Density is one of the reasons why biopolymers are suitable for the development of implants and prosthesis.

3.2 Solubility

The solubility of a biopolymer is determined by its morphology (polarity, presence or absence of crystallinity, etc.) and composition. Generally, biopolymers with high crystallinity are more difficult to dissolve than those

with low crystallinity. Furthermore, the thermal history of the biopolymer may also affect solubility significantly (Niaounakis, 2015b). Amorphous PLA (which is one of the most widely used polymers for the development of biomaterials) is soluble in many organic solvents such as chlorinated hydrocarbons, benzene, tetrahydrofuran, and dioxane. On the other hand, crystalline PLA is soluble in chlorinated hydrocarbons and benzene but at elevated temperatures. This is a clear example that the more crystalline they are, the lower solubility is. The solubility parameter of biopolymers can be tuned by acetylation. Alternatively, a solvent's solubility parameter can be changed by adjusting the solubility parameter of a neat or mixed solvent. The smaller the difference between the solubility parameters of the polymer and the solvent, the better the solubility is (He et al., 2013).

PLA is almost insoluble in carbon dioxide, even at high pressures of 80 MPa or higher, and at temperatures of 190°C (Sin et al., 2013). In addition, depending on the manufacturing process the solubility is affected. For instance, the properties of the stereocomplex PLA (scPLA) vary significantly to those of the PLA. The scPLA is hardly soluble in most types of solvents (one of its best characteristics). Another example of a biomaterial is PGA, which, due to its high degree of crystallization (45%–55%), is not soluble in most organic solvents. Exceptions are highly fluorinated organic compounds such as hexafluoroisopropanol. The solubility of PHA homopolymers is in general very low. These aliphatic polyesters are totally insoluble in water and in most organic solvents, which appear to be poor solvents, with the exception of some halogenated solvents such as chloroform (trichloromethane), methylene chloride (dichloromethane), and ethylene dichloride (1,2-dichloroethane) (Niaounakis, 2015b).

The solubility of PHA copolymers depends on the type and relative amounts of the constituent monomers, allowing the choice of a wide range of solvents. Copolymers of 3-hydroxybutyric acid and other hydroxyacid comonomers have significantly different solubility characteristics from those of P3HB; for example, acetone is not a good solvent for P3HB, but is very useful for dissolving copolymers of 3-hydroxybutyric acid and 3-hydroxyacids containing 6–12 carbon atoms (Abe et al., 1994).

3.3 Mechanical Properties

The term “mechanical properties” is commonly used to denote the stress–strain relationship for polymeric systems. Unlike many other common materials, where these relationships depend essentially on temperature, time dependence in polymeric systems is an important factor. In order to evaluate the dependence of the mechanical properties over time, oscillatory

perturbations can be used, which is done when the dynamic mechanical properties are investigated or by the measurement of the dielectric relaxation in the polymers (Aklonis, 1981).

The mechanical properties of biomaterials could be tailor-made in agreement with the required applications. In some cases, materials exhibiting limited elasticity but resistance to impact (implants) are needed, while for others flexibility is required (membranes). The mechanical properties of PLA depend on its optical purity and molecular weight. A higher molecular weight raises tensile strength and elastic modulus and lowers the elongation at break. Commonly used PLA (D-lactic acid content of about 5%) is a brittle material and has little elongation at break (about 6% up to 11%), Young's modulus of 900–1300 MPa, and tensile strength of 61–73 MPa (Garlotta, 2001). PLA has similar mechanical properties to poly(ethylene terephthalate) (PET), but has a significantly lower maximum continuous use temperature (Niaounakis, 2015b). PHA polymers composed of short chain length monomers (containing three to five carbon atoms), such as P3HB and PHBV, have little elongation, are brittle, and tear easily under mechanical constraint. PHBV is less brittle and tougher than P3HB. With increasing monomer chain length, the material gets more flexible. PHAs with longer side chains have characteristics like waxes. The elongation at break of P3HB and PHBV is in the range of 4%–42%, whereas the same property for P4HB is about 1000%. Similarly, the values of Young's modulus and tensile strength for P3HB and PHBV are 3.5–0.5 GPa and 40–16 MPa, respectively (for increasing HV content to 25 mol %), compared to 149 MPa and 104 MPa, respectively, for P4HB (Saito and Doi, 1994). The physical and mechanical properties (except for elongation at break) of P3HB are remarkable due to those of polypropylene, even though the two polymers have quite different chemical structures. P4HB is ductile and does not exhibit brittle fracture characteristics, while its tensile strength is comparable to that of polyethylene. The mechanical properties of P4HB also compare well with those of poly(trimethylene carbonate). Clearly, it can be seen that excellent alternatives exist on the biomaterial field instead of polymers with very low biodegradability capacities.

3.4 Thermal Properties

The crystallinity of a polymer affects several other properties such as melt viscosity, modulus, tensile strength, transparency, and heat resistance (Niaounakis, 2015b). The amorphous polymers undergo a substantial change in their properties in function of temperature (Table 6.3). Like polymers, biopolymers have various types of inter- and intramolecular interactions. The interactions that are generated between polymer chains (either different

Table 6.3 Transition Temperatures (T_g , T_m) of Most Used Biopolymers

Biopolymer	T_g (°C)	T_m (°C)	Commercial Products	Manufacturer
PLA			Ingeo	NatureWorks
	55.0–60.0	—	10361D	
	55.0–60.0	—	8052D	
	55.0–60.0	145–160	7001D	
	55.0–60.0	155–170	7032D	
	55.0–60.0	145–160	6350D	
	55.0–60.0	125–135	6302D	
	55.0–60.0	165–170	6251D	
	55.0–60.0	165–170	6204D	
	55.0–60.0	165–170	6201D	
	55.0–60.0	165–170	6202D	
	55.0–60.0	155–170	032D	
	55.0–60.0	145–160	4043D	
	55.0–60.0	145–160	4044D	
	55.0–60.0	NA	4060D	
	55.0–60.0	155–170	3001D	
	55.0–60.0	145–160	3052D	
	55.0–60.0	180	3100HP	
	55.0–60.0	155–170	3251D	
	55.0–60.0	180	3260HP	
55.0–60.0	145–160	2003D		
55.0–60.0	180	2500HP		
PLA			Terramac	Unitika Ltd.
	57	170	TE-8300	
	57	170	TE-8210	
	57	170	TE-7300	
	57	170	TE-7307	
	57	170	TE-7000	
	57	170	TE-1070	
	57	170	TE-1030	
	57	170	TE-2000	
	57	170	TE-4000	
	57	170	TP-4-3-HV-6250H	
	PLLA	61	188	
PDLLA	50–55	Amorphous	Purasorb PDL20, PDL45	Purac
PGA	35–40	220–225	Kuredux	Kureha Corp.

Table 6.3 Transition Temperatures (T_g , T_m) of Most Used Biopolymers *Continued*

Biopolymer	T_g (°C)	T_m (°C)	Commercial Products	Manufacturer
P3HB	135	175	Biocycle 1000	PHB Industrial Brazil S.S.
	135	168	189C-1	
	137	168	189D-1	
PHBHV	0	170	Biopol	Metabolix
PCL	-60	60	Tone	Union Carbide
PES	-4	102	Bionolle 6000	Showa High polymer Ltd.
PBS	-30/-32	114-116	Bionolle 1001	

P3HB, poly(3-hydroxybutyrate); PBS, poly(butylene succinate); PCL, Poly(ϵ -caprolactone); PDLLA, atactic poly(D,L-lactide); PES, poly(ethylene succinate); PGA, poly(glycolic acid); PHBHV, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate); PLA, poly(lactic acid); PLLA, poly(L-lactic acid).

chains or the same chain in different sections) are determinant in the physical properties of the material. One of the most important thermal properties of polymers is the glass transition temperature (T_g). Formally, it is a boundary between the glassy behavior region in which the polymer is relatively rigid and the gummy region in which it is highly flexible (Wong et al., 2013). The T_g consists in a range temperature that depends on the molecular arrangements, reticulation rate, and crystallinity degree, etc. The value of T_g of a polymer is directly related to mechanical properties, and it has been a useful tool for characterizing both natural or nonnatural polymers. An important number of biopolymers have been characterized by their thermal transitions (Table 6.3).

The commonly used PLA has a $T_m = 155^\circ\text{C}$ and a crystallinity of about 16%; it is characterized by slow crystallization rate, long shaping cycle, low melt viscosity, and thermal stability. A poly(lactic acid) with a D-lactic acid content more than 8% is amorphous, i.e., it has no T_m . The crystallinity of PLA generally increases with increasing optical purity. Poly(L-lactic acid) with an optical purity of 97% has a glass transition temperature (T_g) of 53–63°C, a T_m of 173–178°C, and a crystallinity of about 37%. The T_m of PLA can be increased 40–50°C, and its heat deflection temperature can be increased from approximately 60°C to up to 190°C by physically blending the polymer with poly (D-lactic acid). This demonstrates how the thermal properties of biopolymers can be modified simply by varying some parameters.

3.5 Biodegradability

Around the world, special attention has been given to the disproportionate production of petroleum-based polymers. The first polymeric synthetic materials require hundreds of years for their complete biodegradation in the

environment. The environmental problem, coupled with the decrease in the amount of global oil, prompted research and search for new “natural” alternatives to generate biodegradable materials (Sin et al., 2013). There are now excellent biodegradable alternatives such as poly(vinyl alcohol) (PVOH) and PLA for the synthesis and development of containers and packaging with characteristics and properties comparable with their synthetic analogues (PE, PS, PP, etc.) while other biodegradable polymers, such as polycaprolactone (PCL) and polyhydroxybutyrate (PHB), are still under development and offer no viable alternative for the industry. Within the biodegradable polymers, an important percentage of these belongs to the family of polyesters. The polarity of the ester bond ($-\text{CO}-\text{O}-\text{C}-$) generates a relatively weak bond for hydrolysis reactions by elements present in the soils, whereby their biodegradation increases. PCL, PGA, and polydioxanone are biodegradable materials mostly used to fabricate sutures, nails, and drug-bearing implants (Niaounakis, 2015b).

3.6 Properties of Main Petroleum-Based Biopolymers

At present, hundreds of polymers that are synthesized at an industrial level could be used for the manufacture of medical devices; however, less than 20 different kinds of polymers are used. In the following section, several physicochemical properties of each polymer will be summarized.

3.6.1 PVC

PVC is the second most produced and used polymer in the world (only after polyethylene). It is odorless, tasteless, and harmless, as well as resistant to most chemical agents. The PVC resists corrosive fumes and liquids; basic and acid solutions; saline solutions and other solvents and chemicals. It is soluble in cyclohexanone and tetrahydrofuran but insoluble in water. Although most of its applications involve packaging, coatings, and even textiles, various efforts have been made to modify PVC matrices to make it biocompatible and usable as biomaterial. PVC is an amorphous polymer with a high hardness due to the steric impediments to the rotation of chains that cause the chloride groups, which are very voluminous; Cl (chloride) has a T_g of 75–105°C (Wong et al., 2013). It is not flammable, brittle, and has high viscosity and low stability to heat.

3.6.2 Polyethylene

Polyethylene and its derivatives are the most widely produced polymers in the world. Annual production is approximately 80 million metric tons. Its main use is packaging (plastic bags, films, geomembranes, and containers

including bottles, etc.). Polyethylene (PE) is commercially produced in five different densities: high density (HDPE), low density (LDPE), linear low density (LLDPE), very low density (VLDPE), and ultra-high molecular weight (UHMWPE) (Wong et al., 2013). It is a thermoplastic polymer with a melting point between 120 and 130°C in its modalities of high and medium density, while the low density polyethylene has average melting points between 105 and 115°C. Due to the wide variety of linear or branched structures that can be formed, the glass transition temperature may or may not be visible according to the degree of crystallinity of the material. Most types of polyethylenes have excellent resistance to acids and bases, as well as to mild oxidants. The UHMWPE is a polyethylene with a molecular weight generally between 3.1 and 5.67 million ($MW > 2 > 10$ g/mol). Thanks to its high molecular weight, it has a high hardness, great toughness, low wear, and excellent chemical resistance. In biomedical devices, it is used in joints subjected to high stress (load bearing) as hip implants and knee prosthesis.

3.6.3 Polypropylene

It is a partially crystalline thermoplastic that combines a series of properties such as high thermal stability, lightness, high tensile and compressive strength, excellent dielectric properties, good chemical resistance, and low moisture absorption capacity. Together with the polyethylene is the polymer with the highest resistance to elongation at break. It has the highest impact resistance of all thermoplastics (4–20 kJ/m²) and higher hardness than polyethylene, but lower than polystyrene and PET.

Polypropylene (PP) can be synthesized by Ziegler–Natta catalysts to synthesize isotactic polymers with a high degree of crystallinity. The physical properties of PP are like PE with a $T_g = -12^\circ\text{C}$, $T_m: 125\text{--}167^\circ\text{C}$ and density of 0.85–0.98 g/cm³. The average molecular weight of the commercial PP goes from 2.2 to 7.0×10^5 g/mol and has a broad molecular weight distribution (polydispersity) from 2.6 to 12 (Wong et al., 2013).

3.6.4 Poly(methylmethacrylate)

Commercial poly(methylmethacrylate) (PMMA) is an amorphous ($T: 105^\circ\text{C}$ and density: 1.15–1.195 g/cm³) material with good resistance to alkalis and other inorganic solutions and excellent resistance to impact and optical properties. It is the most transparent of commercial polymers (transparency of around 93%). It has good mechanical strength and stability. Despite its lightness, it can withstand an overload of 70 kg/m². It is flammable, but during its degradation, it does not release toxic gasses; it is easy to process and mold in any required shape. PMMA exhibits excellent resistance to

various chemical agents; nevertheless, it is attacked by ethyl acetate, acetone, acetic acid, sulfuric acid, amyl alcohol, benzol, butanol, dichloromethane, trichloromethane (chloroform), and toluene. Thanks to its excellent optical properties and biocompatibility, it is widely used for the manufacture of contact lenses and ocular implants, as well as dental and maxillofacial prostheses (for their good physical properties) and as bone cement for fixation of prostheses (Baxter and Yeh, 2012). Various PMMA derivatives such as polymethylacrylate, polyhydroxyethyl methacrylate, and polyacrylamide (PAAm) are used for biomedical devices with improved physical properties and better biocompatibility (Wong et al., 2013).

3.6.5 Polyesters

One of the main synthetic routes for obtaining polyesters is the condensation of diacids or acid anhydrides with diols. In turn, the polyesters can be classified per the structure of the monomer used, being classified in aliphatic, aromatic, and semiaromatic polyesters. If aromatic monomers are used, due to the planar structure of the ring, the polyesters will present high hardness, great rigidity, and resistance to high temperatures; while the use of aliphatic units increases the flexibility of the polymer chains and freedom of movement in the bonds, decrease the melting point. Polyesters with the highest production in the world are polyethylene terephthalate (PET) and polybutylene terephthalate, and both present hardness, mechanical and thermal resistance, excellent dimensional stability, and ease of processing. PET is the most used for biomedical applications because of its biocompatibility and chemical resistance. Within its applications is the development of grafted implants, catheters, modified sutures, biocompatible membranes, and biosensors (Alvarez-Lorenzo et al., 2010). It is highly crystalline and hydrophobic with high melting temperature ($T: 265^{\circ}\text{C}$), and it is resistant to hydrolysis in dilute acids.

3.6.6 Rubbers

One of the characteristic properties of these elastomers is the ability to alter their hardness when subjected to external mechanical pressure. They may also present mechanical properties of various types in the areas of tensile strength, tensile modulus, elongation, and resilience. Due to their ability to return to their original form, they are widely used for the manufacture of prostheses, implants, and medical instrumentation. Regarding biocompatibility, it has been shown that natural rubbers do not generate adverse reactions with the blood stream; however, their compatibility can be improved if modifications are made by ionizing radiation or by chemical cross-linking

compared to the silicone rubber obtained by vulcanization processes (Wong et al., 2013).

3.6.7 Polyacetal and Polycarbonate

In general, polyacetals have low ceiling temperatures, which make them unstable at ambient and high temperatures. Therefore their commercial production is not very large, but the case of polyoxymethylene is different, because it is a crystalline polymer with high tensile strength, stiffness, hardness, and excellent chemical resistance. The stability of polyacetals can be improved by copolymerization with other monomers. The properties of these compounds are due in large part to the fact that their chains are stretched, which improves hardness and strength. On the other hand, polycarbonates are widely known for their transparency and remarkable hardness. In the biomedical industry, they have found applications in the area of implements for cardiac and pulmonary assistance (Wong et al., 2013).

4. GRAFTING METHODS APPLIED TO BIOPOLYMERS

The use of biopolymers from renewable sources provides an opportunity to explore a new and wide variety of materials that might have interesting applications in many areas by themselves or combined with others polymers. The key problem of these materials includes the deficiency of the physicochemical and mechanical properties (Das and Pal, 2015; Luk et al., 2013). Altering their properties results in an appropriate way to utilize them effectively; in this sense, graft copolymerization of biopolymers with either synthetic or natural polymers results in an interesting approach to develop innovative polymers because it can enhance their physicochemical and mechanical properties.

Graft copolymerization results in a versatile procedure to functionalize the surface/bulk of biopolymers, and it can be carried out by chemical methods or radiation techniques (plasma, UV, gamma rays) (Bhattacharya and Misra, 2004). The properties of these materials can be tuned by selecting the proper monomers and reaction conditions. The functionalization spreads the biopolymer properties, giving high-value final products. Hence, grafting allows formation of tuning surfaces with desired wettability, thickness, and other physicochemical properties by applying “grafting to” or “grafting from” approaches. The first one involves the copolymerization of biopolymers (previously modified with vinyl groups) with other monomers, while the second one implicates the growth of grafts directly from the biopolymer backbone (Feng et al., 2011; Uhriga and Mays, 2011).

Grafting is generally carried out by free radical reactions, which start with a polymeric matrix (backbone) and monomeric molecules of another polymer (to be grafted). Active sites are essentially generated on the polymeric matrix, which reacts with monomeric units to yield grafted material. The percentage of mass increases in the side grafted chains is named grafting yield (degree of grafting). Chemical compounds, for example, ceric ammonium nitrate (CAN) has been employed for generating free radicals (Deng et al., 2015; Radhakumary et al., 2012). On the other hand, high-energy radiation like gamma radiation (Huang et al., 2013b; Salmieri et al., 2015) and electron beams (Fan et al., 2009; Nemptanu et al., 2007) or radiation like UV can also be used (Khan et al., 2004; Khan, 2004).

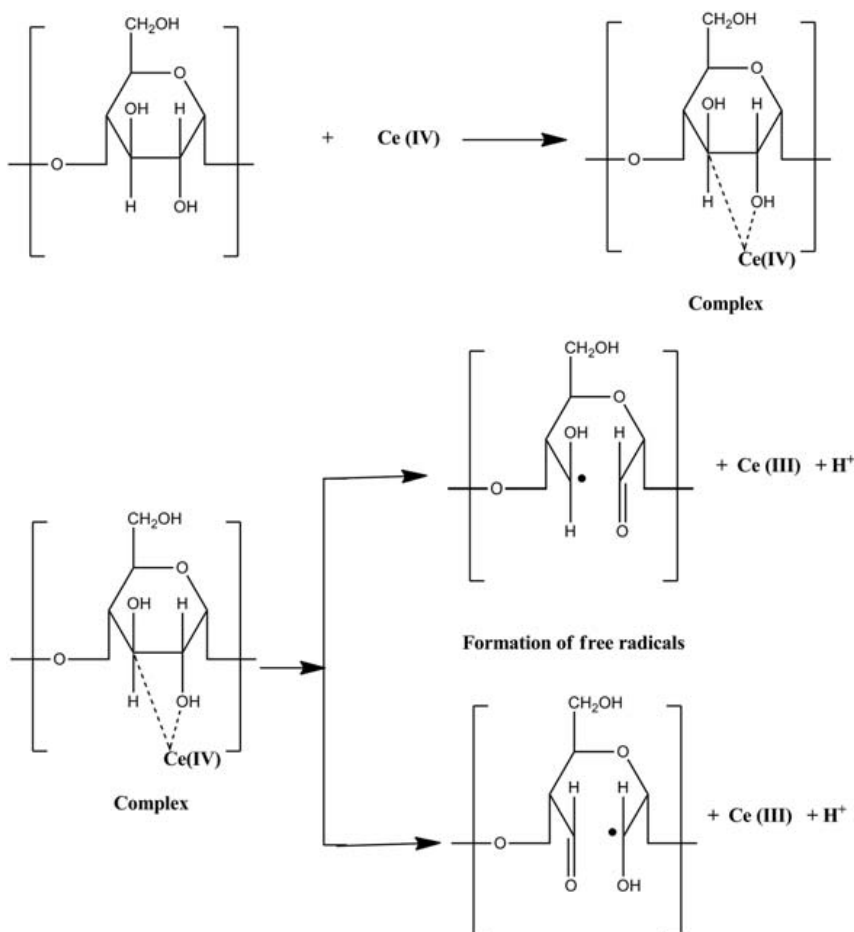
4.1 Conventional Method by Chemical Means

In this type of grafting, the chemical initiator plays a very important role because it regulates the pathway of the grafting process. Free radicals are created from the chemical initiators and transferred to the polymeric matrix, which reacts with the monomeric molecules to give the grafted material (Bhattacharya and Misra, 2004). Active sites are created on the polymer by its direct oxidation with certain transition metal ions such as Cerium (Ce) (Li et al., 2012), Cobalt (Co) (Baranov et al., 2012), or Vanadium (v) (Pandey et al., 2006). Usually, metals with low values of oxidation potential improve grafting effectiveness. Grafting is commonly carried out using the inorganic salts of ceric ammonium nitrate (CAN) or ceric ammonium sulfate. Grafting reaction with CAN must be carried out at low temperature due to its instability at high values of temperature. The proposed mechanism involves the formation of a complex between the O–H groups present in the backbone of the biopolymer and the metal ion (Fig. 6.2). This complex can dissociate to give free radicals (Bhattacharya and Misra, 2004).

4.2 Microwave Method

A recent method for creating active sites is through microwave radiation (Singh et al., 2012). Microwaves encompass electromagnetic radiation with frequencies from 300 MHz to 300 GHz. This method has been employed for several polymerization reactions including condensation and free controlled radical and ring opening polymerizations. Recently, functional monomers (vinyl and acrylics) have been successfully grafted onto some biopolymers using this method (Giri et al., 2016; Singh and Rana, 2010; Yigitoglu et al., 2014).

The grafting processes carried out by this method are safe and convenient because it reduces the use of toxic compounds (free radical initiator,



■ FIGURE 6.2 Formation of free radicals onto biopolymers by the action of Ce (iv).

catalyst, solvent, etc.) and reaction time (Sen et al., 2009; Singh et al., 2004; Wan et al., 2011). The microwave grafting reactions for biopolymers is a very simple and fast process and can be carried out in solution or suspension (depending upon their solubility in water), as well as in the solid phase. Other advantages of this technique is that the microwave-induced grafting processes are reproducible, and the grafting onto biopolymers can be carried out at atmospheric conditions unlike chemical methods. Moreover, some parameters, such as the microwave power and exposure time, can be used to control the grafting percentage, thus ensuring precise control and reproducibility.

Microwave-based graft copolymer synthesis can be carried out into two types: microwave initiated synthesis and microwave assisted synthesis (Mishra et al., 2011a, 2012). In the last one, the grafting is initiated by a

combination of microwave radiation and a chemical initiator (e.g., CAN) (Kamel, 2012; Mishra et al., 2011b).

4.3 High Energy Radiation Methods

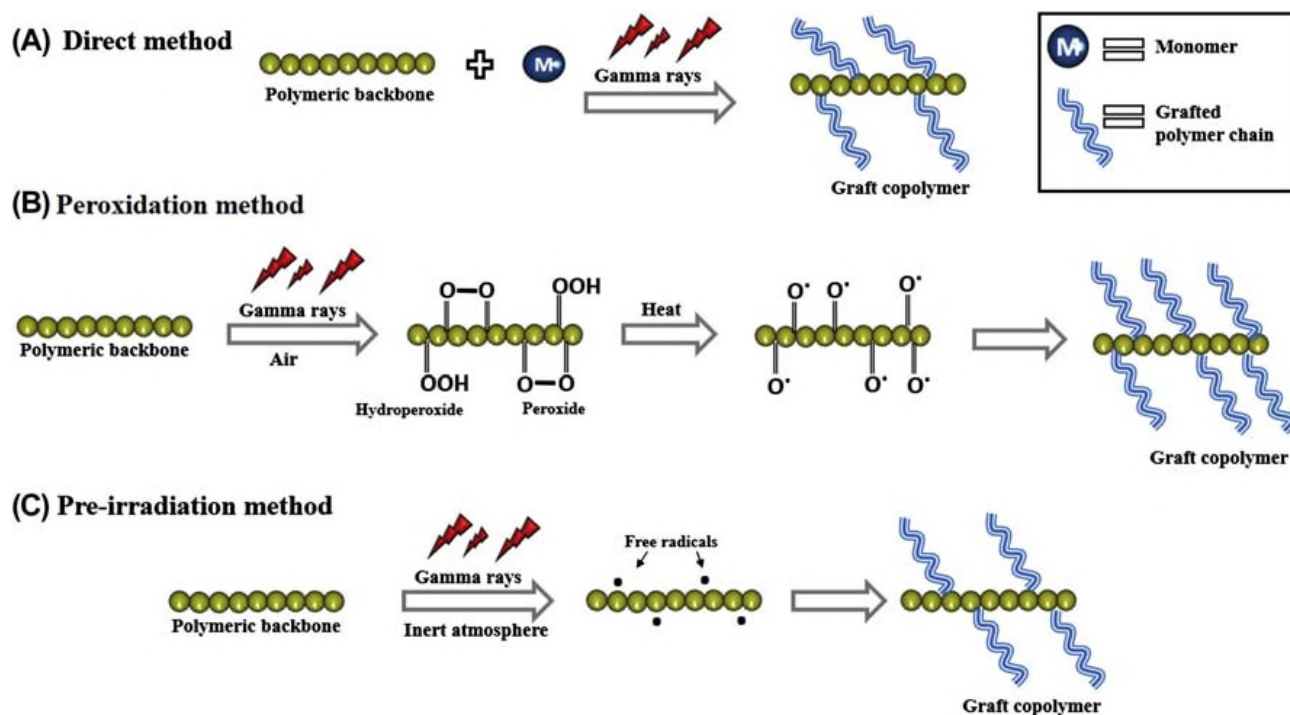
An alternative method to produce the graft copolymerization of biopolymers is with high energy radiation (gamma rays or electron beam). In this method, the grafting process is effectuated with a high efficacy, and the contamination of the biomaterial with residual chemical compounds is avoided (Bhattacharya, 2000; Clough, 2001). In this case, the irradiation of polymers produces homolytic ruptures forming free radicals on the polymeric backbone. The grafting process of biopolymers by this technique is simple, and grafting yield can be tuned by varying some parameters such as dose, reaction time, temperature, etc. However, this type of radiation is not selective, and it can cause structural damage to the grafted biopolymer (Nemtanu et al., 2007).

The main radiation sources used to modify a polymer are gamma radiation, electron beam, X-rays, and ultraviolet, among others. The selection of the suitable radiation sources to make the grafting will depend on accessibility, reactivity of the monomeric molecules, volume of production, and the degradation resistance of the macromolecule to high energy radiations. The grafting yield in the modified biopolymer can be tuned by the proper choice of some reaction parameters (dose, dose rate, type of base polymer, monomer concentration, solvent, etc.) (Bhattacharya and Misra, 2004).

5. RADIATION GRAFTING OF BIOPOLYMERS

Radiation-induced grafting comprises the creation of free radicals on the polymer chains by the use of high energy radiation. Monomers react with the active sites and then propagate to form side chain grafts (Lacroix et al., 2014). When two or more monomers of different chemical natures are combined, graft copolymers are obtained. This method is a suitable procedure because of its fast and uniform formation of active sites for initiating the grafting reaction throughout the biopolymer. The most important benefits of this method over the conventional ones are the following: grafting can be carried out at room temperature; grafting can be carried out in the three states of matter; and the grafted material is not contaminated with residual chemical compounds (Choi et al., 2008; Xu et al., 2011). However, it is important to mention that high dose values could cause degradation or cross-linking of biopolymers.

There are several techniques to undertake a grafting using high-energy ionizing, which are (1) the direct or mutual method, (2) peroxidation, and



■ FIGURE 6.3 Grafting methods used in radiation-initiated copolymerization.

(3) preirradiation. Each one of these processes have their advantages and disadvantages. In all these techniques, the generation of site actives (initiation) depends on the type of radiation source, radiation sensitivity of the involved materials, dose, and dose rate (Nasef and Güven, 2012).

In the direct or mutual technique, the polymer matrix and monomer are irradiated simultaneously to form the free radicals (Fig. 6.3A). The biopolymer matrix is submerged in a monomeric solution in order to be irradiated. The homopolymer is formed in this method because the biopolymer matrix and monomer are irradiated at the same time. The process of the formation of homopolymers may be inhibited by using low dose rates and/or adding suppressors to the reaction system. In this method, the reaction system is irradiated constantly during the grafting process, and grafting percentages are usually higher than those obtained by the preirradiation methods. Also, this method is attractive for obtaining high grafting percentages onto radiation-sensitive biopolymer matrixes (Bhattacharya and Misra, 2004). Graft copolymerization of acrylic monomers onto some biopolymers has been carried out by the direct method (Lv et al., 2013; Singh et al., 2009).

In the peroxidation method, the biopolymeric backbone is subjected to high-energy radiation in the presence of air forming either peroxy or

hydroperoxy groups, depending on the nature of the biopolymer matrix and irradiation conditions (Fig. 6.3B). The decomposition of these groups at high temperature in the monomeric solution gives the grafting process. In this method, the formation of homopolymers is negligible due to the monomers that are not exposed to radiation. Another benefit of this method is that the preirradiated biopolymers can be stored at low temperatures for a certain time before performing the grafting reaction. However, one drawback of this technique is the oxidative degradation of the biopolymer backbone during irradiation (Chapiro, 1962).

On the other hand, the grafting process by the preirradiation method is carried out as follows: first, the polymeric matrix is irradiated in an inert atmosphere to form free radicals (Fig. 6.3C). Then the irradiated polymer substrate is treated with a monomeric solution, in liquid or vapor state. The major benefit of this method is the low formation of homopolymers because the monomer is not irradiated. However, the disadvantages of this method include low grafting yields and degradation of the biopolymer backbone due to its direct irradiation (Bhattacharya and Misra, 2004).

5.1 Radiation Grafting of Chitosan

Chitosan (poly- β -(1-4)-D-glucosamine) is a cationic polysaccharide derived from deacetylation of chitin, which can be extracted from the exoskeleton of mollusks, crustaceans, certain fungi, etc. Chitosan is the second most abundant amino polysaccharide next to cellulose (Dash et al., 2011; Rattana-wongwiboon et al., 2014). This biopolymer has some interesting properties such as water and fat-binding capacity, biocompatibility, biodegradability, and antifungal activity (Felt et al., 1998; Gupta et al., 2015). These interesting properties permit its use in the biomedical and biotechnological areas (Gad, 2008; Yang et al., 2003). This biopolymer has a pKa of 6.5, forms gels at low pH values, and presents low solubility in acid solutions, which limits its applicability.

Intense efforts have been focused to improve the solubility and applications of this material (Huang et al., 2013b; Pasanphan et al., 2014a). Among the various methods used to modify this kind of biopolymer, radiation-initiated graft copolymerization has been used for modifying the chemical and physical properties with interesting results (Cai et al., 2005; Elkholy, 2008; Jayakumar et al., 2005). Considerable effort has been done in the functionalization of this biopolymer through grafting with vinyl and acrylic monomers by using the radiation gamma method. The combination of natural and synthetic polymers yields hybrid materials that could manifest desirable properties (Fan et al., 2009; Jaafar et al., 2014; Pasanphan et al., 2014b).

Singh and Roy (1997) reported the grafting of N, N'-dimethylaminoethylmethacrylate (DMAEMA) onto chitosan films. The parameters such as dose, solvent composition, monomer concentration, and dose rate were found to be affecting the rate of grafting and homopolymerization. Also, they found that a desired level of grafting of DMAEMA onto chitosan films can be reached by tuning the grafting parameters. The modified chitosan films improved their thermal stability.

Yu et al. (2003) modified chitosan with butyl acrylate by means of gamma radiation. They observed an increase in grafting yield when the monomer concentration and dose were raised. Compared with pristine chitosan film, the grafted chitosan samples showed an enhanced hydrophobicity and impact strength. On the other hand, Zhao et al. (2003) synthesized a series of hydrogels from poly(vinyl alcohol) (PVA) and carboxymethylated chitosan (CM-chitosan) by electron beam irradiation at room temperature with good miscibility. The mechanical properties and swelling were improved due to the addition of CM-chitosan into PVA hydrogels. Also, the hydrogels exhibited antibacterial activity against *Escherichia coli*. This property is very interesting and can be useful in the biomedical and pharmaceutical areas.

Dergunov et al. (2008) grafted 2-hydroxyethyl acrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate, and N-vinylpyrrolidone onto chitosan using gamma rays. They studied the effect of the absorbed dose and concentration of monomer and solvent on the grafting yield. The obtained graft copolymers showed solubility in water in a wide pH interval compared with pristine chitosan. On the other hand, Taleb (2008) carried out the radiation graft copolymerization of acrylic acid (AAc) and acrylamide (AAm) onto chitosan using the direct method. The prepared hydrogels showed ampholytic and reversible pH responsiveness characteristics. Also, this graft copolymer was used to deliver amoxicillin trihydrate. The prepared graft chitosan copolymers showed a promising result not only in the field of drug targeting, but they also showed the possibility of controlling the release amount and release rate of this drug.

Sokker et al. (2009a) prepared hydrogels based on chitosan grafted with poly(acrylic acid) (PAAc), poly(hydroxypropyl methacrylate) (PHPMA), poly(vinyl alcohol) (PVA), and gelatin for controlled drug delivery; the graft copolymerization was carried out by gamma irradiation technique using the direct method. The obtained materials showed different swelling and gelation degree depending on the composition of chitosan, monomers, and radiation dose. Moreover, they studied the loading of the antibiotic drug oxytetracycline into the hydrogels and the releasing profiles at different pH and temperature. The in vitro release showed that the hydrogel of lower

content of PAAc and PVA and in absence of PHPMA had the highest swelling and release rate of the drug. Also, the release kinetic showed variations with respect to some parameters such as pH, monomer concentration, and applied dose. These materials could be used as drug delivery systems for the treatment of some illnesses such as infections on the respiratory tracts and skin.

In other work, [Khan et al. \(2012\)](#) prepared modified chitosan films with 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) monomer. HEMA was combined with a chitosan solution in acetic acid; the grafting was carried out through the direct method using gamma irradiation. They found that the modified chitosan films improved their mechanical properties compared with the unmodified ones. On the other hand, [González-Torres et al. \(2015\)](#) grafted chitosan onto poly(3-hydroxybutyrate) using the direct method despite the chemical inactivity of poly(3-hydroxybutyrate). The grafting of the chitosan onto poly(3-hydroxybutyrate) was confirmed using different characterization techniques; different solvents were used to find the appropriate one for a better grafting process, finding that the best solvent was ethyl acetate. Finally, they suggested that the mechanism of grafting is by the coupling reaction of the amine chitosan radical and the methylene radical generated in poly(3-hydroxybutyrate).

In the same year, [Montes et al. \(2015\)](#) modified chitosan with N-vinylcaprolactam (NVCL) by the direct method using ^{60}Co gamma radiation. Optimum conditions for grafting were a radiation dose of 15 kGy, a chitosan concentration of 0.01 g/mL, and an NVCL concentration of 1.5 mol/L. Also, they evaluated the pH and thermoresponsive properties of the graft copolymers, which exhibited response to pH (4.75) and temperature (34.5°C), respectively; furthermore, an enhancement in its hydrophilicity was observed. These properties may be suitable for the controlled release of drugs such as 5-fluorouracil (an anticancer agent), which is highly toxic when it is not immobilized in a polymeric matrix. Similar work was done by [Pérez-Calixto et al. \(2016\)](#), who modified chitosan with NVCL and N,N-dimethylacrylamide using both the direct and peroxidation methods. They found that the graft copolymers synthesized using the simultaneous method in the one-step reaction presented the highest grafting yields (~30%). All synthesized copolymers showed thermal and pH sensitivity.

5.2 Radiation Grafting of Cellulose

Graft copolymerization enables the formation of advanced polymers by attaching synthetic polymers with different properties to cellulose-based polymers ([Thakur et al., 2013a,b](#)). Cellulose is the most abundant and

renewable polymer resource available worldwide that is used in different applications such as in paper, packaging, biosorption, and biomedical applications (Wojnarovits et al., 2010).

Cellulose is a natural polymer consisting of β -D-glucopyranose units joined together by β -1,4-glycosidic linkages with a ribbon shape, which makes it flexible. These characteristics in its structure endow properties such as hydrophilicity, chirality, degradability, and chemical reactivity and are due to the high donor reactivity of the OH groups (Klemm et al., 2005; O'Connell et al., 2008).

Modification of cellulose-based polymers by radiation grafting offers an important path to endow new properties or enhance existing ones (Khan, 2005; Sokker et al., 2012; Verma and Kaur, 2012). Radiation of cellulose macromolecules gives highly reactive intermediates, such as ions and free radicals (Chmielewski et al., 2005). These active sites are usually formed in positions 1 and 4 of the pyranose ring (Ershov, 1998). However, during the radiation-induced grafting of cellulose and its derivatives, side reactions such as chain degradation and cross-linking may occur (Fei et al., 2000; Pekel et al., 2004). The properties of the graft copolymers based on cellulose depend of the type of monomeric molecule, grafting yield, and radiation technique.

Jianqin et al. (1999) grafted poly(N-isopropylacrylamide), PNIPAAm, onto cotton cellulose by γ -peroxidation-induced grafting method. They studied the effect of absorbed dose, dose rate, grafting temperature, and concentration of monomer on the grafting yields. The surface of grafted cotton fabric was thermosensible, with a response temperature of 35°C. More recently, 2-acrylamidoglycolic acid (a pH-responsive polymer) has been grafted onto a derivative of cellulose by gamma radiation technique (Abd El-Mohdy, 2014).

On the other hand, Nho et al. (2003) improved the surface blood compatibility of cellulose films by radiation grafting of acrylic acid, 2-hydroxyethyl methacrylate, and three kinds of polyethylene glycol methacrylates. In this work, heparin was introduced onto the grafted cellulose film surfaces in order to create nonthrombogenic surfaces.

Takacs et al. (2005) grafted some monomers such as AAm, acrylic acid (AAc), 2-hydroxypropyl acrylate, 2-hydroxypropyl methacrylate, and N,N'-methylene bisacrylamide onto cotton cellulose by the peroxidation method. They found that grafting yield was dependent of monomer type. Although the radiation degradation of cotton cellulose started at very low doses (5–10 kGy), it did not result in a significant change in the mechanical properties until a dose of 40 kGy. Furthermore, the same authors modified cotton cellulose samples

using N-vinylpyrrolidone as monomer by direct and peroxidation grafting methods, obtaining low grafting yields by the peroxidation method, while high grafting yields were obtained by the direct one (Takacs et al., 2007). Subsequently, they modified two kinds of cellulose (cotton and cotton linter) by the direct method; in this case, they used the following monomers: 2-ethylhexylacrylate (EHA) and 2-ethylhexylmethacrylate. They studied the effect of applied dose, structure, and monomer concentration, as well as the effect of styrene concentration (used as homopolymer suppressor) on the grafting yield (Takacs et al., 2010).

Goel et al. (2009) used gamma radiation to covalently link poly[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-trimethylammonium chloride (MAETC) to cotton fabric by the direct method. The antibacterial activity against various bacteria was tested on these grafted samples. The results showed that the grafted cotton samples possess significant antibacterial activity against gram-positive bacteria like *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and gram-negative bacteria like *E. coli* and *Pseudomonas fluorescens*. Also, the same authors reported the synthesis and modification of a cellulose-based adsorbent for water treatment. They modified cellulosic materials with poly(2-(methacryloyloxy) ethyl) trimethylammonium chloride (PMAETC) via a single-step-green-radiation grafting process using gamma radiation source (Goel et al., 2015).

Cellulose-based polymers have been modified with some cyclodextrins to load different drugs. Abdel-Halim et al. (2011) employed electron beam radiation to graft a mixture of glycidyl methacrylate/monochlorotriazinyl- β -cyclodextrin onto cotton fabric. Then when grafted samples were loaded with chlorhexidine diacetate, such samples showed antimicrobial activity in comparison with unloaded ones. The authors also concluded that cyclodextrin moieties help to host and keep the drug, giving lasting antimicrobial activity.

In a work reported by Hiriart-Ramírez et al. (2012), the modification of cotton gauzes with some cyclodextrins (β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin) was made successfully in order to endow them with the ability to elute nalidixic acid. Cyclodextrins remarkably increased the affinity of the gauzes for an antimicrobial agent such as nalidixic acid, endowing the gauzes with the ability to inhibit the growth of susceptible pathogens.

On the other side, the grafting of glycidyl methacrylate alone or in combination with β -cyclodextrin onto cotton fabrics was carried out using electron beam (Hebeish et al., 2014); then the grafted samples were loaded with an efficient insecticide (permethrin, bioallethrin). The results showed that the higher contents of cyclodextrins in the grafted samples helps to

incorporate higher amounts of insecticide in the polymeric system. A similar work has been reported by [Sokker et al. \(2009b\)](#).

5.3 Radiation Grafting of Alginate

Alginates are natural biopolymers (extracted from brown sea seeds) constituted by chains of β -D-mannuronate and α -L-guluronate. Alginate salts are used for many applications including food, leather, pharmaceuticals, etc. ([Taskin et al., 2011](#)). These salts are biocompatible, biodegradable, noncytotoxic, and pH-sensitive ([Isiklan and Küçükbalcı, 2012](#)). Nevertheless, this biopolymer is degraded by enzymes and susceptible to microbial contamination. Also, this material presents many limitations in terms of fabrication, limiting its use in many fields ([Yigitoglu et al., 2014](#)). The graft copolymerization of monomers onto this biopolymer can introduce desired and new properties and therefore enlarge the field of potential application, and the radiation-grafting technique has been used for this purpose ([El Fadl, 2014](#); [El-Naggar, 2016](#); [Taleb et al., 2015](#)).

[Bardajee et al. \(2012\)](#) prepared hydrogels of (2-dimethylaminoethyl) methacrylate (DMAEMA) (a pH-sensitive monomer) and sodium alginate using gamma radiation with a range of doses of 5–20 kGy. They evaluated the effect of some parameters including sodium alginate concentration, DMAEMA concentration, irradiation dose on the gel content, and the swelling behavior. They found that the graft copolymers prepared at a concentration of 1.5 g sodium alginate and 2.1 mol/L DMAEMA and at a radiation dose of 5 kGy displayed the highest swelling capacity. Also, the obtained hydrogel presented response to pH, which makes them good candidates to develop intelligent soft materials with potential application as drug delivery systems.

Further, [Khan et al. \(2013\)](#) grafted poly (ethylene glycol) (PEG) onto Ca-alginate fibers to improve the physical-mechanical properties of these by applying γ -radiation at different irradiation doses (0.5–10 kGy). Authors studied the effect of γ -irradiation on the physical-mechanical, thermal, and morphological properties on the alginate fibers ([Thakur et al., 2014](#)). The grafted fibers showed enhanced physical-mechanical properties than those of nongrafted ones. The PEG-grafted alginate fibers are promising candidates for biomedical applications (e.g., surgical suture) in which alginate gels with higher biocompatibility are required.

[Lencina et al. \(2015\)](#) synthesized thermoresponsive alginate-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymers using the gamma radiation from ^{60}Co source by the direct method. Authors found that a high initial amount of NIPAAm helps to obtain a higher content of PNIPAAm in the copolymer.

Also, when irradiation dose is raised, the grafting yield of PNIPAAm increases. Authors concluded that the modification of alginate using gamma radiation at low doses offers a suitable pathway to obtain materials with serious applications in the medicine field.

5.4 Radiation Grafting of Gelatin

Gelatin is obtained from collagen hydrolysis (Nichol et al., 2010); commercially, gelatin is presented in form of sheets or flakes with some physical characteristics including colorless or slightly yellow, transparent, brittle, odorless, and tasteless. Gelatin is composed of about 15% water, 1%–4% inorganic salts, and trace amount of grease. This biopolymer is biodegradable and biocompatible, therefore it is a good candidate for preparing functional materials (Curcio et al., 2010; Van Den Bulcke et al., 2000). Gelatin radiation-grafted copolymers have been synthesized to improve the properties of the biopolymeric backbone for use in diverse applications (Jianbiao et al., 2002; Kaur et al., 1998; Vazquez et al., 1995).

Gul-e-Noor et al. (2009) irradiated gelatin films at different doses using a Co-60 source. They found that the irradiated gelatin films improved their mechanical properties. Also, they studied the effect of urea addition (1–5 wt%) to the gelatin solution on these properties. Results showed that tensile strength (TS) for films containing urea enhanced compared with that for pristine gelatin. Then gelatin-urea materials were reacted with EHA (2-ethylhexyl acrylate) solutions. They concluded that the addition of these compounds reduces the brittleness of this biopolymer and improves its TS.

On the other hand, Sultana et al. (2010) modified gelatin by grafting 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) (10–50 wt%) in methanol using gamma radiation. They found that the irradiated gelatin films showed better tensile and thermal properties because of the formation of a denser network structure. It means that the grafting of HEMA by the action of gamma radiation improved these properties when compared to pristine gelatin. Similar work was done by Zaman et al. (2011). They modified gelatin films with EHA using gamma radiation. They found that the tensile and thermal properties of gelatin films were enhanced after the grafting of EHA.

6. BIOMEDICAL APPLICATIONS

In the past 20 years, investigation in biomaterials and engineering science has been critical to the development of several materials including polymers and alloys for medical applications. Medical device application includes the creation of interface combination between the material and the biological

environment. The interactions of different polymeric materials loaded with drugs in biological fluids, plasma proteins, and platelets are the principal consideration in studying the blood compatibility of polymers. The surfaces in direct contact with cells, tissues, and blood might present adsorption of proteins in seconds, which could form a complex protein coating. The adsorption of biological components will normally trigger in a series of biological reactions that are mostly adverse to the polymeric materials (Contreras-García and Bucio, 2013).

Artificial prostheses, vascular grafts, heart valves, and catheters are widely used to improve the quality of life of patients during medical treatments around the globe. But the number of infections related to implantable medical devices has increased significantly, causing a negative impact on the morbidity and mortality of patients (Campoccia et al., 2010). A large number of medical devices, including implantable catheters, are made of synthetic polymers such as PP, PVC, SR, and PU (Alvarez-Lorenzo et al., 2010). These polymers are known to be hydrophobic materials, which favor bacterial adhesion and/or the formation of biofilms. Biofilm is a coating consisting of mainly bacteria embedded in a self-produced extracellular surface that protects microorganisms from antimicrobial precursors and different undesirable environmental conditions favoring gene transfer (Flemming and Wingender, 2010; Contreras-García et al., 2011).

6.1 Polymers in Biomedical Uses

There is a considerable number of different morphologies in the area of macromolecules. In the case of polymers, they may be linear, branched, comb-like, stellar, macrocyclic, or cross-linked micelles, when the chains are joined together. The copolymers may have an alternating, random, block, or graft order. Repetitive units must have a specific order, because different orders result in different properties. Traditional polymers are increasingly used in medicine as biomaterials (biomedical devices). The research of new functionalization processes has permitted the development of many polymer materials employed as implant constituents and drug administration. The chemical functionalization applied to interpenetrating networks using γ -ionizing irradiation can be an effective alternative to incorporate some polymers whose use has been low due to complications associated with biocompatibility, toxicity, or bacterial colonization (Muñoz-Muñoz and Bucio, 2013).

For more than 100 years, polymer science has been applied in medicine (Griffith, 2000) due to its biocompatibility and chemical versatility (Dhandayuthapani et al., 2011). There are many factors that could be

considered before employing a polymer to manufacture medical devices, such as its physical characteristics, chemical composition (Ramakrishna et al., 2001), structure, molecular weight, solubility, hydrophobicity/hydrophilicity (Dhandayuthapani et al., 2011), and biocompatibility. The biocompatibility, “is the most important factor for designing biomaterials and it is defined as the ability of the polymeric material to carry out its function, interacting at the same time with tissue and biological fluids without cause (sic) any immunogenic response” (Ramakrishna et al., 2001).

6.1.1 Vesicles

The vesicles have been used increasingly in different biomedical applications to research some physical, chemical, catalytic, and biological process. They were used as models in biology as two-dimensional systems with a solid or fluid matrix to study different proteins in membranes, biomineralization, cellular transport, and intracellular traffic. Several years ago, these systems had a great deal of interest in the investigation with lipid vesicles as a tool to improve dermal and transdermal drug delivery. The lack of ability of traditional liposomes to deliver drugs across the skin has contributed to intensive research with the introduction and development of new interesting classes of lipid vesicles. Some authors have showed that modification of lipid vesicle composition could be lead elastic, deformable, and/or soft vesicles with superior capability to improve dermal and transdermal drug delivery with respect to traditional liposomes (Estrada-Villegas and Bucio, 2014).

6.1.2 Polymers Used for Medical Devices

New stimuli-responsive surface modification of polypropylene films have been prepared by different strategies including the synthesis of the interpenetrating networks (IPNs) of thermoresponsive NIPPAm and pH-responsive AAc grafted using gamma radiation. This material showed the ability to host vancomycin, and the loaded antimicrobial agent had the capacity to reduce the risk of biofilm formation (Ruiz et al., 2008). In this study, the first step involved the graft of poly(NIPAAm) onto PP films, and the second one involved the cross-linking of the grafted material. The second polymeric network of AAc was synthesized in situ using traditional chemical polymerization and then cross-linked, as reported by Ruiz (Ruiz et al., 2007). The aim of these changes in the monomer order was to improve the thermoresponsive poly(NIPAAm) percentage over the pH responsive poly(AAc) content to increase the immobilization of vancomycin.

6.2 Application of Stimuli Responsive Polymers

Recent advances in the design of smart polymeric materials have extended opportunities for the medical applications of this class of materials. These

smart polymeric systems present great usefulness in biorelated applications such as drug delivery, chromatography, bioseparation, and cell culture. Other fields of application where smart polymers have shown great development are electronics, robotics, water treatment, and biotechnology. Different systems have been produced by the combination of two or more smart responses into one polymeric system. More than two signals can be simultaneously employed to produce a dual-responsive material system. The change from stimuli to biochemical molecules has been considered as a novel strategy, which includes the responses to enzymes, antigen, and biochemical agents (Kumar et al., 2007; Nasef and Saidi, 2006).

Temperature-dependent polymers with critical temperature values around 36°C and swelling properties as N-isopropylacrylamide, 2-(dimethylaminoethyl) methacrylate, 2-hydroxyethylmethacrylate, etc. represent the main components of smart drug delivery systems. Lower critical solution temperature (LCST) properties and swelling properties give these polymers the ability of controlled-releasing certain types of drugs during long periods of time, allowing the drug in-system concentration to be maintained relatively steady. When these polymers are synthesized as hydrogels, they can be introduced to the system and protect wounds against infection, acting locally in a specific area. The biocompatibility of these polymers makes them able to interact with the biological system, and their specific properties make them intelligent drug vehicles (Raafat et al., 2012; Soares da Silva et al., 2011).

The poly(N-isopropylacrylamide) copolymers have been synthesized for some applications due to their thermosensitive behavior in water. The thermodynamic behavior of the smart polymers can be controlled by suitable molecular design. Biomedical applications of poly(N-isopropylacrylamide) copolymers in drug delivery, cell culture, molecular recognition, enzyme kinetics control, and magnetic valves have all been investigated. Materials of poly(NIPAAm) with some comonomers including acrylic acid, 4-pentenoic acid, N acryloxysuccinimide, allylamine, 2 (dimethylamino)ethylmethacrylate, 2 (dimethylamino)propylmethacrylamide, 2 (dimethyl)acrylamide, maleic acid, citraconic anhydride, itaconic acids, 3-acrylamidophenylboronic acid, etc. have been synthesized and exhibited a dual sensitivity (temperature and pH). Monomers containing primary amines, for example N-(3-aminopropyl) methacrylamide, have intelligent networks with interesting features such as responsive pH and affinity for anionic drugs (it represents around 75% of drugs currently in the industry). Polymeric materials with amino groups are potentially useful for conjugation with many chemical structures containing peptides,

polysaccharides, or radionuclides. Functionalized polymeric systems with quaternary ammonium groups or zwitterionic chemical compounds have showed antifouling properties. For instance, the antimicrobial activity of poly(2-(dimethylaminoethyl) methacrylate) can be improved by the quaternization of its amine groups, resulting in a decreasing biofilm formation onto the coated substrate.

Derivatives of poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate could be used for interesting applications, because they are able to change the LCST of the thermoresponsive polymers. One example is when it is combined with 2-(dimethylaminoethyl) methacrylate. It is important to mention that both polymers are thermosensitive and the first one is also pH-sensitive.

Grafted into another polymer, smart polymers can functionalize its surface to give it specific properties such as antibacterial, drug delivery, biocompatibility improvement, biofilm reduction, and cell immobilization (Contreras-García et al., 2010). Due to their specificity, smart polymers can also be used to identify specific types of molecules, which make them suitable for designing sensors for analytical columns (Wang et al., 2007). Gamma ray grafting of natural polymers, like cotton cellulose with smart polymers, is being widely studied as potential water treatment systems that retain metals such as Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni, U, etc. (Roy et al., 2009; Wojnarovits et al., 2010).

On the other hand, electric field smart polymers and conducting polymers, as well as physically stimulated polymers (piezoelectric), are gaining interest in numerous applications. Electric field-responsive conductive polymers can change their physical structure when they are exposed to a certain current, or magnetic field on a conductive solution, resulting in macroscale observable contraction of the polymer.

6.2.1 Intelligent Polymers for Tissue Engineering

Tissue engineering (TE) is an area focused on the research and application of knowledge in material science. It covers chemistry engineering, physics, and clinical sciences to improve human life-solving critical medical problems, including tissue and organ loss (Armentano et al., 2010; Langer and Vacanti, 1993). Biomaterials in TE have been employed for several biomedical applications, for example, clinical tissue regeneration, implants in clinical bone repair, bioactive coatings of metallic implants, tissue engineering, drug delivery capabilities, and biomimetics, among other medical treatments (Lin et al., 2010). Stimuli-sensitive polymers represent a revolutionary class of materials that could be used as scaffolds in tissue engineering because many of them show good compatibility to tissue and human fluids. Beyond the physicochemical properties of polymeric materials, a main objective is to obtain

biocompatible materials with suitable properties to make signaling proteins, extracellular matrix components, and growth factors (Furth et al., 2007).

7. POTENTIAL MEDICAL DEVICES

The research of medical devices to improve human life, whether for the replacement of dysfunctional, atherosclerotic arteries and decaying teeth, or for the repair of injured tissues, for example cartilage and skin, has gained a lot attention around the world (Zavala-Lagunes et al., 2016). The combination of natural biopolymers and/or smart polymers with medical devices presents a large range of applications. This combination could reduce adverse reactions due to the use of implantable medical devices or make the local delivery of drugs to hardly accessible sites possible. Also, this combination would obtain biomaterials with good biocompatibility (Magaña et al., 2015).

7.1 Lysozyme Immobilization Onto PVC Urinary Catheters

Surface modification of PVC urinary catheters by grafting monomers with ionizable functional groups could increase their biocompatibility and serve as binding points of enzymes such as the lysozyme. Catheters of PVC rank in second place among polymers used in biomedical devices, and some approaches have been studied to increase their biocompatibility and to reduce protein adsorption or bacterial adhesion. Functionalization of medical devices, using radiation grafting, presents many advantages over traditional techniques since it is suitable for a variety of biomaterials. Radiation grafting of polymeric catheters by using γ -rays could be carried out through either direct irradiation of the biomaterial in the presence of the monomers or preirradiation (Alvarez-Lorenzo et al., 2010). In a reported work, N-vinylcaprolactam (NVCL) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) were grafted by a one-step method using the peroxidation method. Poly(N-vinylcaprolactam) (PNVCL) is a biocompatible polymer with an LCST close to the human body (30–40°C). On the other hand, poly(HEMA) provides a lubricious surface while allowing for the covalent binding of bioactive molecules through the hydroxyl groups. Immobilized PVC catheters with lysozyme was studied regarding ability to lyse bacterial cell walls (Guadarrama-Zempoalteca et al., 2016).

7.2 Functionalized Prodrug Onto Polypropylene Films for Drug Delivery of Salicylic Acid

The radiation-grafting technique has been used to synthesize biomedical devices with sustained release anti-inflammatory drugs (Meléndez-Ortiz

et al., 2014). For example, polypropylene films were modified with 2-methacryloyloxy-benzoic acid (2-MBA) by means of an oxidative preirradiation method (^{60}Co Source), in order to obtain a grafted polymer in which salicylic acid units were linked to the main chain by means of labile ester bonds. The grafting percentage was dependent on irradiation, dose, reaction time, temperature, and monomer concentration. Poly(2-MBA) behaved as a polymeric prodrug and slowly released salicylic acid in contact with aqueous medium (pH = 5.5 and 7.4) (Magaña et al., 2016).

7.3 IPNs Grafted of N-isopropylacrylamide and Acrylic Acid Onto Polyurethane Catheters for Medical Devices

Radiation grafting has also been used to carry out the graft of thermo- and pH-responsive networks onto different polymeric matrices, as Tecoflex (TFX). The TFX is a biomedical-grade polyurethane employed for the envelopment of implantable medical devices. The polymers PNIPAAm and PAAc were grafted onto this polyurethane in order to improve its surface capability to load and release vancomycin. The study of concentration, dose, solvent, etc., on the grafting percentage and chemical structure were studied to analyze the factors that affect the surface modification of TFX. The physicochemical properties of the obtained material and the in vitro hemo- and cyto-compatibility, inflammatory response, and drug release studies were also done (Muñoz-Muñoz et al., 2014).

8. CONCLUSIONS

Biopolymers are macromolecules of high molecular weight constituted for hundreds or thousands of monomeric units that are covalently bonded. They come from renewable sources or fossil fuels, and due to their structure and origin, they can be biodegradable or nonbiodegradable. The natural polymers are known by their unique properties such as flexibility, biodegradability, biocompatibility, and solubility in aqueous media, among others. The biopolymers are indisputable candidates to be used in biomedical applications because of their good biocompatibility with the human body and nontoxicity. On the other hand, synthetic polymers have the particularity of being produced industrially on a great scale, and thanks to their low cost of production, good mechanical properties, and better hydrolytic stability than natural polymers, they are widely used to manufacture medical devices. There is a growing demand to synthesize new biomaterials with controllable structure and predictable performance, which could be applied in many investigation fields; therefore several techniques were developed

that help us to modify a polymer backbone composite with another polymer through covalent bonds, obtaining polymeric materials with properties that are completely different or a combination of both raw materials.

Grafting technique has emerged as a promising tool to introduce organic compounds into a polymeric matrix to obtain new biopolymers with specific properties. Using this tool, it is possible to improve the mechanical properties of natural polymers that are too fragile in aqueous solution, or we can modify the hydrophobic behavior of synthetic polymers by grafting ionizable groups, improving their compatibility with human tissue or biological environments.

There is much day-to-day effort in the quest to find biomaterials with ideal properties for specific applications. In the biomedical field, the research of materials suitable for the efficient delivery of antibiotics or anticarcinogenic drugs are constantly advancing, such as have been described in this chapter. The combination of both synthetic and natural polymers shows an attractive alternative to produce new biopolymers (hybrids materials), whereas the grafting technique seems to be the way to solve the demand of new materials in a world with many problems that need to be resolved.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by DGAPA-UNAM Grant IN201617. The authors give thanks to A. Ramírez-Fernández, M. Cruz from ICN-UNAM, and B. Puente from CIQA for technical assistance.

REFERENCES

- Abbasi, F., Mirzadeh, H., Katbab, A.A., 2001. Modification of polysiloxane polymers for biomedical applications: a review. *Polymer International* 50, 1279–1287.
- Abdel-Halim, E.S., Abdel-Mohdy, F.A., Foudab, M.M.G., El-Sawy, S.M., Hamdy, I.A., Al-Deyab, S.S., 2011. Antimicrobial activity of monochlorotriazinyl- β -cyclodextrin/chlorohexidin diacetate finished cotton fabrics. *Carbohydrate Polymers* 86, 1389–1394.
- Abd El-Mohdy, H.L., 2014. Radiation initiated synthesis of 2-acrylamidoglycolic acid grafted carboxymethyl cellulose as pH-sensitive hydrogel. *Polymer Engineering and Science* 54, 2753–2761.
- Abe, H., Doi, Y., Fukushima, T., Eya, H., 1994. Biosynthesis from gluconate of a random copolyester consisting of 3-hydroxybutyrate and medium-chain-length 3-hydroxyalkanoates by *Pseudomonas* sp. 61–3. *International Journal of Biological Macromolecules* 16 (3), 115–119.
- Aguilar, M.R., Elvira, C., Gallardo, A., Vazquez, B., Roman, J.S., 2007. Smart polymers and their applications as biomaterials. In: Ashammakhi, N., Reis, R., Chiellini, E. (Eds.), *Topics in Tissue Engineering*, vol. 3.

- Aklonis, J.J., 1981. Mechanical properties of polymers. *Journal of Chemical Education* 58 (11), 892–897.
- Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., Burillo, G., Concheiro, A., 2010. Medical devices modified at the surface by gamma ray grafting for drug loading and delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery* 7, 173–185.
- Aravamudhan, A., Ramos, D.M., Nada, A.A., Kumbar, S.G., 2014. “Natural polymers: polysaccharides and their derivatives for biomedical applications. In: Kumbar, S., Laurencin, C., Deng, M. (Eds.), *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*. Elsevier, Brazil, pp. 67–89.
- Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S., Kenny, J.M., 2010. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. *Polymer Degradation and Stability* 95, 2126–2146.
- Baranov, I.A., Andriyanova, N.A., Mochalova, A.E., Sibirkin, A.A., Batenkin, M.A.L., Smirnova, A., 2012. Grafting polymerization of acrylonitrile and methyl acrylate on chitosan in the presence of cobalt(III) complexes. *Polymer Science Series B* 54, 167–174.
- Bardajee, G.R., Hooshyar, Z., Zehtabi, F., Pourjavadi, A., 2012. A superabsorbent hydrogel network based on poly ((2-dimethylaminoethyl) methacrylate) and sodium alginate obtained by γ -radiation: synthesis and characterization. *Iranian Polymer Journal* 21, 829–836.
- Baxter, D., Yeh, J., 2012. The use of polymethyl methacrylate (PMMA) in neurosurgery. In: *Biomaterials for Spinal Surgery*. Woodhead Publishing Limited, pp. 365–384.
- Bhattacharya, A., 2000. Radiation and industrial polymers. *Progress in Polymer Science* 25, 371–401.
- Bhattacharya, A., Misra, B.N., 2004. Grafting: a versatile means to modify polymers techniques, factors and applications. *Progress in Polymer Science* 29, 767–814.
- Boyko, V., Pich, A., Lu, Y., Richter, S., Arndt, K.-F., Adler, H.-J.P., 2003. Thermo-sensitive poly(N-vinylcaprolactam-co-acetoacetoxyethyl methacrylate) microgels: 1—synthesis and characterization. *Polymer* 44, 7821–7827.
- Bromberg, L.E., Ron, E.S., 1998. Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 31, 197–221.
- Cai, H., Zhang, Z.P., Sun, P.C., He, B.L., Zhu, X.X., 2005. Synthesis and characterization of thermo- and pH- sensitive hydrogels based on chitosan-grafted N-isopropylacrylamide via γ -radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 74, 26–30.
- Campoccia, D., Montanaro, L., Speciale, P., Arciola, C.R., 2010. Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use. *Biomaterials* 31, 6363–6377.
- Chapiro, A., 1962. *Radiation Chemistry of Polymeric System*. Interscience Div. John Wiley and Sons, New York.
- Chmielewski, A.G., Haji-Saeid, M., Ahmed, S., 2005. Progress in radiation processing of polymers. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 236, 44–54.
- Choi, J.H., Jung, C.H., Kim, D.K., Ganesan, R., 2008. Radiation-induced grafting of inorganic particles onto polymer backbone: a new method to design polymer-based nanocomposite. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 266, 203–206.

- Clough, R.L., 2001. High-energy radiation and polymers: a review of commercial processes and emerging applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 185, 8–33.
- Contreras-García, A., Burillo, G., Aliev, R., Bucio, E., 2008. Radiation grafting of N,N'-dimethylacrylamide and N-isopropylacrylamide onto polypropylene films by two-step method. *Radiation Physics and Chemistry* 77, 936–940.
- Contreras-García, A., Bucio, E., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., 2010. Polypropylene grafted with NIPAAm and APMA for creating hemocompatible surfaces that load/elute nalidixic acid. *Reactive and Functional Polymers* 70, 836–842.
- Contreras-García, A., Bucio, E., Brackman, G., Coenye, T., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., 2011. Biofilm inhibition and drug-eluting properties of novel DMAEMA-modified polyethylene and silicone rubber surfaces. *Biofouling* 27, 123–135.
- Contreras-García, A., Bucio, E., 2013. *Responsive Materials and Methods: State-of-the-art Stimuli-Responsive Materials and Their Applications, Biomedical Devices Based on Smart Polymers*. Wiley-Scrivener Publishing, pp. 105–122.
- Curcio, M., Spizzirri, U.G., Iemma, F., Puoci, F., Cirillo, G., Parisi, O.I., Picci, N., 2010. Grafted thermo-responsive gelatin microspheres as delivery systems in triggered drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 76, 48–55.
- Das, D., Pal, S., 2015. Modified biopolymer-dextrin based crosslinked hydrogels: application in controlled drug delivery. *RSC Advances* 5, 25014–25050.
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R.M., Chiellini, E., 2011. Chitosan—a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 36, 981–1014.
- Deng, F., Ge, X., Zhang, Y., Li, M.C., Cho, U.R., 2015. Synthesis and characterization of microcrystalline cellulose-graft-poly(methyl methacrylate) copolymers and their application as rubber reinforcements. *Journal of Applied Polymer Science* 132, 42666.
- Dergunov, S.A., Nam, I.K., Maimakov, T.P., Nurkeeva, Z.S., Shaikhutdinov, E.M., Mun, G.A., 2008. Study on radiation-induced grafting of hydrophilic monomers onto chitosan. *Journal of Applied Polymer Science* 110, 558–563.
- Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., Kumar, D.S., 2011. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. *International Journal of Polymer Science* 2011, 290602:1–290602:19.
- El Fadl, F.I.A., 2014. Radiation grafting of ionically crosslinked alginate/chitosan beads with acrylic acid for lead sorption. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 301, 529–535.
- Elkholy, S.S., 2008. Chemical and radiation-induced grafting of p-carboxy N-phenyl maleimide onto chitosan. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 47, 299–306.
- El-Naggar, A.A., 2016. Radiation synthesis of superabsorbent hydrogels based on carboxymethyl cellulose/sodium alginate for absorbent of heavy metal ions from waste water. *Journal of Thermoplastic Composite Materials* 29, 16–27.
- Ershov, B.G., 1998. Radiation-chemical transformation of cellulose. *Russian Chemical Reviews* 67, 315–334.
- Estrada-Villegas, G.M., Bucio, E., 2014. The role of the shape in the design of new nanoparticles. In: Tiwari, A., Demir, M.M. (Eds.), *Advanced Sensor and Detection Materials*. Wiley-Scrivener, USA, pp. 61–86.

- Fan, J.C., Chen, J., Yang, L.M., Lin, H., Cao, F.Q., 2009. Preparation of dual-sensitive graft copolymer hydrogel based on N-maleoyl-chitosan and poly(N-isopropylacrylamide) by electron beam radiation. *Bulletin of Materials Science* 32, 521–526.
- Faruk, O., Bledzki, A.K., Fink, H.-P., Sain, M., 2012. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. *Progress in Polymer Science* 37, 1552–1596.
- Fei, B., Wach, R., Mitomo, H., Yoshii, F., Kume, T., 2000. Hydrogel of biodegradable derivatives. 1. Radiation induced crosslinking of CMC. *Journal of Applied Polymer Science* 78, 278–283.
- Felt, O., Buri, P., Gurny, R., 1998. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 24, 979–993.
- Feng, C., Li, Y., Yang, D., Hu, J., Zhang, X., Huang, X., 2011. Well-defined graft copolymers: from controlled synthesis to multipurpose applications. *Chemical Society Reviews* 40, 1282–1295.
- Flemming, H.C., Wingender, J., 2010. The biofilm matrix. *Nature Reviews. Microbiology* 8, 623–633.
- Francis, R., Sasikumar, S., Gopalan, G.P., 2013. Synthesis, structure, and properties of biopolymers (natural and synthetic). In: *Polymer Composites*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, pp. 11–107.
- Furth, M.E., Atala, A., Van Dyke, M.E., 2007. Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomaterials* 28, 5068–5073.
- Gad, Y.H., 2008. Preparation and characterization of poly(2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid)/Chitosan hydrogel using gamma irradiation and its application in wastewater treatment. *Radiation Physics and Chemistry* 77, 1101–1107.
- Gandini, A., 2008. Polymers from renewable resources: a challenge for the future of macromolecular materials. *Macromolecules* 41, 9491–9504.
- Garlotta, D., 2001. A literature review of poly(lactic acid). *Journal of Polymers and the Environment* 9 (2), 63–84.
- Giri, T.K., Pradhan, M., Tripathi, D.K., 2016. Synthesis of graft copolymer of kappa-carrageenan using microwave energy and studies of swelling capacity, occlusion properties, and preliminary acute toxicity. *Turkish Journal of Chemistry* 40, 283–295.
- Goel, N.K., Rao, M.S., Kumar, V., Bhardwaj, Y.K., Chaudhari, C.V., Dubey, K.A., Sabharwal, S., 2009. Synthesis of antibacterial cotton fabric by radiation-induced grafting of [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethyl ammonium chloride (MAETC) onto cotton. *Radiation Physics and Chemistry* 78, 399–406.
- Goel, N.K., Kumar, V., Misra, N., Varshney, L., 2015. Cellulose based cationic adsorbent fabricated via radiation grafting process for treatment of dyes wastewater. *Carbohydrate Polymers* 132, 444–451.
- González Torres, M., Rodríguez Talavera, J.R., Vargas Muñoz, S., González Pérez, M., Carreón Castro, M.P., Cerna Cortes, J., Esparza Muñoz, R.A., 2015. Effects of solvents on the radiation grafting reaction of vinyl compounds on poly(3-hydroxybutyrate). *Radiation Physics and Chemistry* 108, 87–94.
- Griffith, L.G., 2000. Polymeric biomaterials. *Acta Materialia* 48, 263–277.
- Guadarrama-Zempoalteca, Y., Díaz-Gómez, L., Meléndez-Ortiz, H.I., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., 2016. Lysozyme immobilization onto PVC catheters grafted with NVCL and HEMA for reduction of bacterial adhesion. *Radiation Physics and Chemistry* 126, 1–8.

- Gul-e-Noor, F., Khan, M.A., Ghoshal, S., Mazid, R.A., Chowdhury, A.M.S., Khan, R.A., 2009. Grafting of 2-ethylhexyl acrylate with urea on to gelatin film by gamma radiation. *Journal of Macromolecular Science Part A* 46, 615–624.
- Gunatillake, P.A., Adhikari, R., 2003. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *European Cells and Materials* 5, 1–16.
- Gupta, D., Singh, D., Kothiyal, N.C., Saini, A.K., Singh, V.P., Pathania, D., 2015. Synthesis of chitosan-g-poly(acrylamide)/ZnS nanocomposite for controlled drug delivery and antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 74, 547–557.
- He, N., Smeds, A., Frimar, R., Rosenholm, J., 2013. Solubility parameters of biopolymers. *Physics and Chemistry of Liquids* 51 (3), 302–316.
- Hebeish, A., EL-Sawy, S.M., Ragaie, M., Hamdy, I.A., El-Bisi, M.K., Abdel-Mohdy, F.A., 2014. New textiles of biocidal activity by introduce insecticide in cotton-poly (GMA) copolymer containing β -Cd. *Carbohydrate Polymers* 99, 208–217.
- Hiriart-Ramírez, E., Contreras-García, A., Garcia-Fernandez, M.J., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., 2012. Radiation grafting of glycidyl methacrylate onto cotton gauzes for functionalization with cyclodextrins and elution of antimicrobial agents. *Cellulose* 19, 2165–2177.
- Huang, C.L., Kumar, S., Tan, J.J.Z., Boey, F.Y.C., Venkatraman, S.S., Steele, T.W.J., Loo, J.S.C., 2013a. Modulating drug release from poly(lactic-co-glycolic acid) thin films through terminal end-groups and molecular weight. *Polymer Degradation and Stability* 98, 619–626.
- Huang, W., Wang, Y.J., Zhang, S., Huang, L., Hua, D.B., Zhu, X.L., 2013b. A facile approach for controlled modification of chitosan under gamma ray irradiation for drug delivery. *Macromolecules* 46, 814–818.
- Iskhan, N., Küçükbalcı, G., 2012. Microwave-induced synthesis of alginate-graft-poly(N-isopropylacrylamide) and drug release properties of dual pH- and temperature-responsive beads. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 82, 316–331.
- Jaafar, N.K., Lepit, A., Aini, N.A., Ali, A.M.M., Saat, A., Yahya, M.Z.A., 2014. Structural and electrical properties of plasticized radiation induced chitosan grafted poly(methylmethacrylate) polymer electrolytes. *International Journal of Electrochemical Science* 9, 821–829.
- Jagur-Grodzinski, J., 2010. Polymeric gels and hydrogels for biomedical and pharmaceutical applications. *Polymers for Advanced Technology* 21, 27–47.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Reis, R.L., Mano, J.F., 2005. Graft copolymerized chitosan—present status and applications. *Carbohydrate Polymers* 62, 142–158.
- Jianbiao, M., Haihui, C., Yanhong, L., Youxin, L., 2002. Synthesis and characterization of poly(DL-lactide)-grafted gelatins as bioabsorbable amphiphilic polymers. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 13, 67–80.
- Jiang, L., Zhang, J., 2013. Biodegradable polymers and polymer blends. In: Ebnesajjad, S. (Ed.), *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics*. William Andrew Publishing, Boston, MD, USA, pp. 109–128.
- Jianqin, L., Maolin, Z., Hongfei, H., 1999. Pre-irradiation grafting of temperature sensitive hydrogel on cotton cellulose fabric. *Radiation Physics and Chemistry* 55, 55–59.
- John, M., Thomas, S., 2008. Biofibres and biocomposites. *Carbohydrate Polymers* 71, 343–364.

- Kabanov, V.Y., Feldman, V.I., Ershov, B.G., Polikarpov, A.I., Kiryukhin, D.P., Apel', P.Y., 2009. Radiation chemistry of polymers. *High Energy Chemistry* 43, 1–18.
- Kamel, S., 2012. Rapid synthesis of antimicrobial paper under microwave irradiation. *Carbohydrate Polymers* 90, 1538–1542.
- Kaplan, D.L., 1998. *Biopolymers from Renewable Resources*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, ISBN 3-540-63567-X.
- Karolewicz, B., 2015. A review of polymers as multifunctional excipients in drug dosage form technology. *Saudi Pharmaceutical Journal* 24, 525–536.
- Kaur, I., Misra, B.N., Gupta, A., Chauhan, G.S., 1998. Radiochemical grafting of methacrylonitrile and its binary mixture with methyl acrylate onto gelatin. *Polymer International* 46, 275–279.
- Khan, F., Ahmad, S.R., Kronfli, E., 2004. UV-radiation-induced preirradiation grafting of methyl methacrylate onto lignocellulose fiber in an aqueous medium and characterization. *Journal of Applied Polymer Science* 91, 1667–1675.
- Khan, F., 2004. Photoinduced graft-copolymer synthesis and characterization of methacrylic acid onto natural biodegradable lignocellulose fiber. *Biomacromolecules* 5, 1078–1088.
- Khan, F., 2005. Characterization of methyl methacrylate grafting onto preirradiated biodegradable lignocellulose fiber by γ -radiation. *Macromolecular Bioscience* 5, 78–89.
- Khan, A., Huq, T., Khan, R.A., Dussault, D., Salmieri, S., Lacroix, M., 2012. Effect of gamma radiation on the mechanical and barrier properties of HEMA grafted chitosan-based films. *Radiation Physics and Chemistry* 81, 941–944.
- Khan, M.K., Rahman, M.M., Nesa, B., Nasrin, R., Molla, S., Islam, M.M., Rashid, T.U., Haque, P., Mustafa, A.I., Khan, M.A., 2013. Preparation and characterization of poly(ethyleneglycol) grafted Ca-alginate fibers by γ -irradiation for biomedical applications. *Journal of Adhesion Science and Technology* 27, 216–226.
- Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.F., Bohn, A., 2005. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition* 44, 3358–3393.
- Koppolu, B.P., Smith, S.G., Ravindranathan, S., Jayanthi, S., Suresh Kumar, T.K., Zaharoff, D.A., 2014. Controlling chitosan-based encapsulation for protein and vaccine delivery. *Biomaterials* 35, 4382–4389.
- Kozanoğlu, S., Özdemir, T., Usanmaz, A., 2011. Polymerization of N-Vinylcaprolactam and characterization of poly(N-vinylcaprolactam). *Journal of Macromolecules Science Part A* 48, 467–477.
- Kumar, A., Srivastava, A., Galaev, I.Y., Mattiasson, B., 2007. Smart polymers: physical forms and bioengineering applications. *Progress in Polymer Science* 32, 1205–1237.
- Lacroix, M., Khan, R., Senna, M., Sharmin, N., Salmieri, S., Safrany, A., 2014. Radiation grafting on natural films. *Radiation Physics and Chemistry* 94, 88–92.
- Langer, R., Vacanti, J.P., 1993. Tissue engineering. *Science* 260, 920–926.
- Lencina, M.M.S., Ciolino, A.E., Andreucetti, N.A., Villar, M.A., 2015. Thermoresponsive hydrogels based on alginate-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymers obtained by low doses of gamma radiation. *European Polymer Journal* 68, 641–649.
- Li, M.C., Lee, J.K., Cho, U.R., 2012. Synthesis, characterization, and enzymatic degradation of starch-grafted poly(methyl methacrylate) copolymer films. *Journal of Applied Polymer Science* 125, 405–414.

- Lin, H.-M., Wang, W.-K., Hsiung, P.-A., Shyu, S.-G., 2010. Light-sensitive intelligent drug delivery systems of coumarin-modified mesoporous bioactive glass. *Acta Biomaterialia* 6, 3256–3263.
- Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., Nava-Saucedo, J.E., 2008. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere* 73, 429–442.
- Luk, J.Z., Cooper-White, J., Rintoul, L., Tarane, E., Grøndahl, L., 2013. Functionalised polycaprolactone films and 3D scaffolds via gamma irradiation-induced grafting. *Journal of Material Chemistry Part B* 1, 4171–4181.
- Lv, X., Song, W., Ti, Y., Qu, L., Zhao, Z., Zheng, H., 2013. Gamma radiation-induced grafting of acrylamide and dimethyl diallyl ammonium chloride onto starch. *Carbohydrate Polymers* 92, 388–393.
- Magaña, H., Palomino, K., Cornejo-Bravo, J.M., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2015. Radiation-grafting of acrylamide onto silicone rubber films for diclofenac delivery. *Radiation Physics and Chemistry* 107, 164–170.
- Magaña, H., Palomino, K., Cornejo-Bravo, J.M., Díaz-Gómez, L., Concheiro, A., Zavala-Lagunes, E., Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., 2016. Polymeric prodrug-functionalized polypropylene films for sustained release of salicylic acid. *International Journal Pharmaceutics* 511, 579–585.
- Mas Haris, M.R.H., 2013. Preparation and characterization of biopolymers comprising chitosan-grafted-ENR via acid-induced reaction of ENR50 with chitosan. *eXPRESS Polymer Letters* 8, 85–94.
- Meléndez-Ortiz, H.I., Díaz-Rodríguez, P., Alvarez-Lorenzo, C., Conchiero, A., Bucio, E., 2014. Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug–device combo products. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103, 1269–1277.
- Mignon, A., Snoeck, D., D'Halluin, K., Balcaen, L., Vanhaecke, F., Dubruel, P., Van Vlierbergh, S., De Belie, N., 2016. Alginate biopolymers: counteracting the impact of superabsorbent polymers on mortar strength. *Construction and Building Materials* 110, 169–174.
- Mishra, S., Sen, G., Rani, G.U., Sinha, S., 2011a. Microwave assisted synthesis of polyacrylamide grafted agar (Ag-g-PAM) and its application as flocculant for wastewater treatment. *International Journal of Biological Macromolecules* 49, 591–598.
- Mishra, S., Mukul, A., Sen, G., Jha, U., 2011b. Microwave assisted synthesis of polyacrylamide grafted starch (St-g-PAM) and its applicability as flocculant for water treatment. *International Journal of Biological Macromolecules* 48, 106–111.
- Mishra, S., Rani, G.U., Sen, G., 2012. Microwave initiated synthesis and application of polyacrylic acid grafted carboxymethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers* 87, 2255–2262.
- Mohaček-Grošev, V., Šoštarić, V., Maksimović, A., 2015. Raman spectroscopic evidence of low temperature stability of d,l-glycolic and l-(+)-lactic acid crystals. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 140, 35–43.
- Mohan, S., Oluwafemi, O.S., Kalarikkal, N., Thomas, S., Songca, S.P., 2016. Biopolymers – Application in Nanoscience and Nanotechnology.
- Montes, J.A., Ortega, A., Burillo, G., 2015. Dual-stimuli responsive copolymers based on N-vinylcaprolactam/chitosan. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 303, 2143–2150.

- Muñoz-Muñoz, F., Bucio, E., Magariños, B., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., 2014. Temperature- and pH-Sensitive IPNs grafted onto polyurethane by gamma radiation for antimicrobial drug-eluting insertable devices. *Journal of Applied Polymer Science* 131, 39992.
- Muñoz-Muñoz, F.D., Bucio, E., 2013. Surface Modification and Functionalization of Polymer Materials by Gamma Irradiation for Biomedical Applications, *Radiation Synthesis of Materials & Compounds*. Taylor & Francis CRC Press, Boca Raton, pp. 265–301.
- Muzzarelli, R.A.A., Muzarelli, C., 2005. Chitosan chemistry: relevance to the biomedical science. *Advances in Polymer Science* 186, 151–209.
- Nasef, M.M., Saidi, H., 2006. Single radiation-induced grafting method for the preparation of two proton-and lithium ion-conducting membranes. *Macromolecular Materials and Engineering* 291, 972–983.
- Nasef, M.M., Güven, O., 2012. Radiation-grafted copolymers for separation and purification purposes: status, challenges and future directions. *Progress in Polymer Science* 37, 1597–1656.
- Nava-Ortíz, C.A.B., Alvarez-Lorenzo, C., Bucio, E., Concheiro, A., Burillo, G., 2009. Cyclodextrin-functionalized polyethylene and polypropylene as biocompatible materials for diclofenac delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 382, 183–191.
- Nemtanu, M.R., Minea, R., Kahraman, K., Koksel, H., Ng, P.K.W., Popescu, M.I., Mitru, E., 2007. Electron beam technology for modifying the functional properties of maize starch. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 580, 795–798.
- Nho, Y.C., Kwon, O.H., 2003. Blood compatibility of AAc, HEMA, and PEGMA-grafted cellulose film. *Radiation Physics and Chemistry* 66, 299–307.
- Niaounakis, M., 2015a. *Biopolymers: Processing and Products*, first ed. Elsevier Inc., USA. ISBN:978032326698.
- Niaounakis, M., 2015b. *Properties BT – Biopolymers: Processing and Products*. William Andrew Publishing, Oxford, pp. 79–116 (Chapter 2).
- Nichol, J.W., Koshy, S.T., Bae, H., Hwang, C.M., Yamanlar, S., Khademhosseini, A., 2010. Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels. *Biomaterials* 31, 5536–5544.
- O’Connell, D.W., Birkinshaw, C., O’Dwyer, T.F., 2008. Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: a review. *Bioresource Technology* 99, 6709–6724.
- Pandey, P.K., Srivastava, A., Tripathy, J., Behari, K., 2006. Graft copolymerization of acrylic acid onto guar gum initiated by vanadium (V)–mercaptosuccinic acid redox pair. *Carbohydrate Polymers* 65, 414–420.
- Pasanphan, W., Haema, K., Tangthong, T., Piroonpan, T., 2014a. Modification of chitosan onto PE by irradiation in salt solutions and possible use as Cu^{2+} complex film for pest snail control. *Journal of Applied Polymer Science* 131, 41204.
- Pasanphan, W., Rattanawongwiboon, T., Rimdusit, P., Piroonpan, T., 2014b. Radiation-induced graft copolymerization of poly(ethyleneglycol) monomethacrylate onto deoxycholate-chitosan nanoparticles as a drug carrier. *Radiation Physics and Chemistry* 94, 199–204.
- Pekel, N., Yoshii, F., Kume, T., Güven, O., 2004. Radiation crosslinking of biodegradable hydroxypropyl methyl cellulose. *Carbohydrate Polymers* 55, 139–147.

- Pérez-Calixto, M.P., Ortega, A., Garcia-Uriostegui, L., Burillo, G., 2016. Synthesis and characterization of N-vinylcaprolactam/N, N-dimethylacrylamide grafted onto chitosan networks by gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 119, 228–235.
- Priya James, H., John, R., Alex, A., Anoop, K.R., 2014. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 4, 120–127.
- Raafat, A.I., Araby, E., Lofty, S., 2012. Enhancement of fibrinolytic enzyme production from *Bacillus subtilis* via immobilization process onto radiation synthesized starch/dimethylaminoethyl methacrylate hydrogel. *Carbohydrate Polymers* 87, 1369–1374.
- Radhakumary, C., Nair, P.D., Nair, C.P.R., Mathew, S., 2012. Chitosan-graft-poly(vinyl acetate) for hemodialysis applications. *Journal of Applied Polymer Science* 125, 2022–2033.
- Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., Leong, K.W., 2001. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. *Composites Science and Technology* 61, 1189–1224.
- Ramírez, H.A., Crisanto, C.O., Conde, A.J., Navarro, M.L., 2013. Poly(ϵ -caprolactone) degradation under acidic and alkaline conditions. *American Journal of Polymer Science* 3, 70–75.
- Rattanawongwiboon, T., Haema, K., Pasanphan, W., 2014. Stearyl methacrylate-grafted-chitosan nanoparticle as a nano filler for PLA: radiation-induced grafting and characterization. *Radiation Physics and Chemistry* 94, 205–210.
- Roy, D., Semsarilar, M., Guthrie, J.T., Perrier, S., 2009. Cellulose modification by polymer grafting: a review. *Chemical Society Reviews* 38, 2046–2064.
- Ruiz, J.-C., Burillo, G., Bucio, E., 2007. Interpenetrating thermo and pH stimuli-responsive polymer networks of PAAc/PNIPAAm grafted onto PP. *Macromolecular Materials and Engineering* 292, 1176–1188.
- Ruiz, J.-C., Alvarez-Lorenzo, C., Taboada, P., Burillo, G., Bucio, E., De Prijck, K., Nelis, H.J., Coenye, T., Concheiro, A., 2008. Polypropylene grafted with smart polymers (PNIPAAm/PAAc) for loading and controlled release of vancomycin. *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics* 70, 467–477.
- Saito, Y., Doi, Y., 1994. Microbial synthesis and properties of poly(3-hydroxybutyrate-co 4-hydroxybutyrate) in *Comamonas acidovorans*. *International Journal of Biological Macromolecules* 16 (2), 99–104.
- Salmieri, S., Khan, R.A., Safrany, A., Lacroix, M., 2015. Gamma rays-induced 2-hydroxyethyl methacrylate graft copolymerization on methylcellulose-based films: structure analysis and physicochemical properties. *Industrial Crops and Products* 70, 64–71.
- Santerre, J.P., Woodhouse, K., Laroche, G., Labow, R.S., 2005. Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials. *Biomaterials* 26, 7457–7470.
- Satyanarayana, K.G., Arizaga, G.G.C., Wypych, F., 2009. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers—an overview. *Progress in Polymer Science* 34, 982–1021.
- Sen, G., Kumar, R.V., Ghosh, S., Pal, S., 2009. A novel polymeric flocculant based on polyacrylamide grafted carboxymethyl starch. *Carbohydrate Polymers* 77, 822–831.
- Shah, A.A., Hasan, F., Hameed, A., Ahmed, S., 2008. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnology Advances* 26, 246–265.

- Shimao, M., 2001. *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 12. Elsevier Science Ltd, pp. 242–247.
- Shishatskaya, E.I., Volova, T.G., Puzyr, A.P., Mogilnaya, O.A., Efremov, S.N., 2004. Tissue response to the implantation of biodegradable polyhydroxyalkanoate sutures. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 15, 719–728.
- Sin, L.T., Rahmat, A.R., Rahman, W.A.W.A., 2013. 2-Overview of poly(lactic acid) A2. In: Ebnesajjad, S. (Ed.), *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics*, Plastics Design Library. William Andrew Publishing, Boston, pp. 11–54.
- Singh, D.K., Roy, A.R., 1997. Radiation-induced grafting of N,N'-dimethylaminoethylmethacrylate onto chitosan films. *Journal of Applied Polymer Science* 66, 869–877.
- Singh, V., Tiwari, A., Tripathi, D.N., Sanghi, R., 2004. Microwave assisted synthesis of guar-g-polyacrylamide. *Carbohydrate Polymers* 58, 1–6.
- Singh, B., Sharma, V., Kumar, A., Kumar, S., 2009. Radiation crosslinked polymerization of methacrylamide and psyllium to develop antibiotic drug delivery device. *International Journal of Biological Macromolecules* 45, 338–347.
- Singh, A.S., Rana, R.K., 2010. Microwave induced graft copolymerization of methyl methacrylate onto lignocellulosic fibers. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* 15, 370–386.
- Singh, V., Kumar, P., Sanghi, R., 2012. Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides – a review. *Progress in Polymer Science* 37, 340–364.
- Soares da Silva, M., Viveiros, R., Morgado, P.I., Aguiar-Ricardo, A., Correia, I.J., Casimiro, T., 2011. Development of 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate-based molecular recognition devices for controlled drug delivery using supercritical fluid technology. *International Journal of Pharmaceutics* 416, 61–68.
- Sokker, H.H., Ghaffar, A.M.A., Gad, Y.H., Aly, A.S., 2009a. Synthesis and characterization of hydrogels based on grafted chitosan for the controlled drug release. *Carbohydrate Polymers* 75, 222–229.
- Sokker, H.H., Badawy, S.M., Zayed, E.M., Eldien, F.A.N., Farag, A.M., 2009b. Radiation-induced grafting of glycidyl methacrylate onto cotton fabric waste and its modification for anchoring hazardous wastes from their solutions. *Journal of Hazardous Materials* 168, 137–144.
- Sokker, H.H., Gad, Y.H., Ismail, S.A., 2012. Synthesis of bifunctional cellulosic adsorbent by radiation induced graft polymerization of glycidyl methacrylate-co-methacrylic acids. *Journal of Applied Polymer Science* 126, E54–E62.
- Steele, T.W.J., Huang, C.L., Widjaja, E., Boey, F.Y.C., Loo, J.S.C., Venkatraman, S.S., 2011. The effect of polyethylene glycol structure on paclitaxel drug release and mechanical properties of PLGA thin films. *Acta Biomaterialia* 7, 1973–1983.
- Sultana, S., Khan, R.A., Shahruzzaman, M., Khan, M.A., Mustafa, A.I., Gafur, M.A., 2010. Effect of gamma radiation on the physico- and thermo-mechanical properties of gelatin-based films using 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 49, 662–671.
- Takacs, E., Wojnarovits, L., Borsa, J., Papp, J., Hargittai, P., Korecz, L., 2005. Modification of cotton-cellulose by preirradiation grafting. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 236, 259–265.

- Takacs, E., Mirzadeh, H., Wojnarovits, L., Borsa, J., Mirzataheri, M., Benke, N., 2007. Comparison of simultaneous and pre-irradiation grafting of N-vinylpyrrolidone to cotton-cellulose. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 265, 217–220.
- Takacs, E., Wojnarovits, L., Borsa, J., Racz, I., 2010. Hydrophilic/hydrophobic character of grafted cellulose. *Radiation Physics and Chemistry* 79, 467–470.
- Taleb, M.F.A., 2008. Radiation synthesis of polyampholytic and reversible pH-responsive hydrogel and its application as drug delivery system. *Polymer Bulletin* 61, 341–351.
- Taleb, M.F.A., Alkahtani, A., Mohamed, S.K., 2015. Radiation synthesis and characterization of sodium alginate/chitosan/hydroxyapatite nanocomposite hydrogels: a drug delivery system for liver cancer. *Polymer Bulletin* 72, 725–742.
- Taskin, G., Sanli, O., Asman, G., 2011. Swelling assisted photografting of itaconic acid onto sodium alginate membranes. *Applied Surface Science* 257, 9444–9450.
- Thakur, V.K., Thakur, M.K., Gupta, R.K., 2013a. Rapid synthesis of graft copolymers from natural cellulose fibers. *Carbohydrate Polymers* 98, 820–828.
- Thakur, V.K., Thakur, M.K., Gupta, R.K., 2013b. Graft copolymers from cellulose: synthesis, characterization and evaluation. *Carbohydrate Polymers* 97, 18–25.
- Thakur, V.K., Singha, A.S., Thakur, M.K., 2014. Pressure induced synthesis of EA grafted *Saccharum cilliarum* fibers. *International Journal of Polymer Materials* 63, 17–22.
- Thakur, M.J., Thakur, V.K., Gupta, R.K., Pappu, A., 2016. Synthesis and applications of biodegradable soy based graft copolymers: a review. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 4, 1–17.
- Thomas, S., Soloman, P.A., Rejini, V.O., 2016. Preparation of chitosan- CMC blends and studies on thermal properties. *Procedia Technology* 24, 721–726.
- Uhriga, D., Mays, J., 2011. Synthesis of well-defined multigraft copolymers. *Polymer Chemistry* 2, 69–76.
- Van de Velde, K., Kiekens, P., 2002. Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. *Polymer Testing* 21, 433–442.
- Van Den Bulcke, A.I., Bogdanov, B., De Rooze, N., Schacht, E.H., Cornelissen, M., Berghmans, H., 2000. Structural and rheological properties of methacrylamide modified gelatin hydrogels. *Biomacromolecules* 1, 31–38.
- Vazquez, B., Gurruchaga, M., Goni, I., 1995. Hydrogels based on graft copolymerization of HEMA/BMA mixtures onto soluble gelatin: swelling behavior. *Polymer* 36, 2311–2314.
- Verma, S.K., Kaur, I., 2012. Gamma-induced polymerization and grafting of a novel phosphorous-, nitrogen-, and sulfur-containing monomer on cotton fabric to impart flame retardancy. *Journal of Applied Polymer Science* 125, 1506–1512.
- Wang, J., Tangkuaram, T., Loyprasert, S., Vazquez-Alvarez, T., Veerasai, W., Kanatharana, P., Thavarungkul, P., 2007. Electrocatalytic detection of insulin at RuOx/carbon nanotube-modified carbon electrodes. *Analytica Chimica Acta* 581, 1–6.
- Wan, Z., Xiong, Z., Ren, H., Huang, Y., Liu, H., Xiong, H., Wu, Y., Han, J., 2011. Graft copolymerization of methyl methacrylate onto bamboo cellulose under microwave irradiation. *Carbohydrate Polymers* 83, 264–269.
- Wojnarovits, L., Földvary, C.M., Takacs, E., 2010. Radiation-induced grafting of cellulose for adsorption of hazardous water pollutants: a review. *Radiation Physics and Chemistry* 79, 848–862.

- Wong, J.Y., Bronzino, J.D., Peterson, D.R., 2013. *Biomaterials – Principles and Practices*, second ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida.
- Xie, X., Wang, R., Li, J., Luo, L., Wen, D., et al., 2009. Fluorocarbon chain end- capped poly(carbonate urethane)s as biomaterials: blood compatibility and chemical stability assessments. *Journal of Biomedical Materials Research Part B* 89, 223–241.
- Xu, L., Sun, J., Zhao, L., 2011. Co-grafting of acrylamide and vinyl imidazole onto EB pre-irradiated silanized silica gel. *Radiation Physics and Chemistry* 80, 1268–1274.
- Yang, J.M., Lin, H.T., Wu, T.H., Chen, C.-C., 2003. Wettability and antibacterial assessment of chitosan containing radiation-induced graft nonwoven fabric of polypropylene-g-acrylic acid. *Journal of Applied Polymer Science* 90, 1331–1336.
- Yigitoglu, M., Aydın, G., Isiklan, N., 2014. Microwave-assisted synthesis of alginate-g-polyvinylpyrrolidone copolymer and its application in controlled drug release. *Polymer Bulletin* 71, 385–414.
- Yu, L., Dean, K., Li, L., 2006. Polymer blends and composites from renewable resources. *Progress in Polymer Science* 31, 576–602.
- Yu, L., He, Y., Bin, L., Yuce, F., 2003. Study of radiation-induced graft copolymerization of butyl acrylate onto chitosan in acetic acid aqueous solution. *Journal of Applied Polymer Science* 90, 2855–2860.
- Zaman, H.U., Khan, M.A., Khan, R.A., 2011. Modification of gelatin films using 2-ethylhexyl acrylate by gamma radiation. *Journal of Thermoplastic Composite Materials* 26, 795–808.
- Zavala-Lagunes, E., Ruiz, J.-C., Varca, G.H.C., Bucio, E., 2016. Synthesis and characterization of stimuli-responsive polypropylene containing N-vinylcaprolactam and N-vinylimidazole obtained by ionizing radiation. *Materials Science and Engineering: C* 67, 353–361.
- Zhao, L., Mitomo, H., Zhai, M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Kume, T., 2003. Synthesis of antibacterial PVA/CM-chitosan blend hydrogels with electron beam irradiation. *Carbohydrate Polymers* 53, 439–446.