

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA



**LIBERACIÓN SOSTENIDA DE ÁCIDO SALICÍLICO A PARTIR DE LA
FUNCIONALIZACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIPROPILENO CON UN
POLÍMERO PRO-FÁRMACO POLI(ÁCIDO METACRILÓILOXI-O-
BENZOICO), PARA POTENCIALES APLICACIONES BIOMÉDICAS**

TESIS

**Que para obtener el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS**

Presenta:

M.C. HÉCTOR ALFONSO MAGAÑA BADILLA

**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. José Manuel Cornejo Bravo**

**CO-DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Emilio Bucio Carrillo**

TIJUANA, B.C.

DICIEMBRE 2017

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FOLIO No. 226

Tijuana, B. C., a 8 de noviembre de 2017

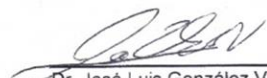
C. Héctor Alfonso Magaña Badilla
Pasante de: Doctor en Ciencias
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por los C. Dres. José Manuel Cornejo Bravo y Emilio Bucio
Carrillo

Quienes serán los responsables de la calidad del trabajo que usted presente,
referido al tema: Liberación sostenida de ácido salicílico a partir de la
funcionalización de películas de polipropileno con un polímero pro-fármaco
poli(ácido metacrililoiloxi-o-benzoico), para potencia es aplicaciones biomédicas
el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

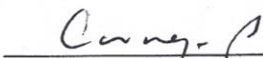
- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- METODOLOGÍA EXPERIMENTAL
- III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- IV.- CONCLUSIONES
- V.- ANEXOS
- VI.- REFERENCIAS


Dr. José Luis González Vázquez
Sub-Director Secretario

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA


Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Director de Tesis


Dr. Emilio Bucio Carrillo
Co-Director


Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

ÍNDICE GENERAL

	Página
Hoja de aprobación	II
Lista de figuras	V
Lista de tablas	VI
Agradecimientos	VIII
Resumen	XI

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

I.1	Antecedentes	2
I.2	Hipótesis	3
I.3	Justificación	3
I.4	Objetivos generales	5
I.5	Objetivos específicos	5
I.6	Marco teórico	6
I.6.1	Macromoléculas	6
I.6.2	Clasificación de polímeros	7
I.6.2.1	Clasificación según su naturaleza	7
I.6.2.2	Clasificación según el método de formación	8
I.6.2.3	Clasificación según su composición química	12
I.6.2.4	Clasificación según la naturaleza de la cadena polimérica	14
I.6.2.5	Clasificación según la respuesta térmica	16
I.6.2.6	Clasificación según el estado físico	16
I.6.3	Radiación y aplicación en biomateriales	17
I.6.3.1	Rayos gamma	18
I.6.3.2	Radiación química de polímeros	19
I.6.3.3	Métodos para obtención de copolímeros	20

I.6.4	Sistemas de liberación controlada de fármacos	23
I.6.4.1	Ventajas y desventajas de la farmacoterapia controlada	26
I.6.4.2	Propiedades para elaboración de sistemas de liberación controlada	26
I.6.5	Biomateriales para la liberación de fármacos	27
I.6.5.1	Polímeros en la liberación de fármacos	27
I.6.5.2	Factores que afectan la liberación del fármaco a través de polímeros	27
I.6.5.3	Polímeros profármacos	29
I.6.5.4	Dispositivo médico / fármaco (productos de combinación)	30
I.6.5.5	Procedimientos para incorporar fármacos	31

CAPÍTULO II METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

II.1	Equipos y reactivos	34
II.2	Síntesis de monómero	36
II.3	Funcionalización de películas de polipropileno (PP-g-2MBA)	37
II.4	Caracterización de películas de polipropileno funcionalizadas (PP-g-2MBA)	38
II.4.1	Análisis de infrarrojo (FTIR-ATR)	38
II.4.2	Análisis de termogravimetría (TGA)	38
II.4.3	Microscopia electrónica de barrido (SEM-EDX) y fluorescencia	38
II.4.4	Ángulo de contacto e hinchamiento límite	39
II.4.5	Estudio de hidrólisis-liberación de ácido salicílico	39
II.4.6	Evaluación de citocompatibilidad	40

CAPÍTULO III	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
CAPÍTULO IV	CONCLUSIONES	64
CAPÍTULO V	ANEXOS	67
CAPÍTULO VI	REFERENCIAS	78

LISTA DE TABLAS

CONTENIDO	Página
Tabla 1. Ejemplificación de polímeros por método de adición.	9
Tabla 2. Asignación de bandas espectroscópicas de infrarrojo para monómero.	44
Tabla 3. Datos espectroscópicos de ^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3) del monómero 2MBA.	45
Tabla 4. Asignación de bandas para películas sintetizadas.	51
Tabla 5. Resultados de análisis termogravimétrico.	52

LISTA DE FIGURAS

CONTENIDO	Página
Figura 1. Descripción de la generación de un polímero.	6
Figura 2. Representación de un polímero de origen natural.	7
Figura 3. Representación de un polímero origen sintético.	7
Figura 4. Representación de un polímero de origen semi-sintético.	8
Figura 5. Fragmentación de iniciador químico.	10
Figura 6. Mecanismo de polimerización por adición.	10
Figura 7. Representación de cadena polimérica de un homopolímero.	12
Figura 8. Cadena polimérica de un copolímero.	12
Figura 9. Representación de copolímero. alternado, aleatorio y en bloque	13
Figura 10. Representación de polímero injertado.	14
Figura 11. Representación de cadenas poliméricas entrecruzadas o reticuladas.	15
Figura 12. Representación de la ionización de un átomo al ser sometido a irradiación.	18
Figura 13. Esquema del decaimiento radiactivo del cobalto 60.	19
Figura 14. Esquema de mecanismo de método directo.	21
Figura 15. Esquema de mecanismo para método de preirradiación.	22
Figura 16. Esquema de mecanismo para método de preirradiación oxidativa.	23
Figura 17. Representación de diferentes tipos de liberación de fármacos.	25
Figura 18. Reacción de síntesis para ácido metacrililoiloxi- <i>o</i> -benzoico.	36
Figura 19. Estructura química de monómero 2MBA.	42
Figura 20. Espectro infrarrojo de 2MBA (ácido metacrililoiloxi- <i>o</i> -benzoico).	43
Figura 21. Espectro RMN-H de 2MBA.	45
Figura 22. Injerto de 2MBA en función de dosis.	46
Figura 23. Injerto de 2MBA en función de temperatura.	47
Figura 24. Injerto de 2MBA en función de concentración de monómero.	48
Figura 25. Injerto de 2MBA en función del tiempo de reacción.	49
Figura 26. FTIR-ATR espectro de PP testigo y PP-g-2MBA.	50
Figura 27. Termograma de PP y PP-g-2MA.	53
Figura 28. Determinación de ángulo de contacto de películas funcionalizadas.	54

Figura 29.	Determinación de hinchamiento límite en películas injertadas.	55
Figura 30.	Corte transversal de película control.	56
Figura 31.	Corte transversal de película PP-g-2MBA 5 %.	56
Figura 32.	Corte transversal de película PP-g-2MBA 38 %.	57
Figura 33.	Microscopias de fluorescencia confocal.	58
Figura 34.	Fluorescencia de PP testigo y PP-g-2MBA.	58
Figura 35.	Espectro de masas de ácido salicílico.	59
Figura 36.	Proceso de hidrólisis-liberación de ácido salicílico	60
Figura 37.	Estudio de liberación de ácido salicílico.	61
Figura 38.	Evaluación de viabilidad celular de películas control e injertadas.	63
Figura 39.	Recta de calibración ácido salicílico pH=5.5 (1-3).	68
Figura 40.	Recta de calibración ácido salicílico pH=5.5 (2-3).	68
Figura 41.	Recta de calibración ácido salicílico pH=5.5 (3-3).	69
Figura 42.	Recta de calibración ácido salicílico pH=7.4 (1-3).	69
Figura 43.	Recta de calibración ácido salicílico pH=7.4 (2-3).	70
Figura 44.	Recta de calibración ácido salicílico pH=7-4 (3-3).	70
Figura 45.	Publicación (1-7)	71
Figura 46.	Publicación (2-7)	72
Figura 47.	Publicación (3-7)	73
Figura 48.	Publicación (4-7)	74
Figura 49.	Publicación (5-7)	75
Figura 50.	Publicación (6-7)	76
Figura 51.	Publicación (7-7)	77

AGRADECIMIENTOS

El éxito de cualquier objetivo o proyecto radica en la visión y la tenacidad de un individuo, son cualidades adquiridas con el tiempo, experiencia y principalmente con el apoyo de la familia. El más grande agradecimiento se lo puedo dar a mis padres Héctor Magaña Calderón y Beatriz Elena Badilla Campos, que a pesar de la adversidad en mi carrera profesional, personal y estudios de posgrado siempre me han brindado soporte, fuerza y voluntad para guiarme por el camino correcto.

Se agradece de manera infinita al Dr. José Manuel Cornejo Bravo, por su confianza, tiempo, apoyo y la inmensa calidad humana para tratar a las personas, así mismo su imprescindible profesionalismo y amistad a través de estos años.

Dr. Emilio Bucio Carrillo, se agradece todo el apoyo brindado en la estancia nacional realizada en el Instituto de Ciencias Nucleares de U.N.A.M., su conocimiento, tiempo, disciplina y excelente disposición al trabajo, me han traído grandes enseñanzas, así mismo por fomentar esta serie de trabajos de investigación.

Dra. Aracely Serrano Medina, su profesionalismo y amistad siempre ha permitido ver lo bueno y lo malo de las cosas y llevarme así por un camino sólido en las perspectivas de la vida laboral y personal.

Dra. Carmen Álvarez Lorenzo y Dr. Ángel Concheiro Nine, se agradece el gran apoyo brindado en la estancia internacional realizada en la Universidad de Santiago de Compostela (España), las enseñanzas y la forma de lograr explotar mis cualidades para alcanzar las metas establecidas.

Agradezco a todos mis compañeros de posgrado que me han apoyado con su amistad y confianza en todo momento, a través de estos años.

Gracias al gran grupo de Biofarmacia, Kenia Palomino, Paola Cervantes, Ayla Vea, Daniela Becerra, Iván Rodríguez y Yuritzzy Vargas, los cuales me han asistido y ayudado en todo momento para concluir con este proyecto. A los tantos académicos, que me dejaron algo positivo, para enfrentar los retos de la vida diaria. Y finalmente a la UABC, que ha sido mi hogar a través de estos últimos 10 años, contribuyendo a mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Se agradece de manera infinita a la Universidad Autónoma de Baja California (U.A.B.C), por brindarme la oportunidad de realizar el estudio de posgrado en este caso doctorado en ciencias; así mismo a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería (F.C.Q.I) y al programa de Posgrado (MYDCI), por las instalaciones y medios para la realización de este proyecto, donde se generó la síntesis del material de estudio en este trabajo y cuantificación del mismo por técnicas espectrofotométricas. A todo el personal de U.A.B.C. que ha sido parte importante para la realización de este proyecto.

Se agradece de igual forma a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), especialmente al Instituto de Ciencias Nucleares (ICN), donde se llevó a cabo la síntesis de diferentes sistemas diseñados, así como técnicas de caracterización realizadas; de la misma forma se agrade al M.C. Benjamín Leal por su apoyo en la irradiación de muestras en el GAMMA-BEAM, al Sr. Martín Cruz y Mat. Enrique Palacios por el apoyo en el área de cómputo.

Finalmente, a la Universidad de Santiago de Compostela (USC), España; donde se llevó a cabo el proceso de caracterización de diversos materiales estudiados, así como técnicas celulares, para determinar biocompatibilidad. Este trabajo fue apoyado por **SEP-CONACYT (CB2017-283558)**, así mismo por **DGAPA-UNAM Proyecto PAPIIT IN201617**.

RESUMEN

En este trabajo de tesis logró reportar la síntesis, caracterización y cuantificación de diferentes sistemas diseñados para la liberación sostenida de ácido salicílico, bajo condiciones fisiológicas de pH y temperatura (*in vitro*). El diseño de sistemas destinados a la liberación de ácido salicílico, se basó en primera instancia en la síntesis del monómero de estudio de este trabajo denominado 2MBA (ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico), el cual fue obtenido mediante la reacción entre ácido salicílico y la 4-dimetil aminopiridina en disolución con trietilamina y diclorometano; finalmente agregando gota a gota el anhídrido metacrílico. Posteriormente se realizó la purificación y caracterización del producto por medio de las técnicas de FTIR-ATR y RMN-H; confirmado la presencia del monómero metacrílico esperado. Se utilizaron películas de polipropileno (PP), las cuales fueron expuestas a irradiación gamma, específicamente con Co⁶⁰ por medio del equipo GAMMA-BEAM, con el objetivo de generar radicales libres en las películas, posteriormente agregando el 2MBA, y bajo factores críticos como dosis de irradiación, concentración de monómero, temperatura, y tiempo de reacción, se logró apreciar el grado de funcionalización o injerto de 2MBA sobre las películas de PP. Los materiales fueron sintetizados con diferentes porcentajes de injerto y fueron debidamente caracterizados con metodologías de FTIR-ATR, TGA, SEM, fluorescencia, ángulo de contacto e hinchamiento límite. Así mismo se logró cuantificar el grado de hidrólisis-liberación de ácido salicílico a pH = 5.5, 7.4, y 37 °C (condiciones fisiológicas simuladas), de películas con diferentes porcentajes de injerto por medio de espectroscopia de UV-vis, y finalmente determinar la biocompatibilidad celular de los materiales.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

I.1 ANTECEDENTES

En los últimos años en la investigación farmacéutica se ha enfocado en el desarrollo de nuevos y sofisticados sistemas de liberación controlada de fármacos, específicamente al diseño y síntesis de materiales inteligentes capaces de responder ante cambios del medio externo (Al-Tahami and Singh, 2007). La ciencia de los biomateriales ha experimentado un espectacular desarrollo a partir de polímeros que permiten la obtención sistemas con aplicaciones avanzadas, surgiendo así una generación cada día más extensa de dispositivos que ofrecen enormes posibilidades de un mayor desarrollo en la esfera biotecnológica (Ward and Georgiou, 2011). De la misma forma este desarrollo en el área de biomateriales con aplicaciones biomédicas, específicamente en dispositivos médicos como implantes, catéteres (Islas et al., 2015), injertos vasculares y suturas (García-Vargas et al., 2014), se ha convertido en parte esencial de la atención médica moderna, desempeñando un papel importante en diversos procedimientos de diagnóstico y tratamiento terapéutico. Sin embargo, un punto crítico de estos biomateriales es la respuesta inflamatoria que puede resultar o efectos secundarios derivados de la adherencia de proteínas y células hospedantes o de la proliferación de microorganismos (Pacelli et al., 2015; Percival et al., 2015). De esta manera las incorporaciones de fármacos a dispositivos médicos, buscan tener como objetivo primordial el obtener sinergias en el rendimiento del dispositivo médico y del fármaco, en particular para mejorar la función del dispositivo con la liberación de fármaco en un área local y tener un posible efecto profiláctico en procesos inflamatorios o bacterianos previamente mencionados (Melendez-Ortiz et al., 2014).

Todos estos desarrollos tecnológicos buscan tener cada vez más una mayor aplicación en el campo biomédico, ingeniería de tejido y el diseño de sistemas de liberación modificada de fármacos o biomoléculas (Ward and Georgiou, 2011).

I.2 HIPÓTESIS

En base a la escasez de biomateriales diseñados a partir de dispositivos médicos y los graves problemas relacionados con procesos inflamatorios e infecciosos en el sitio de implante, se podrían sintetizar sistemas de liberación modificada de analgésicos-antiinflamatorios, basados en matrices de polipropileno (material de uso médico) y un polímero prófarmaco.

I.3 JUSTIFICACIÓN

Debido a que en la actualidad existe un campo muy amplio en el desarrollo y estudio de nuevos biomateriales basados en dispositivos médicos/fármacos, así mismo que los dispositivos implantables se consideran como un refugio para las bacterias oportunistas y son responsables de casi el 50% de todas las infecciones nosocomiales, que están asociadas con una morbilidad y mortalidad considerables (Bose and Ghosh, 2015; Puiu et al., 2016). Aunque el riesgo de infecciones está disminuyendo lentamente debido a la implementación de medidas higiénicas, por contraparte existe cada vez más una creciente población de pacientes con implantes ortopédicos, esto hace considerar que las infecciones siguen siendo muy relevantes considerando las graves consecuencias que pueden tener en el sector salud y costos. Además, los efectos inflamatorios constituyen un riesgo potencial para la degradación del biomaterial y el fracaso clínico del dispositivo médico (Cooper et al., 2015). Actualmente, la mayor parte de dispositivos de liberación de fármacos controlan su liberación de forma pasiva, es decir la velocidad se rige por disolución o difusión a través de depósitos inertes o erosionables (Alvarez-Lorenzo et al., 2010). Sin embargo, el control activo de la cinética de carga y liberación está atrayendo una atención creciente. Los sistemas inteligentes actuales pueden funcionar suministrando el fármaco sólo cuando ocurren ciertos cambios relevantes en el entorno del dispositivo médico, es decir, alteraciones físico-químicas o fisiológicas o adhesión bacteriana (Alvarez-Lorenzo et al., 2016; Zuñiga-Zamorano et al., 2016). En el futuro, incluso podría ser posible diseñar dispositivos que permitan monitorizar el proceso de liberación del fármaco en tiempo real y comunicar el progreso del tratamiento para una regulación por Wireless (Melendez-Ortiz et al., 2015; Pino-Ramos et al., 2016). El presente trabajo tuvo como objetivo el de implementar un injerto o

funcionalización de un derivado de ácido salicílico sobre polipropileno (PP), material comúnmente utilizado para preparar dispositivos médicos (por ejemplo, mallas, suturas y catéteres urinarios). Entre otras muchas técnicas de injerto de polímero, se ha demostrado que el injerto de rayos gamma es muy conveniente para la inmovilización de cadenas de polímero en la superficie y / o en la mayor parte de dispositivos médicos, ya que no requiere iniciadores o catalizadores químicos y puede ser fácilmente implementado a escala industrial. Por lo tanto, en este trabajo se utilizó un polímero profármaco metacrílico derivado del ácido salicílico (ácido metacriloiloxi-o-benzoico o 2MBA) que cuenta en su estructura química un grupo ester hidrolizable. Se llevó a cabo el injerto de polímero de dicho derivado aplicando un método de pre-irradiación oxidativa, y se evaluó el efecto de la temperatura, tiempo de reacción y concentración de monómero sobre el porcentaje de injerto. Finalmente se estudió la cinética de liberación de ácido salicílico en diversos medios de pH, y se realizaron pruebas de citocompatibilidad.

I.4 OBJETIVO GENERAL

Sintetizar sistemas poliméricos basados en películas de polipropileno y un polímero profármaco poli(2MBA), mediante un proceso de polimerización por injerto utilizando irradiación gamma, para la evaluación de posibles candidatos como sistemas de liberación de fármacos, como estrategias de profilaxis ante procesos inflamatorios, consecuentes de la utilización de dispositivos médicos implantables.

I.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar el monómero ácido metacriloiloxi-o-benzoico (2MBA).
- Caracterizar el ácido metacriloiloxi-o-benzoico, por medio de espectroscopia FTIR-ATR y RMN-H
- Funcionalizar películas de polipropileno con ácido metacriloiloxi-o-benzoico mediante una polimerización por método de injerto dependientes de factores de temperatura, tiempo de reacción, concentración y dosis.
- Caracterizar los materiales sintetizados por medio de FTIR-ATR, TGA, SEM-EDX, fluorescencia, ángulo de contacto e hinchamiento.
- Cuantificar el grado de hidrólisis-liberación de ácido salicílico de los materiales sintetizados por medio de espectrofotometría de UV-vis.
- Realizar pruebas de biocompatibilidad a materiales sintetizados.

I.6 MARCO TEÓRICO

I.6.1 MACROMOLÉCULAS

En la actualidad todo en nuestro entorno está hecho a base de polímeros (electrodomésticos, muebles, computadoras, automóviles), y estos tienen una gran importancia en todas nuestras actividades cotidianas. Los polímeros son macromoléculas los cuales que están constituidas por unidades repetitivas denominadas monómeros (Figura 1).

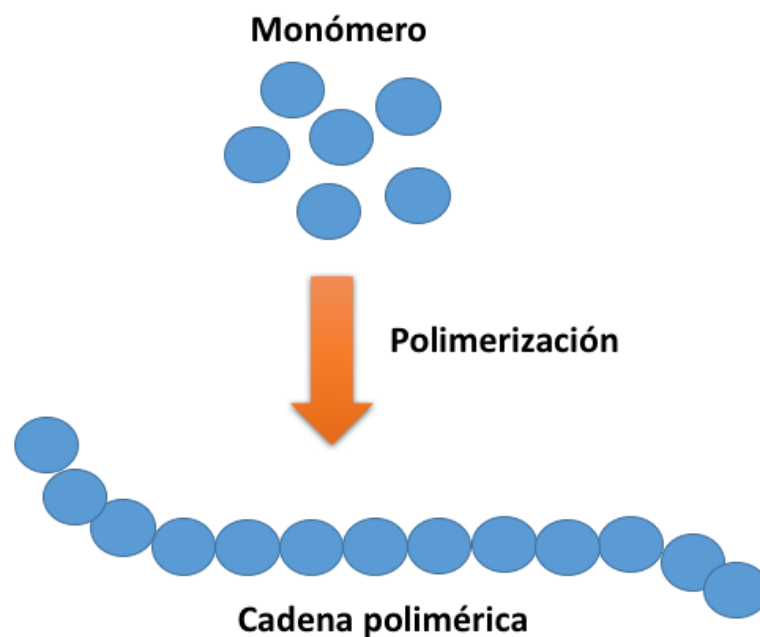


Figura 1. Descripción de la generación de un polímero.

El número de unidades monoméricas suele ser grande y variable, cada muestra de un polímero es característicamente una mezcla de moléculas con diferentes pesos moleculares (Verheyen et al., 2017).

I.6.2 CLASIFICACIÓN DE POLÍMEROS

Los polímeros pueden clasificarse de varias maneras; por su origen, estructura, los tipos de reacciones por las que se preparan, sus propiedades y sus usos tecnológicos. En la naturaleza podemos encontrar polímeros de origen natural, sintético y semi-sintético (Maitz et al., 2015).

I.6.2.1 CLASIFICACIÓN SEGÚN SU NATURALEZA

Polímeros naturales: Aquellos que se encuentran y tiene en su totalidad un origen natural, tales como proteínas y polisacáridos (almidón y celulosa). En el cuerpo humano podemos encontrar una gran variedad de polímeros naturales, tales como proteínas y ácidos nucleicos.

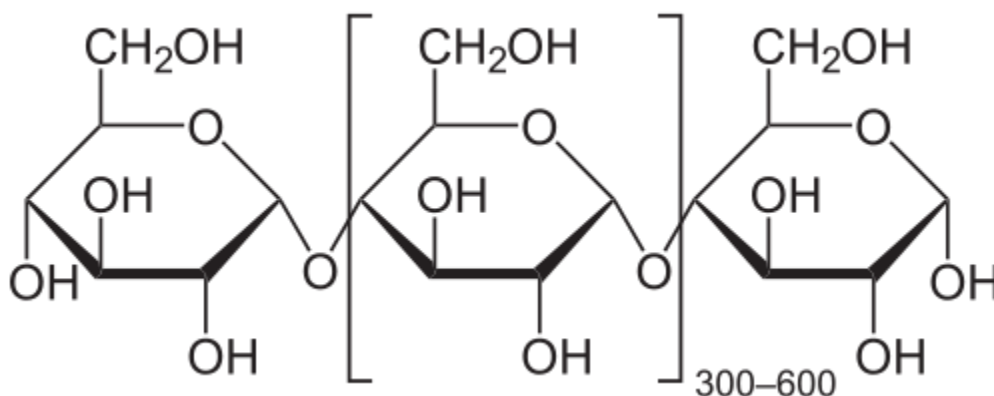


Figura 2. Representación de un polímero de origen natural.

Polímeros sintéticos: Aquellos que fueron diseñados y/o elaborados en su totalidad por un proceso industrial en laboratorio. En su mayoría para la obtención de plásticos en el cual se utilizan polímeros como polipropileno, polietileno y poliestireno (Figura 3).

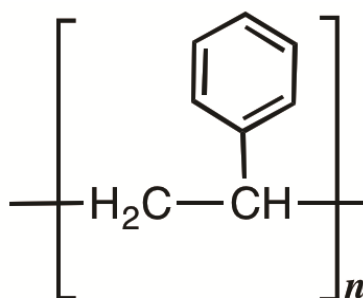


Figura 3. Representación de un polímero origen sintético.

Polímeros semi-sintéticos: Son todos aquellos que tenían un origen natural, pero en el laboratorio químico fueron rediseñados o modificados para mejorar sus propiedades fisicoquímicas. El caucho natural es un ejemplo puntal, en el cuál es caucho es mezclado con azufre y a altas temperaturas se logra concentrar el proceso de polimerización y obtener el material denominado vulcanización o caucho sintético; otro ejemplo es el Nylon (Figura 4). (Poole-Warren and Patton, 2015).

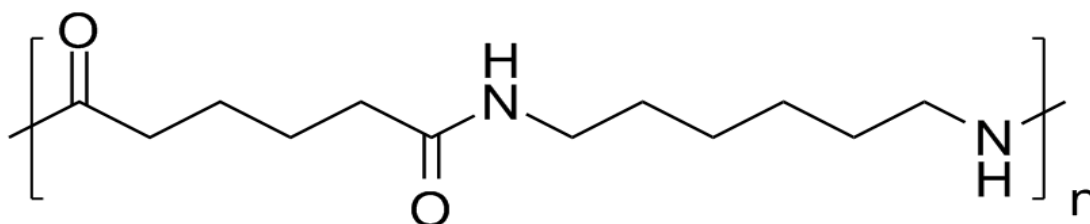


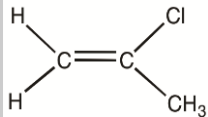
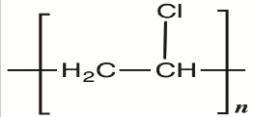
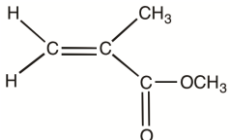
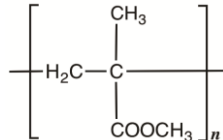
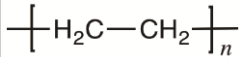
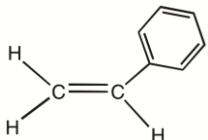
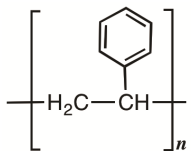
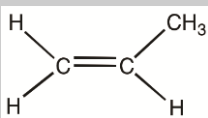
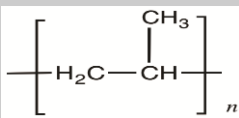
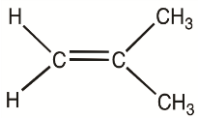
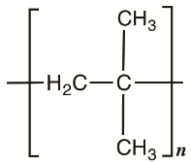
Figura 4. Representación de un polímero de origen semi-sintético.

1.6.2.2 CLASIFICACIÓN SEGÚN EL MÉTODO DE FORMACIÓN

a) Polímeros por método de adición: Estos conocidos como “polímeros de crecimiento en cadena”, se obtienen por medio de la adición de una molécula a una correspondiente cadena de polímero en crecimiento, en el cual se emplean intermediarios reactivos o llamados iniciadores químicos. Estos últimos pueden ser origen catiónico, aniónico o radical. El mecanismo de síntesis de estos polímeros implica la adición en un extremo reactivo en la cadena en crecimiento sobre el doble enlace o grupo vinílico del monómero. En la Tabla 1 se observan algunos polímeros comerciales sintetizados por el método de adición, así mismo su aplicación, estructura monomérica y unidad repetitiva del polímero.

Polimerización radicalaria: Esta consiste al calentar un monómero o alqueno, junto con un iniciador químico. El mecanismo de esta reacción es de tipo cinética y se divide en tres etapas: a) Iniciación, b) propagación y c) terminación (Moad et al., 2008). Esta polimerización de crecimiento se basa, en que el iniciador se divide o se fragmenta de manera homolítica o heterolítica para formar dos radicales. Uno de estos dos radicales se adiciona al monómero sobre el área vinílica, para así iniciar el crecimiento de la cadena polimérica (Figura 5).

Tabla 1. Ejemplificación de polímeros por método de adición.

Polímero	Aplicación	Estructura de monómero	Unidad repetitiva del polímero
Poli(cloruro de vinilo)	Plásticos vinílicos, películas, cañerías de agua.		
Poli(metacrilato de metilo)	Fibras acrílicas y pinturas.		
Polietileno	Bolsas, botellas, películas.		
Poliestireno	Plásticos y espumas aislantes.		
Polipropileno	Plásticos y fibras.		
Poli(isobutileno)	Caucho especializado		

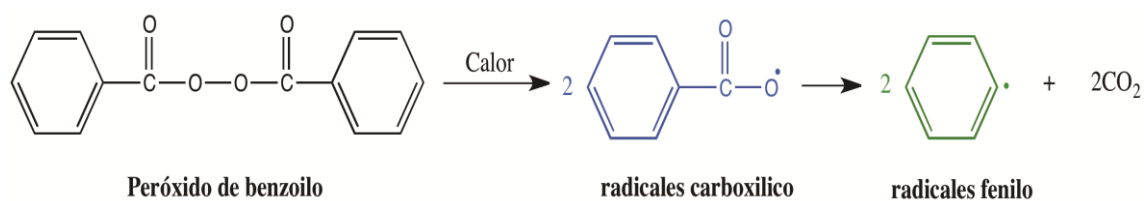
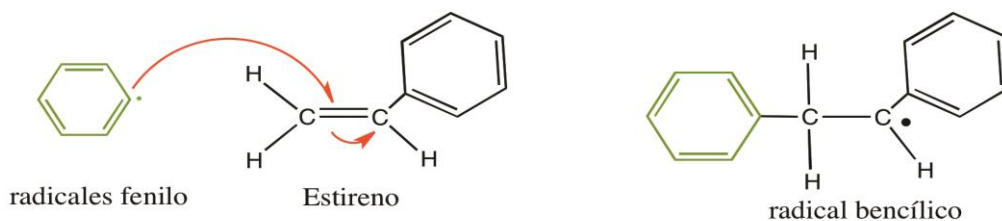


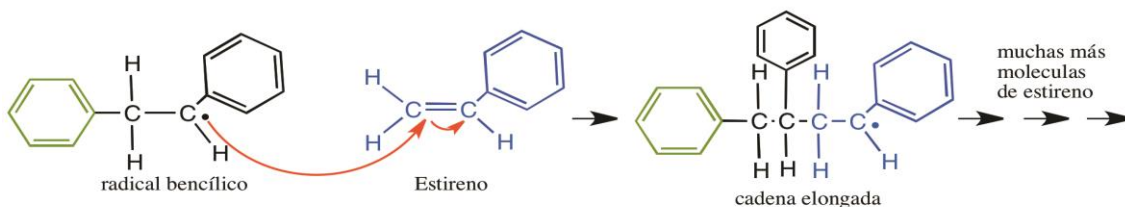
Figura 5. Fragmentación de iniciador químico.

Posteriormente se continúa con un proceso de propagación o de crecimiento, en el cual se adicionan cientos o miles de unidades del monómero, a una unidad creciente. Finalmente se concluye con una etapa de terminación, dada por impurezas como el oxígeno, agotamiento de la unidad monomérica o acoplamiento de dos cadenas crecientes. En la Figura 6, se puede apreciar claramente el mecanismo previamente descrito.

Paso de iniciación: el iniciador reacciona con el monómero para comenzar la cadena.



Paso de propagación: Se añade otra molécula de monómero a la cadena.



Paso de terminación: Se encuentran dos cadenas radicalarias crecientes.

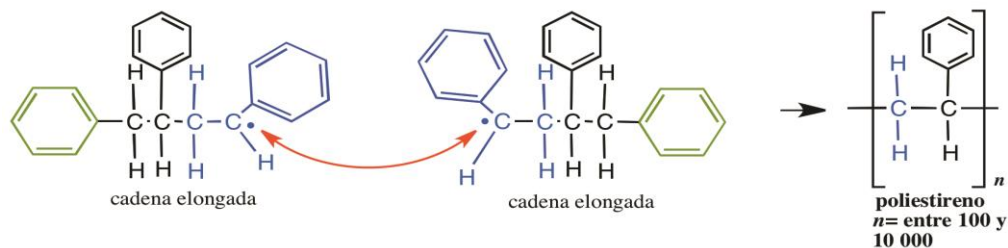


Figura 6. Mecanismo de polimerización por adición.

La longitud del polímero o peso molecular dependerá, de la cantidad de adiciones sufridas en el crecimiento de la cadena, hasta su etapa de terminación.

Polimerización catiónica: Este mecanismo es muy parecido al comentado previamente (radicalario), en el cual se utilizan carbocationes como radicales o intermediarios (BF_3 , TiCl_4), así mismo co-catalizador en este caso el agua, ácidos o alcoholes, en el cual su objetivo de ceder un protón al monómero (carbocatión). Una de las grandes diferencias en esta polimerización, es que se necesita un monómero que pueda formar un carbocatión estable, y así iniciar el crecimiento de la cadena, propagación y terminación.

Polimerización aniónica: Esta polimerización de cadena en crecimiento, se basa en que un monómero produzca un carbanión en el extremo de la cadena creciente. El monómero debe contar con un grupo sustractor de electrones fuerte (nitro, ciano o carbonilo), una vez formado este anión estabilizado se da la fase de propagación y terminación de una polimerización por adición clásica.

b) Polímeros por de condensación: Conocida como polimerización de crecimiento por pasos, este tipo de polimerización se obtiene a partir de la reacción de condensación intermolecular entre grupos reactivos apropiados como amidas o ésteres ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NCO}$, etc.) de monómeros bifuncionales o polifuncionales se llaman polímeros de condensación.

La polimerización se produce por etapas, usualmente con la eliminación de un subproducto pequeño y la formación de un enlace condensado en cada etapa. Tales polímeros junto con el enlace C-C en la cadena principal también contienen enlaces a través de O, N, S, etc. en posición regular. Los polímeros de este tipo con una cadena principal que consta de diferentes tipos de átomos o enlaces. Los poliésteres, poliamidas, poliuretanos, etc. son ejemplos de tales polímeros. De acuerdo con la clasificación basada en el mecanismo de polimerización, los polímeros de adición y condensación se pueden denominar polímeros de cadena y de paso, respectivamente (Verheyen et al., 2017).

I.6.2.3 CLASIFICACIÓN SEGÚN SU COMPOSICIÓN QUÍMICA

De acuerdo a la composición química, los polímeros se pueden clasificar como homopolímeros y copolímeros. Los polímeros, cuya cadena completa está constituida por la repetición de un tipo de monómero, es decir, los polímeros con unidades repetidas idénticas se conocen como homopolímeros (Figura 7). Ejemplos son poliestireno, poliacrilonitrilo, acetato de polivinilo, etc.

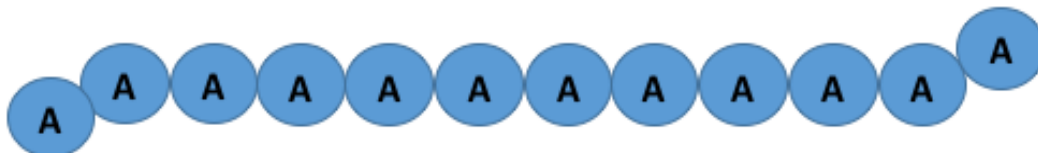


Figura 7. Representación de cadena polimérica de un homopolímero.

Por otro lado, los polímeros que están constituidos por la repetición de más de un tipo de unidades monómero se denominan copolímeros. Un ejemplo sería el copolímero de estireno-butadieno, consideremos dos tipos de monómeros (A y B) estos representados en la Figura 8.

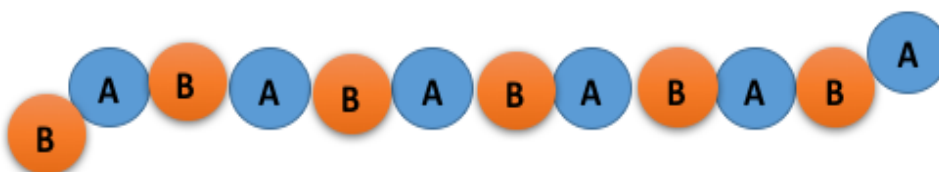


Figura 8. Cadena polimérica de un copolímero.

Ahora, los copolímeros se pueden clasificar adicionalmente como copolímeros aleatorios, alternados, en bloques y en injerto dependiendo de la distribución de las unidades monoméricas A y B en la cadena principal (Figura 9).

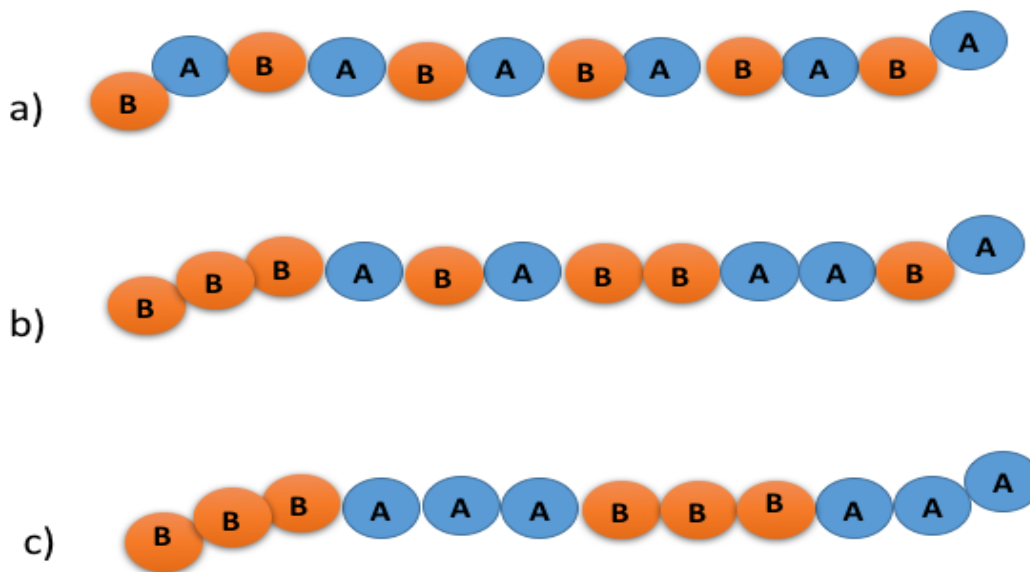


Figura 9. Representación de copolímero a) alternado b) aleatorio c) bloque.

Cuando dos tipos de unidades monoméricas están unidas de manera irregular en la cadena de copolímero, el copolímero se denomina copolímero aleatorio.

Cuando dos tipos diferentes de unidades de monómero están unidos en la posición se denomina copolímero alterno. Los copolímeros de bloques se definen como los copolímeros que tienen una secuencia (bloque) relativa larga de unidad de monómero idéntica seguida por un bloque de otra unidad de monómero que a su vez está seguida por un bloque de primera unidad y así sucesivamente. Los copolímeros de estructuras ramificadas que tienen una cadena principal con un tipo de monómero y las ramas con el segundo tipo de unidad de monómero se conocen como copolímeros de injerto.

En este caso, un copolímero de injerto (Figura 10) tiene ramas de cadena polimérica de B que emanan de diferentes puntos a lo largo de la longitud del polímero de cadena principal A (Huang and Turner, 2016).

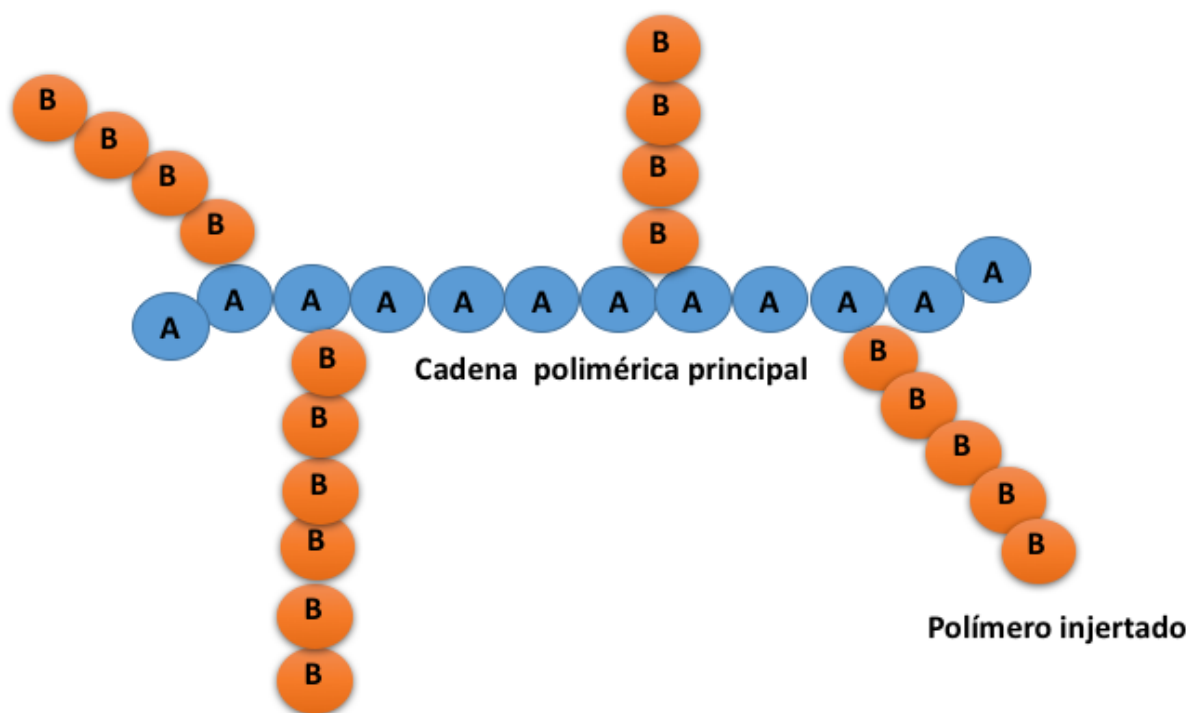


Figura 10. Representación de polímero injertado.

I.6.2.4 CLASIFICACIÓN SEGÚN LA NATURALEZA DE LA CADENA POLIMÉRICA

De acuerdo con la naturaleza de las cadenas poliméricas / enlaces monoméricos, los polímeros se clasifican como polímeros lineales, ramificados y reticulados (Figura 11).

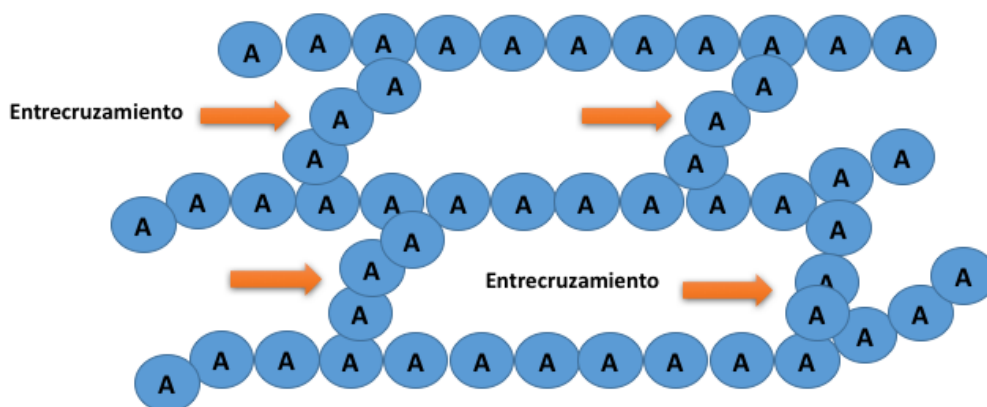


Figura 11. Representación de cadenas poliméricas entrecruzadas o reticuladas.

Los polímeros en los que los monómeros están unidos entre sí en una longitud continua se llaman polímeros lineales. Sin embargo, los polímeros que tienen ramas laterales del monómero unido en la cadena principal se llaman polímeros ramificados. Un copolímero de injerto puede denominarse polímero ramificado en el que las cadenas laterales (cadenas injertadas) son diferentes de la cadena principal. Dependiendo de la naturaleza de la ramificación, los polímeros ramificados pueden clasificarse además como estructura ramificada en forma de peine, estructura dendrítica y estructura ramificada en estrella. Un polímero de peine consta de una cadena principal con ramificaciones lineales y que tiene dos o más puntos de derivación que están conectados de tres vías.

Por otra parte, una molécula de polímero de cepillo consiste en una cadena principal con ramificaciones lineales y que tiene uno o más de los puntos de ramificación que tiene funcionalidad de cuatro vías o más grande. En la estructura denominada dendrímero la cadena principal se designan como ramas primarias, las ramas de una rama pueden llamarse ramas secundarias.

Por lo tanto, tantas ramificaciones primarias como secundarias están presentes en los polímeros ramificados dendríticos. Se dice que un polímero está reticulado cuando moléculas de cadena individuales están unidas entre sí en diferentes puntos; reticulación que forma la estructura de la red, por lo tanto el polímero entrelazado se denomina también red polimérica. En una red de polímeros, todas las cadenas de polímero están interconectadas para formar una entidad macroscópica única mediante reticulación (Briscoe et al., 2014).

I.6.2.5 CLASIFICACIÓN SEGÚN LA RESPUESTA TÉRMICA

De acuerdo con la respuesta al calor, los polímeros se clasifican como polímeros termoplásticos y termoestables.

Polímeros termoplásticos: Se denominan a aquellos polímeros que se ablandan al calentar y se endurecen al enfriarse de forma reversible.

Polímeros termoestables: Son aquellos que al calentarse sufren algunas reacciones químicas (por ejemplo, reticulación) que conducen a una estructura de red tridimensional de masa infusible e insoluble.

Ejemplos de polímeros termoplásticos son polietileno, polipropileno, poliestireno, o cloruro de polivinilo. Mientras que los polímeros termoestables son resina de fenol-formaldehído, resina de urea-formaldehído, etc. La propiedad de incrementar la plasticidad (es decir solidificación y recuperar sus propiedades originales en refrigeración) tiene la ventaja en el procesamiento de polímeros termoplásticos. Si se da una nueva forma durante el calentamiento en el moldeo, la forma se retiene durante el enfriamiento. Este proceso puede repetirse sin ningún cambio apreciable en las propiedades físicas y mecánicas. Sin embargo, en el caso de polímeros termoestables una vez que la estructura de red se ha fijado debido a la reticulación, no se pueden suavizar y remodelar mediante la aplicación de calor y presión. Los termoestables son termoplásticos inicialmente antes de la reticulación (Gong et al., 2016).

I.6.2.6 CLASIFICACIÓN SEGÚN EL ESTADO FÍSICO

Según los estados físicos, los polímeros pueden clasificarse como polímeros cristalinos amorfos, semi-cristalinos, cristal-líquido.

Polímeros amorfos: El término amorfo indica generalmente la ausencia de forma (morfología) o en este caso implica la ausencia del arreglo regular característico (orden). En este estado, las cadenas poliméricas permanecen en una configuración aleatoria. Muchos polímeros comerciales existen exclusivamente en el estado amorfo.

Polímeros cristalinos: Por otra parte, el término cristalino se utiliza para indicar la región ordenada. Los polímeros completamente cristalinos raramente se obtienen.

Polímeros semi-cristalinos: El término semi-cristalino se utiliza para referirse a polímeros que son parcialmente cristalinos y parcialmente amorfos. Casi todos los polímeros son parcialmente cristalinos o semi-cristalinos. Sin embargo, los polímeros que tienen más de 60% de cristalinidad son comúnmente llamados polímeros cristalinos.

Polímeros cristal líquido: El término cristal líquido se introduce para referirse a materiales que poseen orden intermedio, es decir, exhibe tanto las propiedades de flujo de un líquido como la anisotropía de un cristal sólido. Los cristales de polímero líquido se asocian con cadenas que son básicamente rígidas, más comúnmente como resultado de la presencia de anillos aromáticos, por ejemplo, poliamidas aromática y poliésteres (Qian et al., 2016).

I.6.3 RADIACIÓN Y APLICACIÓN EN BIOMATERIALES

El proceso de radiación de materiales poliméricos tiene como fin en la mayoría de los casos mejorar propiedades de polímeros con fines industriales. La principal fuente de irradiación para el propósito de la modificación es la utilización de rayos gamma (γ) procedentes de isótopos radiactivos tales como Co-60 (^{60}Co), así mismo el uso de electrones acelerados (e-beam), y rayos X. Los rayos γ , haces de electrones y los rayos X tienen diferencias importantes, pero en todos los casos existe transferencia de energía a los átomos del material irradiado. Cuando la transferencia de energía es más alta que un electrón orbital particular, el electrón es expulsado y el átomo está ionizado (Figura 12).

Cuando la energía no es lo suficientemente alta para la ionización, el electrón se eleva a un nivel de energía superior, dando como resultado una excitación (Venturi and D'Angelantonio, 2017).

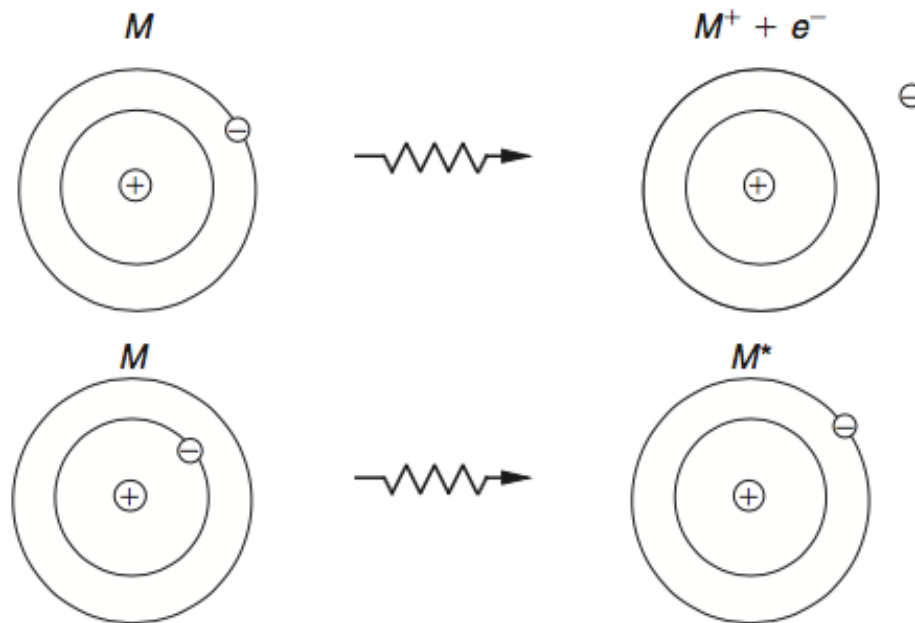


Figura 12. Representación de la ionización de un átomo al ser sometido a irradiación.

I.6.3.1 RAYOS GAMMA

Como radiación electromagnética de alta energía, los rayos gamma generados por la desintegración radiactiva interactúan con las moléculas de la materia que irradian a través de los electrones secundarios. La energía típica de los rayos γ es de unos cientos de electrones voltios (eV), superior a la energía de la luz ultravioleta (UV) y ligeramente superior a la de los rayos X. Los rayos γ ionizan la materia mediante tres procesos principales: el efecto fotoeléctrico, la dispersión de Compton y la producción de pares.

En el amplio rango de energía de 100 a 1 MeV, la dispersión de Compton es el principal mecanismo de absorción, en el que un γ -fotón incidente pierde suficiente energía para expulsar un electrón en un átomo de la materia irradiada y el resto de su energía se emite como un nuevo γ -fotón con menor energía.

Aunque la descomposición de otros isótopos, como el cesio-137 (^{137}Cs), también produce rayos γ , el ^{60}Co es la fuente de radiación más comúnmente utilizada para la industria (Figura 13).

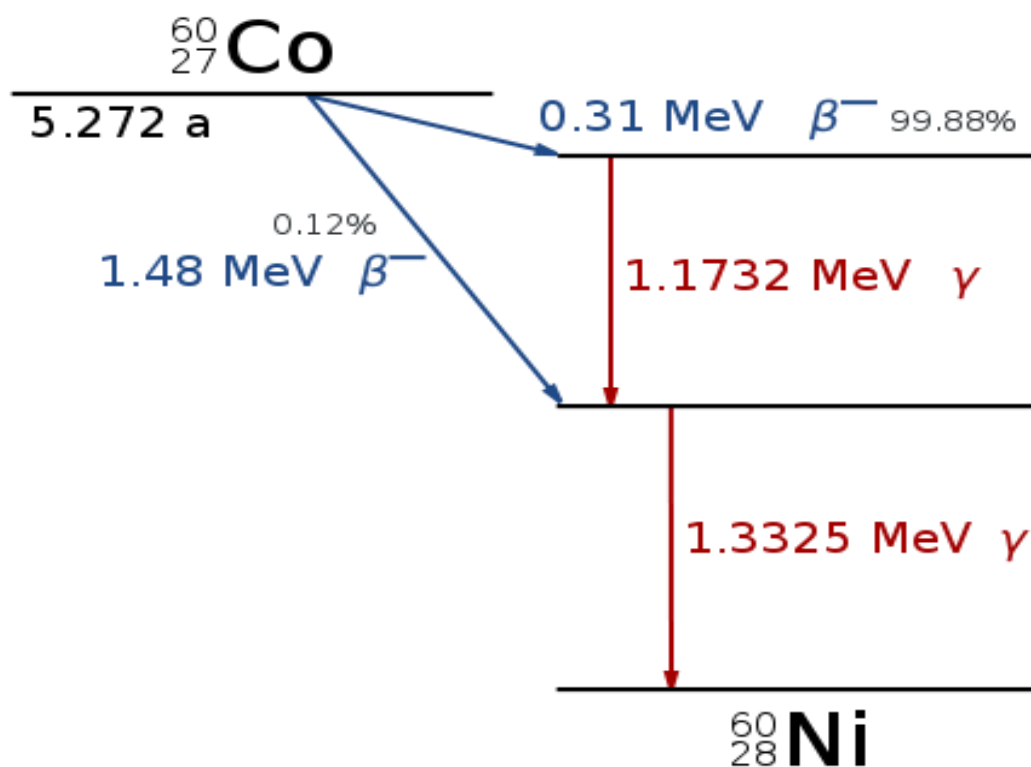


Figura 13. Esquema del decaimiento radiactivo del cobalto 60.

Las balas o pastillas radioactivas de ^{60}Co se fabrican a partir de polvos sinterizados del isótopo estable del cobalto-59 mediante soldadura y luego reacción nuclear (durante un período de 18 a 24 meses) mediante la absorción de neutrones en un reactor de energía nuclear.

Las bolas o pastillas se encapsulan en pequeños cilindros de acero resistentes a la corrosión para hacer "lápices" de origen, que pueden transportarse con seguridad en contenedores de acero inoxidable más grandes, que protegen la radiación (Lopez-Saucedo et al., 2017).

I.6.3.2 RADIACIÓN QUÍMICA DE POLÍMEROS

Las principales interacciones de la radiación ionizante con los polímeros incluyen ionización, excitación, estabilización de electrones, neutralización de iones y radicales libres. Los radicales libres se crean ya sea por escisión de la cadena polimérica principal o a través de la disociación de la cadena lateral

C-H. Las reacciones siguientes a la generación de radicales libres incluyen la extracción de hidrógeno, la adición al doble enlace, la recombinación (reticulación o ramificación), la escisión de cadena, la oxidación y finalmente el proceso de injerto.

I.6.3.3 MÉTODOS PARA OBTENCIÓN DE COPOLÍMEROS

Cuando la radiación de un rayo γ , haz de electrones o fuente de rayos X interactúa con un material polimérico, su energía es absorbida por el material polimérico y se producen especies activas tales como radicales. Los procesos fundamentales que son resultados de estas reacciones incluyen reticulación, en la que se unen las cadenas de polímero y donde se reduce el peso molecular del polímero, así mismo las cadenas del polímero reaccionan con oxígeno del ambiente para formación de peróxidos, donde un nuevo monómero se polimeriza y se injerta sobre la cadena base de polímero (Chapiro et al., 1977).

Todos los procesos anteriores se pueden obtener a través de tres diferentes metodologías, así mismo la elección del método depende de la reactividad y las características físicas y químicas de la matriz polimérica y de los monómeros a injertar:

1) Método directo

2) Método de pre irradiación oxidativa

3) Método de pre irradiación

Método directo: El monómero y el polímero se irradian simultáneamente para crear los radicales que están iniciando la polimerización (Figura 14). La radiación crea sitios activos en ambos por lo que se pueden obtener elevados porcentajes de injerto.

En este método predomina la formación del homopolímero, aunque se puede minimizar la formación modificando las condiciones de reacción como las intensidades de radiación a las que se somete, disminuyendo la concentración del monómero o adicionando inhibidores al sistema (Melendez-Ortiz et al., 2015). Generalmente, éste método es adecuado para matrices poliméricas que son sensibles a la radiación y monómeros con baja reactividad para evitar que predomine la homopolimerización.

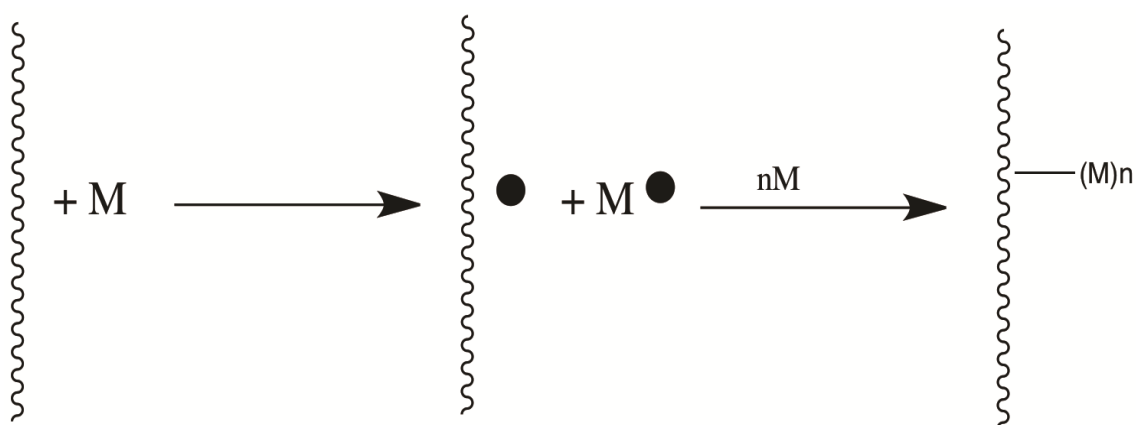


Figura 14. Esquema de mecanismo de método directo.

Método pre irradiación: La matriz polimérica es irradiada en ausencia de aire (al vacío o en presencia de gases inertes), la radiación provoca la formación de especies ionizadas que formarán radicales libres (Figura 15), los cuales reaccionarán con el monómero adicionado, normalmente a temperatura altas. Éste método es adecuado para polímeros semi-cristalinos que pueden crear sitios activos en sus partes cristalinas. Hay poca formación de homopolímero, aunque los porcentajes de injerto son regularmente bajos (Venturi and D'Angelantonio, 2017).

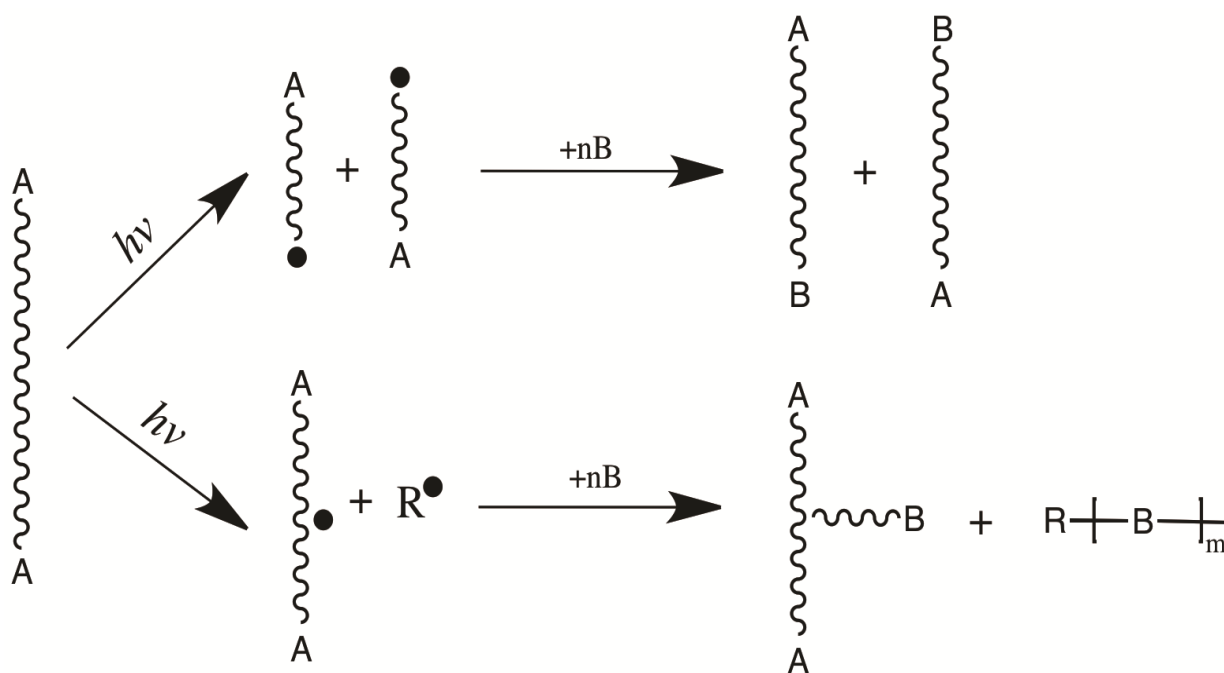
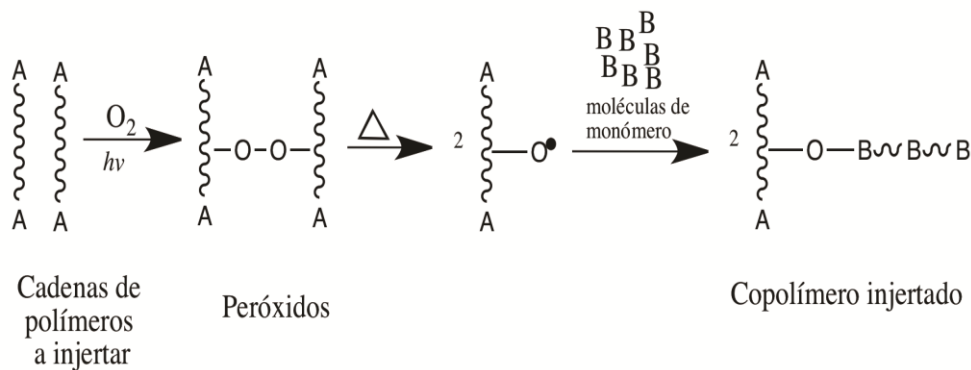


Figura 15. Esquema de mecanismo para método de preirradiación.

Método preirradiación oxidativa: La matriz polimérica es irradiada en presencia de aire, los radicales libres formados, reaccionarán con el oxígeno, lo que formará hidroperóxidos y alquilperóxidos. Éstas especies reaccionarán posteriormente con el monómero adicionado en ausencia de oxígeno a altas temperaturas. Los porcentajes de injerto que se obtengan dependerán de las condiciones experimentales como la dosis de irradiación, el tiempo de reacción y la temperatura. Una de las ventajas de éste método es que se reduce la formación de homopolímero (Figura 16). Su principal desventaja es que puede haber degradación de la matriz polimérica.

Formación de peróxidos



Formación de hidroperóxidos

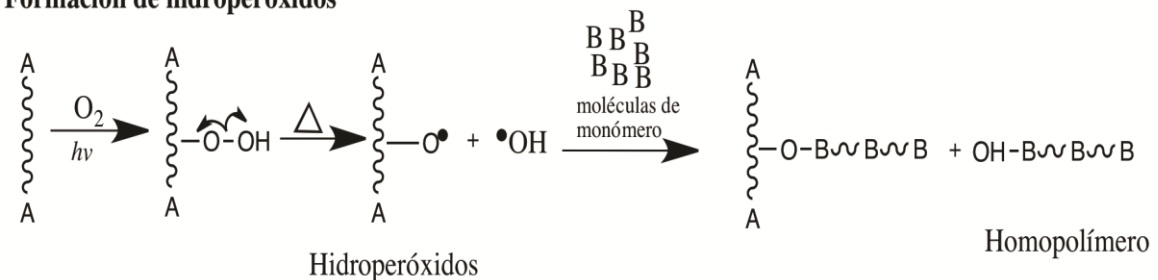


Figura 16. Esquema de mecanismo para método de preirradiación oxidativa.

I.6.4 SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA DE FÁRMACOS

Los sistemas de suministros de fármacos por liberación modificada o controlada pueden dividirse en cuatro categorías:

1. Liberación retardada
2. Liberación sostenida
3. Liberación en el sitio específico blanco

El objetivo de cualquier sistema de liberación de fármacos consiste en suministrar una cantidad terapéutica de fármaco al sitio apropiado del organismo, con lo que se alcance rápidamente la concentración de fármaco deseada y luego sea mantenida. Es decir, el sistema de liberación de fármacos debería suministrar fármaco a una velocidad determinada por las necesidades del organismo en un periodo estipulado de tratamiento. Este objetivo ideal apunta a los dos aspectos más importantes en la liberación de fármacos, especialmente, la ubicación espacial y la liberación temporal de un fármaco.

Liberación espacial se refiere a la orientación de un fármaco hacia un órgano o tejido específico.

Liberación temporal se refiere al control de la velocidad de liberación controlada de fármacos hacia el tejido blanco.

Un sistema de liberación controlada de fármaco apropiadamente diseñado puede ser una gran contribución para resolver estos dos problemas.

Las formas de **liberación controlada** permiten la prolongación del tiempo de cesión del principio activo, a partir de la forma de dosificación, como sucede en la concepción clásica (prolongada o sostenida) y, además, controlan su liberación para que ésta se realice de acuerdo con una cinética preestablecida y reproducible. En otras palabras, consigue una mayor duración de los niveles plasmáticos eficaces y una liberación del principio activo perfectamente definida y reproducible.

Liberación prolongada: Tras la liberación inmediata de una dosis inicial de principio activo continúa liberando cantidades que aseguran niveles plasmáticos terapéuticos durante al menos 6-8 horas.

Liberación retardada: El fármaco se libera en un momento posterior después de la administración. La acción retardada se logra mediante la incorporación de una capa especial, tal como recubrimiento entérico, u otras barreras de tiempo tales como el tratamiento con formaldehído de cápsulas de gelatina blandas y duras. Los efectos de tales preparaciones son para prevenir los efectos secundarios relacionados con la presencia de fármacos en el estómago, proteger el medicamento de la degradación en el pH altamente ácido del jugo gástrico.

Liberación sostenida: Los sistemas de liberación sostenida involucran a cualquier sistema de suministro de fármacos con el que se obtenga una liberación lenta del fármaco en un periodo extenso. Después de la cesión inicial de fármaco la liberación se prolonga durante un tiempo relativamente largo, normalmente 24 horas.

Liberación repetida: Una dosis del fármaco inicialmente se libera inmediatamente después de la administración, que es generalmente equivalente a una dosis única de la formulación del fármaco convencional. Después de un cierto período de tiempo, una dosis única segunda se libera.

En un poco de preparación, una tercera dosis única se libera después de un cierto período de tiempo, tras la segunda dosis. La principal ventaja es que proporciona la oportunidad de suministrar dosis adicionales sin la necesidad de re-administración.

Ejemplo de estos sistemas son los microgránulos o pellets encapsulados, con diferentes velocidades de liberación del activo en función del tipo de recubrimiento que tengan (Figura 17) (Rodríguez, I.C Cerezo, A Salem, 2000)

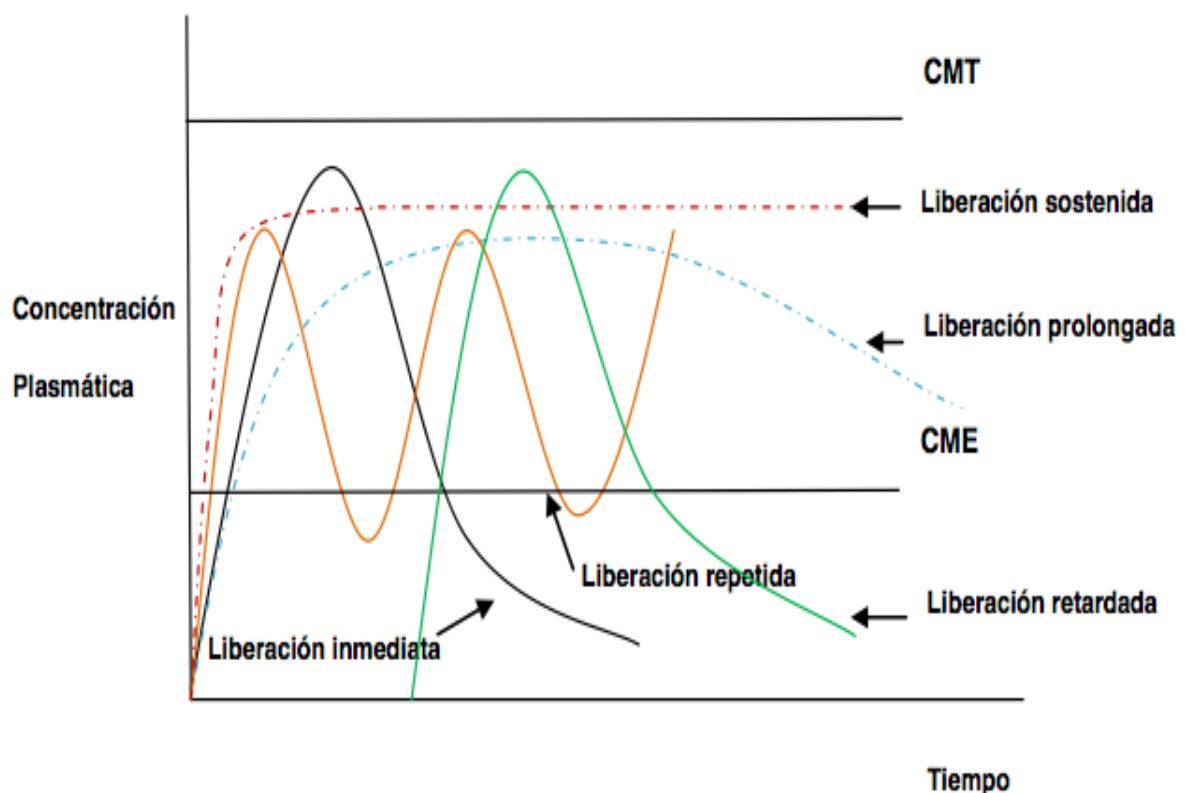


Figura 17. Representación de diferentes tipos de liberación de fármacos.

I.6.4.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS POTENCIALES DE LA FARMACOTERAPIA CONTROLADA

Ventajas:

- Minimizar o eliminar los efectos adversos locales y sistémicos.
- Reducir la frecuencia de administración y la fluctuación de la concentración plasmática terapéutica.
- Reducir al mínimo la acumulación del fármaco con la administración crónica.
- Mejora la eficiencia en el tratamiento terapéutico o condiciones de control más rápidamente.
- Mejora la biodisponibilidad de algunos fármacos.
- Economía.

Desventajas:

- Vaciado de la dosis (dumping).
- La toxicidad puede ocurrir si el sistema falla.
- Se reduce la posibilidad de ajustes de dosis exactas.
- Necesidad de la educación adicional del paciente.
- No permite la terminación inmediata de la terapia con medicamentos.
- No se puede ejercer ningún control una vez que la forma de dosificación se administra.

I.6.4.2 PROPIEDADES PARA ELABORACIÓN DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

La creación de sistemas de suministro de fármacos de liberación controlada se ve sujeta a diversas variables de considerable importancia. Estas incluyen la vía de administración del fármaco, el tipo de sistema de liberación, la enfermedad a la que está siendo tratada, el paciente, la duración de la terapia y las propiedades del fármaco. Es conveniente conocer las propiedades del fármaco para una buena selección en la elaboración del sistema, así como de polímeros retardantes junto con los excipientes de relleno, que tendrán un impacto sobre el mecanismo, liberación, propiedades fisicoquímicas como biológicas del fármaco.

I.6.5. BIOMATERIALES PARA LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

I.6.5.1 POLÍMEROS EN LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Se ha desarrollado una amplia gama de mecanismos para conseguir la administración de fármacos utilizando polímeros. Esta diversidad es una consecuencia necesaria de diferentes fármacos imponiendo diversas restricciones sobre el tipo de sistema de administración empleado. Por ejemplo, un fármaco que se va a liberar durante un período prolongado en el estómago de un paciente en el que el pH es ácido y las condiciones ambientales fluctúan ampliamente requerirá un sistema de liberación controlada muy diferente del de un fármaco que se va a administrar de una manera pulsátil dentro del sistema sanguíneo. Una consideración importante en el diseño de polímeros para cualquier sistema de administración de fármacos es el destino del polímero después de la liberación del fármaco (Bajpai et al., 2008).

Los polímeros que se excretan naturalmente del cuerpo son deseables para muchos sistemas de administración de fármacos. Estos polímeros pueden ser excretados directamente a través de los riñones o pueden ser biodegradados en moléculas más pequeñas que luego son excretadas. Polímeros no degradables son aceptables en aplicaciones en las que el sistema de suministro puede ser recuperado o retirado después de la liberación del fármaco (por ejemplo, retirada del parche o injerto) o para aplicaciones orales donde el polímero se elimina como tal a través del tracto gastrointestinal. Es también necesario entender que los diferentes mecanismos de liberación controlada requieren polímeros con una variedad de propiedades fisicoquímicas. Este requisito ha estimulado la evolución de nuevos polímeros. Antes de considerar estos polímeros, es necesario entender los mecanismos principales de suministro de fármacos poliméricos (Fleige et al., 2012).

I.6.5.2 FACTORES QUE AFECTAN LA LIBERACIÓN DEL FÁRMACO A TRAVÉS DE POLÍMEROS

Para el desarrollo de varios dispositivos de suministro de fármacos, es esencial predecir la liberación del fármaco a partir de estos dispositivos y comprender el mecanismo responsable. La liberación del fármaco de los dispositivos depende

generalmente de las propiedades fisicoquímicas de los polímeros y del medio fisiológico. Los posibles factores que pueden ser perjudiciales para la liberación del fármaco a partir del polímero son: el entorno en el que se libera el fármaco, la difusión desde el dispositivo de suministro de fármacos, naturaleza química (hidrófila o hidrófoba) del dispositivo, algunos otros aspectos importantes incluyen la distribución del fármaco en el sistema de suministro polimérico, su comportamiento de disolución o disolución y la solubilidad del fármaco que afecta a la cinética de liberación del fármaco a partir de matrices poliméricas hidrofílicas. (Merkle et al., 2015) El tamaño de partícula de fármaco es otra variable importante para fármacos moderadamente solubles tales como diclofenaco e indometacina.

Las características de liberación del fármaco de una formulación se pueden ajustar eligiendo un polímero de la viscosidad deseada o mezclando diferentes grados de viscosidad de un polímero particular tal como hidroxipropilmetil celulosa (HPMC). El aumento del peso molecular del polímero puede retardar la liberación del fármaco disminuyendo su difusión a través de la matriz polimérica o membrana. Además, la alteración de la proporción de polímero y fármaco en la formulación puede facilitar la liberación del fármaco desde los sistemas poliméricos de suministro de fármacos.

Combinación de polímeros tales como la combinación de polímeros hidrófobos con polímeros hidrófilos para comprobar el efecto de liberación de rápida debido a la hidratación del polímero hidrófilo. La relación de copolímero también afecta a la cinética de liberación. El direccionamiento de fármacos y la liberación controlada pueden conseguirse mediante fijaciones de ligandos específicos a los polímeros o utilizando polímeros ya disponibles con arquitectura modificada tales como polímeros de injerto, polímeros en estrella, polímeros ramificados y polímeros de bloques (Bazban-Shotorbani et al., 2017).

Además, incluso la presencia de ciertos excipientes en la formulación usada para diversos fines, por ejemplo, alcohol polivinílico utilizado como estabilizante puede disminuir el efecto de liberaciones rápidas y la presencia de manitol como estabilizador puede aumentar la porosidad del polímero, por consecuencia la cantidad de liberación del activo. El método de fabricar el

sistema de suministro de fármacos poliméricos y su tamaño de partícula son también factores clave en este aspecto. Por lo tanto, el diseño y la ingeniería de las formulaciones usando polímeros ofrece nuevos métodos de suministro de fármacos de acuerdo con las características de liberación específicas requeridas. Las formulaciones pueden adaptarse de acuerdo con la propiedad requerida, tal como liberación sostenida, liberación retardada, liberación pulsátil o temporizada haciendo una tolerancia para los factores anteriormente mencionados relacionados con polímeros, el fármaco y su entorno de liberación (Alvarez-Lorenzo et al., 2010).

I.6.5.3 POLÍMEROS PROFÁRMACOS

La mejora del índice terapéutico de los fármacos es un importante Innovación en muchas áreas terapéuticas. Los sistemas convencionales de administración de fármacos (comprimidos, cápsulas, píldoras, supositorios, cremas, ungüentos, líquidos, aerosoles e inyectables, como portadores de fármacos) que implican una serie de administraciones no específicas de un fármaco. En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas de suministro de fármacos para mejorar el perfil farmacocinético y farmacodinámico, estos desarrollos se basan en formulaciones hechas a medida del fármaco, como preparaciones liposomales, sistemas de liberación controlada, modificaciones covalentes del fármaco por reactivo de bajo peso molecular o por conjugación polimérica. (Agrawal et al., 2015). Por esta razón los últimos años, los científicos se han centrado en el desarrollo de sistemas de administración de fármacos específicos, con el uso de diversos polímeros, los cuales han mostrado resultados prometedores en esta área. Por lo cual la conjugación de un fármaco con un polímero forma el llamado "polimérico profármaco". Un profármaco es un precursor inactivo de un fármaco, el cual permanece inactivo durante su administración al sitio de acción y que es activado por las condiciones específicas del sitio elegido.

Por lo cuales estos polímeros profármacos fueron diseñados y propuestos como matrices, vehículos o sistemas de depósito para sistemas o dispositivos inyectables o implantables, para posteriormente realizar la liberación del fármaco o proteínas. Es bien sabido que el profármaco polimérico es una

técnica eficaz en aplicaciones terapéuticas, por ejemplo, muestran una vida media prolongada, una mayor estabilidad, solubilidad en agua, menor inmunogenicidad y antigenicidad y una dirección específica a los tejidos o células.

Polímero profármaco puede considerarse como un sistema de administración de fármacos que exhibe sus actividades terapéuticas mediante medios para liberar moléculas de fármacos terapéuticos más pequeños de una molécula de cadena de polímero durante un período prolongado de tiempo que da como resultado un comportamiento farmacocinético mejorado al aumentar el tiempo de vida media, biodisponibilidad y, por lo tanto, prolongada acción farmacológica (Khandare and Minko, 2006).

I.6.5.4 DISPOSITIVO MÉDICO/FÁRMACO (PRODUCTOS DE COMBINACIÓN)

Los fármacos y los dispositivos médicos han seguido típicamente diferentes criterios de desarrollo porque están destinados a perseguir fines diferentes. Se espera que los fármacos ejerzan su efecto terapéutico a nivel local o sistémico a través de ciertas vías biológicas / bioquímicas. Por el contrario, los dispositivos médicos a insertar / implantar en el cuerpo se buscan desempeñar un papel físico en el diagnóstico o la terapia (en algunos casos sólo para facilitar la aplicación de una sonda o la administración de un medicamento) y en la sustitución de un tejido, un órgano o una función del cuerpo.

Por lo tanto, los fármacos y los dispositivos médicos han evolucionado por separado hasta hace unas décadas, cuando el uso combinado se realizó para ofrecer resultados terapéuticos sinérgicos (Desai et al., 2015). Los sistemas que unen el rol de catéter / prótesis y el desempeño de la administración de fármacos pertenecen a la gran familia heterogénea conocida como "productos de combinación".

Aunque algunos productos combinados han estado en el mercado durante varias décadas, en los últimos años se ha implementado una gran cantidad de regulaciones en los EE.UU. y también, aunque con algunas diferencias, en Europa y Asia. En particular, EE.UU. y FDA (Food and drug administration), ha

tenido una Oficina de Productos de Combinación específica desde 2002 y los primeros productos de liberación de fármacos fueron aprobados en 2003.

De acuerdo con los criterios actuales de la FDA, el término producto de combinación incluye: Un producto compuesto por dos o más componentes regulados, es decir, fármaco / dispositivo, biológico / dispositivo, fármaco / biológico o fármaco / dispositivo / biológico, físicamente, químicamente o combinados de otro modo o mezclados y producidos como una entidad única; uno de los productos de combinación pioneros en el campo son parches transdérmicos o un inhalador pulmonar (Amato et al., 2015).

I.6.5.5 PROCEDIMIENTOS PARA INCORPORAR FÁRMACOS

El contacto directo de los dispositivos médicos dentro de las soluciones de fármacos usualmente no da como resultado una carga eficiente / liberación controlada. Por lo tanto, se requieren enfoques específicos para incorporar fármacos y otras sustancias bioactivas.

Dado que la ventaja distintiva de un producto de combinación es trabajar en tándem como sustitución funcional o estructural de prótesis del tejido huésped y como un sistema de suministro de fármaco, la implementación de la característica de liberación de fármaco no debe causar ningún detrimento en su función como dispositivo médico (Ruiz et al., 2008). Por otro lado, para trabajar con competencia como un sistema de administración, los perfiles de liberación de fármacos deben coincidir con el contexto clínico particular, teniendo en cuenta la anatomía y fisiología del sitio de implantación, la enfermedad o el patógeno a tratar, la toxicidad local y los mecanismos de eliminación del fármaco. Los niveles subterapéuticos pueden conducir al fracaso y, en el caso de los fármacos antimicrobianos, incluso provocar eventos adversos como la resistencia microbiana.

El gran número de parámetros de formulación que pueden afectar el éxito del parto y las altas dosis requeridas para permitir la liberación a largo plazo (meses / años) hacen que el diseño de la mayoría de los dispositivos médicos que liberan activos sea más complejo que el de una medicina convencional (Melendez-Ortiz et al., 2015).

Los enfoques para preparar dispositivos médicos que liberan fármacos pueden clasificarse en dos grandes grupos:

- I. La incorporación del fármaco en la mayor parte del material que constituye el dispositivo médico, durante su fabricación o en una etapa posterior.
- II. La incorporación del fármaco en las capas externas del dispositivo por medio de procedimientos de revestimiento, unión covalente o interacciones químicas débiles.

Por lo tanto, en este trabajo se logra reportar el primer producto combinado entre un material de uso en dispositivos médicos y un polímero profármaco, el cual se logra incorporar el polímero de forma covalente sobre la superficie del material y en masa o bulk, presentando un proceso de hidrólisis-liberación sostenida del activo por casi 14 días; condiciones idóneas para materiales implantables que estarán en el paciente por periodos prolongados; de la misma forma se reporta la publicación científica realizada en relación a este proyecto de tesis (Anexo 3).

CAPÍTULO II

EXPERIMENTAL

II.1 EQUIPOS Y REACTIVOS

Equipos

- Agitador magnético VWR Dyla-Dual
- Balanza analítica Denver Instrument M-200
- Potenciómetro HANNA Modelo 2210
- Ultrasonido Branson
- Gammabeam 651 PT (GB 651PT)
- Espectrofotómetro UV/Vis Beckman Coulter DU 520, Single Cell module
- Espectrómetro de Masas, Waters, Xevo TQ-D, Milford, MA.
- TGA Q50 TA Instruments, New Castle.
- Microscopio electrónico de barrido Zeiss EVO LS 15.
- Microscopio de fluorescencia Leica MZ16F.
- Tensiómetro Kruss DSA 100 (Matthews NC, EE.UU).

Reactivos

- Ácido salicílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- 4-Dimetilaminopiridina (Sigma-Aldrich Inc.)
- Anhídrido metacrílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- Cloruro de sodio (NaCl) (J.T. Baker)
- Hidróxido de sodio (NaOH) (J.T. Baker)
- Sulfato de magnesio anhidro (MgSO₄) (Spectrum Chemical Mfg. Corp.)

Disolventes

- Cloroformo (Sigma-Aldrich Inc.)
- Éter etílico (Sigma-Aldrich Inc.)
- Metanol (Sigma-Aldrich Inc.)
- Diclorometano (Sigma-Aldrich Inc.)
- Trietilamina (Sigma-Aldrich Inc.)

Materiales

- Polipropileno (Goodfellow - Huntingdon, UK)
- Vasos de precipitado 250 mL (VWR)
- Vasos de precipitado 100 mL (VWR)
- Matraces volumétricos 10 mL (PYREX)
- Matraz volumétrico 250 mL (PYREX)
- Matraz volumétrico 500 mL (PYREX)
- Matraz bola 100 mL (VWR)
- Matraz bola 250 mL (VWR)
- Matraz Kitazato (ALDRICH)
- Embudo de separación (ALDRICH)
- Probeta graduada 100 mL (PYREX)
- Cajas petri (PYREX)
- Reloj de vidrio (PYREX)

Gases

- Argón grado alta pureza (INFRA S.A. de C.V.)
- Nitrógeno grado alta pureza (INFRA S.A. de C.V.)

II. 2 SÍNTESIS DE MONÓMERO (ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico)

La síntesis del monómero (c), se basa en un proceso de esterificación, el cual consiste en un ataque nucleofílico del oxígeno del grupo hidroxilo del ácido salicílico (a), al carbonilo presente en el anhídrido metacrílico (b), dándose así una exitosa sustitución nucleofílica acídica, mediada por el catalizador utilizado en esta reacción (DMAP), ver Figura 18.

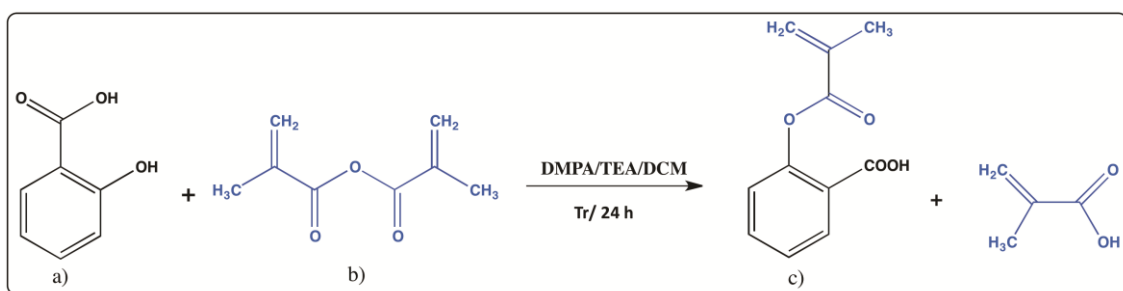


Figura 18. Reacción de síntesis para ácido metacriloiloxi-*o*-benzoico.

La síntesis del monómero (2MBA), se llevó acorde al procedimiento previamente descrito en la literatura (Licea-Claveríe et al., 2003):

1. En un matraz bola de 100 mL se disolvió 6.91 g de ácido salicílico (50 mmol) y 0.49 g (4mmol) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP), en 8.42 mL de trietilamina y 20 mL de diclorometano.
2. En un matraz bola de 100 mL se disolvió 6.91 g de ácido salicílico (50 mmol) y 0.49 g (4mmol) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP), en 8.42 mL de trietilamina y 20 mL de diclorometano.
3. La solución se colocó en un baño de hielo a 0 °C y se mantuvo con agitación constante, hasta garantizar la solubilidad de todos los reactivos sólidos.
4. Enseguida, se adicionó gota por gota 7.50 g de anhídrido metacrílico (50 mmol), utilizando una bomba de adición por un periodo de 3 h.
5. Después se continuó con la agitación por 24 h a temperatura ambiente.
6. La solución se transfirió a un vaso de precipitado de 250 mL y se acidificó con HCl (3 N) hasta un pH=3, conservando la mezcla 0 °C y con agitación constante.

7. El precipitado formado se extrajo con éter etílico, utilizando un embudo de separación de 250 mL; la fase orgánica se lavó con 20 mL de una dilución de HCl y 20 mL de agua destilada.
8. La fase orgánica fue secada utilizando MgSO_4 anhidro, se filtró a vacío y posteriormente cristalizó.
9. El sólido obtenido se lavó con 30 mL de agua a temperatura ambiente y 30 mL a 40 °C, este paso realizando en 3 ocasiones.
10. El producto se purificó por recristalización utilizando metanol.
11. Finalmente la pureza del producto fue evaluada por cromatografía de capa fina (TLC), con una mezcla de éter de petróleo/éter etílico (30:70).
12. El sólido obtenido fue caracterizado por FTIR-ATR y RMN-H.

II.3 FUNCIONALIZACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIPROPILENO (PP-g-2MBA)

1. Se realizó el corte de pedazos o películas de polipropileno (Goodfellow) con una dimensión de 2.5 cm de largo x 1 cm de ancho.
2. Las películas fueron lavadas con etanol por un periodo de 2 h, secadas a vacío y finalmente pesadas.
3. Posteriormente se colocaron las películas de manera individual en ampollitas de vidrio que fueron realizadas bajo un proceso de soplado de vidrio.
4. Las ampollitas fueron irradiadas por el método de pre-irradiación oxidativa, mediante una fuente de Cobalto 60; utilizando una intensidad de 13.5 kGy/h.
5. Se agregó a cada ampollita 5 mL de una solución de tolueno y 2MBA, la cual lograba cubrir por totalidad la película de polipropileno.
6. Todas las ampollitas fueron desgasificadas mediante un proceso de congelación de la solución, así mismo utilizando una línea de vacío.
7. Posteriormente se planificaron los experimentos pertinentes en base a dosis de irradiación, tiempo de reacción, concentración de monómero y temperatura de reacción.

8. Las ampollitas fueron abiertas, las películas removidas y lavadas en tres periodos de 3 h con etanol, para después secarlas en una estufa a vacío a 40 °C.
9. Finalmente el porcentaje de injerto o funcionalización de cada película, se calculó con la siguiente fórmula:

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

donde P_f corresponde al peso final de la película injertada y P_i es el peso inicial de la película.

II.4 CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIPROPILENO FUNCIONALIZADAS (PP-g-2MBA)

II.4.1 ANÁLISIS POR INFRARROJO (FTIR-ATR)

Los análisis correspondientes de espectroscopia de infrarrojo de las diferentes películas funcionalizadas fueron realizados con un equipo Perkin-Elmer Spectrum 100, mediante una celda de reflectancia total atenuada, por su siglas en ingles (ATR) con punta de diamante. Los experimentos fueron realizados en lecturas por 16 escaneos y rango espectral de número de onda de 700 a 4000 cm^{-1} .

II.4.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Los experimentos de análisis térmicos fueron realizados con muestras funcionalizadas (5-10 mg), en un equipo TGA Q50 TA Instruments, New Castle, en un portamuestras de platino y bajo atmósfera de nitrógeno, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min de 25 a 800 °C.

II.4.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM-EDX) y MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

Las superficies de películas funcionalizadas (1 x 0.5 cm), fueron observadas usando un microscopio electrónico de barrido (SEM) operado a 1.5 kV (Zeiss EVO LS 15), acoplado con microanálisis de rayos X (EDX; OxfordIncaX-act, Oxford Instruments, UK). Se utilizó microscopía de fluorescencia (Leica MZ16F) para observar el efecto fluorescente de las películas expuestas a luz UV.

II.4.4 ÁNGULO DE CONTACTO E HINCHAMIENTO LÍMITE

Para los experimentos de ángulo de contacto, se depositaron pequeñas gotas de agua destilada sobre una serie de películas con diferentes porcentajes de injerto, utilizando un equipo Kruss DSA 100 (Matthews NC, EE.UU). Todas las mediciones se realizaron por 5 ocasiones en diferentes puntos de la superficie. Para la evaluación del hinchamiento límite, se utilizaron películas control e injertadas y se colocaron en 20 mL de agua a temperatura ambiente. Las películas se pesaron a diferentes tiempos de muestreo, y el hinchamiento se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \frac{P_H - P_s}{P_s} \times 100$$

donde P_H corresponde al peso de la película hinchada y P_s es el peso de la película seca.

II.4.5 ESTUDIO DE HIDRÓLISIS-LIBERACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO

Se colocaron películas que cubrían una amplia variedad de porcentajes de injerto en viales con etanol durante 1 h y luego se secaron a 40 °C durante 2 h. Las películas se transfirieron a viales con 5 mL de solución tampón de fosfatos pH 7.4 o pH 5.5 y luego se incubaron a 37 °C a 200 rpm en un equipo Mini Shaker VWR (EE.UU.). Se tomaron alícuotas de 1 mL del medio de liberación a diferentes tiempos y se registraron las absorbancias a una longitud de onda de 235 nm utilizando un espectrofotómetro Hach DR 6000 (USA). El medio de liberación se cambió cada cuatro horas durante las primeras 24 h y cada 24 h, esto para evitar un proceso de autocatálisis.

Las rectas de calibración se generaron a partir de concentraciones conocidas de ácido salicílico en sistemas amortiguadores pH= 5.5 y 7.4 (Anexo 1 y 2). Los experimentos se realizaron por triplicado. Además, se analizaron muestras de medio de liberación por medio de espectrometría de masas (Waters, Xevo TQ-D, Milford, MA, EE.UU.). Los espectros de masas de muestra se obtuvieron usando un detector Waters Xevo1 TQD MS / MS equipado con una sonda de electrospray. Las muestras se perfundieron a un caudal de 20 µl / min y los datos se recogieron utilizando el modo ES +. Los espectros se registraron usando un cono y un voltaje capilar de 30 V y 3.21 KV respectivamente, una temperatura de desolvatación de 200 °C y un flujo de gas fuente de 650 Lh⁻¹.

Los datos se analizaron mediante la aplicación de MS Tune del software TargetLynx™ Application Manager (Waters). Los perfiles de liberación se ajustaron a la cinética de orden cero utilizando el software de Excel (Microsoft Office Professional Plus 2010). El contenido de ácido salicílico por gramo de muestra fue estimado de la siguiente forma:

$$\text{Ácido salicílico (mg/g)} = \frac{\text{Injerto}(\%)}{(100 + \text{Injerto}(\%)) \times \text{PM}_{2\text{MBA}}} \times \text{PM}_{\text{Ácido salicílico}} \times 1000$$

$\text{PM}_{2\text{MBA}}$ y $\text{PM}_{\text{Ácido salicílico}}$, corresponden a peso molecular del monómero 2MBA y del ácido salicílico respectivamente.

II.4.6 EVALUACIÓN DE CITOCOMPATIBILIDAD

Se realizaron pruebas de citocompatibilidad utilizando líneas celulares de fibroblastos murinos (Balb 3T3 American Type Culture Collection CCL-163, Manassas, VA, EE.UU.). Se añadieron células Balb 3T3 (200.000 células / mL) en medio DMEM F12 Ham (Sigma Aldrich, EE.UU.), con suplementado con suero bovino fetal al 10% (FBS) y solución antibiótica al 1% (estreptomicina 10000 mg / mL y 10,000 unidades penicilina en NaCl al 0.85%), así mismo se sembraron en placas de 96 pocillos y se incubaron durante 12 h. Se colocaron películas de PP-g-2MBA (0.2 x 0.25 cm²) en pocillos que contenían células y se incubaron a 37°C, 5% de CO₂ y 90% de humedad relativa. Después de 24 h o 5 días, se retiraron las diferentes películas y se utilizó un kit MTT (Roche, Suiza) para cuantificar la proliferación celular. Las células cultivadas con ausencia de películas, se usaron como control negativo. Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado. Las absorbancias (*Abs*) se midieron con un lector de placas ELISA a 550 nm (lector de microplacas 680, BioRad, USA) y se determinó la citocompatibilidad como se muestra a continuación:

$$\text{Citocompatibilidad (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{Muestra}}}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \times 100$$

El efecto del porcentaje de injerto sobre la viabilidad celular fue estadísticamente analizado por medio de ANOVA y prueba de rango múltiple (Statgraphics Centurion XVI 1.15, StatPoint Technologies Inc., Warrenton VA).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 SÍNTESIS DE MONÓMERO

III.1.1 SÍNTESIS DE MONÓMERO 2MBA

El proceso de síntesis del monómero 2MBA se basó en la alta reactividad del catalizador utilizado (DMAP o *N, N'*- dimetilaminopiridina), el cual favoreció al proceso de acilación, siendo un punto crítico en la reacción para dar la formación de la sal (*N*-acilpiridinonio); esta última actúa como un par iónico de alta reactividad para unirse con el metacrilato; por otra parte la trietilamina actuó neutralizando el ácido metacrílico formado. El grupo acilo formado es posteriormente activado para generar por deslocalización de cargas y ser fácilmente atacado por un nucleófilo. Está reportado que anhídridos carboxílicos presentan mejores procesos de acilación que los cloruros de acilo. En la Figura 19, se logra apreciar la estructura química del monómero 2MBA, en el cual se observa la unión de ácido salicílico con el anhídrido metacrílico, con grupos característicos como el ácido carboxílico, anillo aromático, área metacrílica y principalmente grupo éster; este último como indicador del éxito de la síntesis del monómero. Después del proceso de síntesis y extracción del monómero se pudo obtener un sólido blanco, el cual presentó un rendimiento de reacción de 93%; todo lo anterior debido a mantener un goteo lento del anhídrido metacrílico y controlando a temperatura de 0°C.

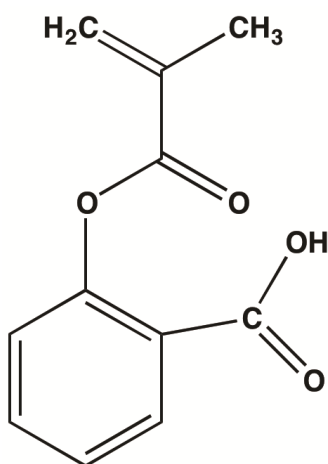


Figura 19. Estructura química de monómero 2MBA.

III.1.2 CARACTERIZACIÓN DE MONÓMERO 2MBA

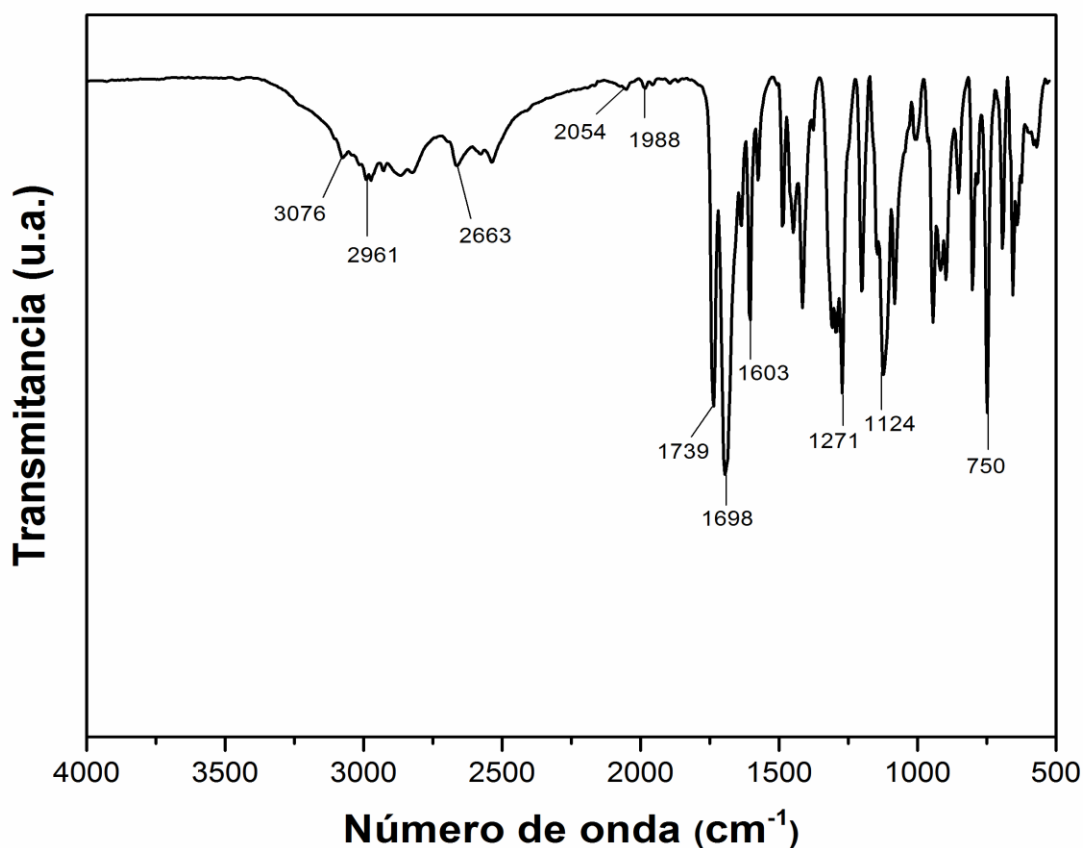


Figura 20. Espectro infrarrojo de 2MBA (ácido metacrililoiloxi-o-benzoico).

La caracterización del monómero se realizó por medio de espectroscopia de infrarrojo y resonancia magnética nuclear de protón; el espectro de infrarrojo realizado (Figura 20), presentó bandas características del monómero a 1739 cm^{-1} la cual hace referencia a la vibración del estiramiento C=O del carbonilo del éster, a 1698 cm^{-1} una banda de la vibración del estiramiento C=O del ácido carboxilo y 1603 cm^{-1} una banda de intensidad media que se asignó al estiramiento C=C de la parte vinílica; así mismo son apreciables bandas como el estiramiento =C-H de la región aromática del monómero a 3076 cm^{-1} y el estiramiento O-H referente al ácido carboxílico a 2663 cm^{-1} , (Tabla 2), todo lo anterior según lo reportado por la literatura (Licea-Claverie et al., 2003).

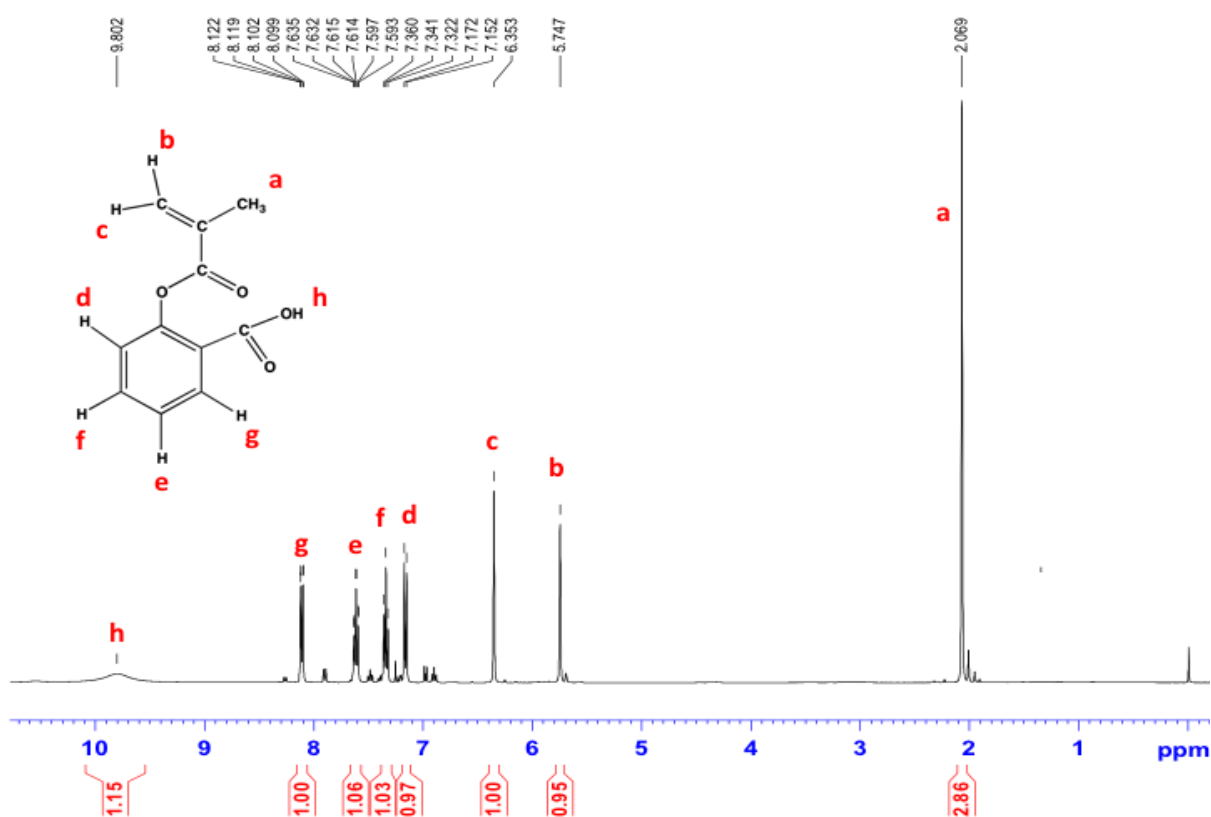
Tabla 2. Asignación de bandas espectroscópicas de infrarrojo para monómero.

Grupo funcional	Frecuencia (cm ⁻¹)
C=O, COOH	1698
C=O, COOR	1739
C-H	2961
=C-H, Aromático	3076
C-O	1271 y 1124
C=C	1603
O-H	3050 - 2500
Orto sustitución	2054 -1998 y 750

Así mismo se apreciaron las señales correspondientes al espectro de H-RMN (Tabla 3.); fue observado un singulete a 9.80 ppm que integra para el protón correspondiente al ácido carboxílico, entre 7.15 y 8.12 ppm multipletes que integran para los 4H de la región aromática del monómero, a 6.35 ppm se observó la un singulete que integra para el protón de la región vinílica que se encuentra próximo al grupo éster, así mismo a 5.74 ppm un singulete que integra para 1H y finalmente un singulete que integra para 3H a 2.06 ppm, correspondientes al metilo de la región vinílica; de esta forma se obtuvo evidencia de que se contaba con un monómero adecuadamente sintetizado y caracterizado (Figura 21).

Tabla 3. Datos espectroscópicos de ^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3) del monómero 2MBA.

	Protón				
	h	g-d	c	b	a
δ ppm	9.80	8.12-7.15	6.35	5.74	2.06
Integración	1H	4H	1H	1H	3H



21. Espectro RMN-H de 2MBA

III.2 SÍNTESIS DE PP-g-2MBA

III.2.1 INJERTO EN FUNCIÓN DE DOSIS

Los correspondientes experimentos de injerto en función de dosis, fueron realizados entre intervalos de 50-250 kGy, a condiciones de 24 h de tiempo de reacción, concentración 1M de 2MBA en solución y 80 °C. Se logró demostrar un incremento en el porcentaje de injerto del monómero (6-17%) sobre la película polimérica, entre rangos de dosis de 50 a 200 kGy (Figura 22). Esto debido a que a mayor exposición de rayos gamma se encuentran las películas de polipropileno, existe un aumento en la formación de peróxidos e hidroperóxidos (sitios activos) sobre las matrices, por consecuente más puntos de iniciación para el injerto de 2MBA (Menhofer and Heusinger, 1987). Películas de PP irradiadas a dosis de 250 kGy, fueron degradadas debido a la alta energía a la que fueron sometidas, por consecuente se descartaron para estudios posteriores.

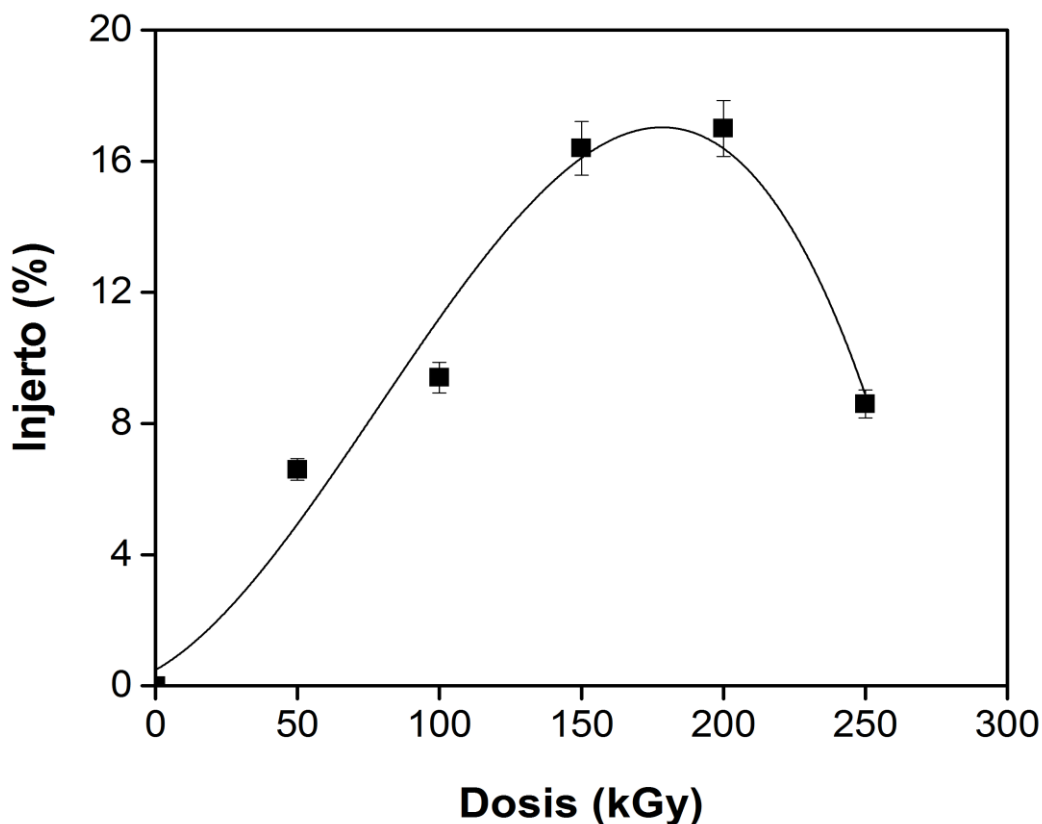


Figura 22. Injerto de 2MBA en función de dosis

III.2.2 INJERTO EN FUNCIÓN DE TEMPERATURA

Experimentos realizados en función de la temperatura, lograron demostrar una correlación con el porcentaje de injerto de 2MBA, en condiciones de reacción de 200 kGy, 40 h de tiempo de reacción y una concentración de monómero en solución de 1M; fueron apreciados injertos inferiores al 2%, en intervalos de temperaturas de 40 a 50 °C. Por otra parte, a temperaturas de reacción superiores a 60 °C, se observó un aumento en el grado de funcionalización de las películas de polipropileno, así mismo una meseta a temperaturas entre 70-80 °C (Figura 23). Todo lo anterior debido a que a partir de 60 °C, inicia el proceso de descomposición térmica de los peróxidos e hidroperóxidos formados durante en la matriz polimérica en el proceso de pre-irradiación, para dar pie a la generación de radicales libres, que a su vez conduce a más puntos de iniciación o sitios de injerto. (Bondar et al., 2004).

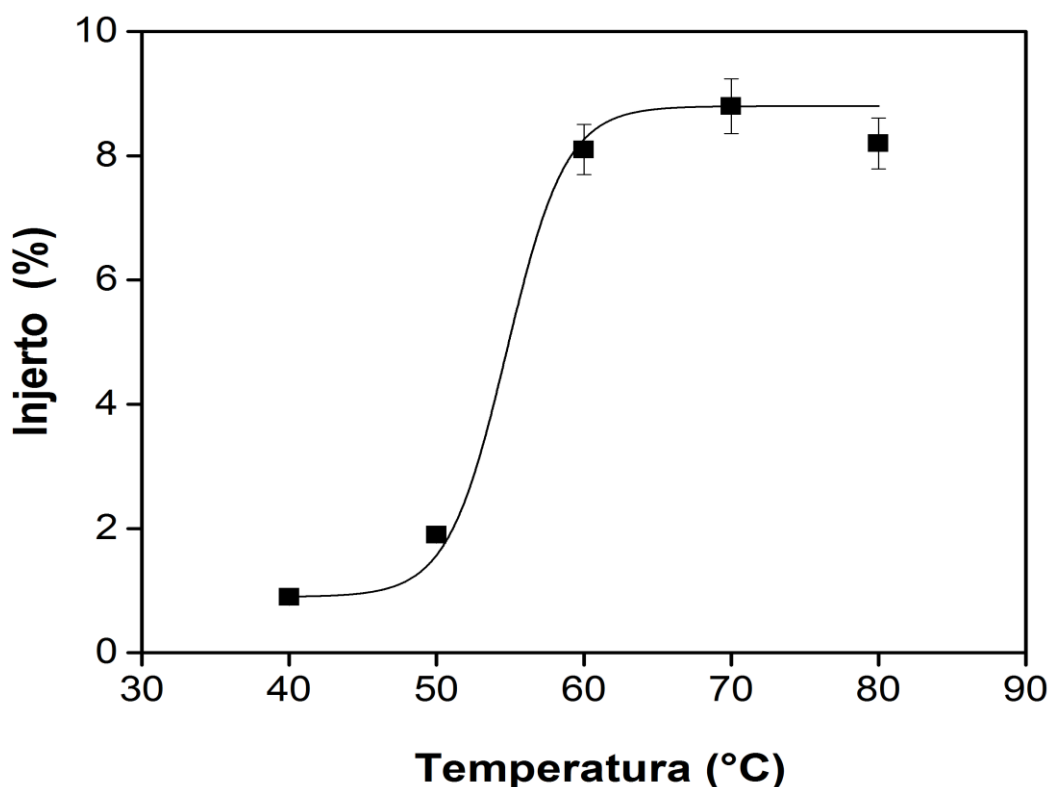


Figura 23. Injerto de 2MBA en función de temperatura

III.2.3 INJERTO EN FUNCIÓN DE CONCENTRACIÓN

En relación a experimentos en función de la concentración de monómero (2MBA), se logró observar un aumento significativo en el porcentaje de injerto a medida que la concentración aumentaba en un intervalo de 0.5 a 3 M (Figura 24). Lo anterior debido a que, con una mayor concentración monómero, se tenía una mayor probabilidad de interactuar o reaccionar, con los sitios activos o radicalarios disponibles en la matriz polimérica, favoreciendo así a un mayor porcentaje de injerto y observando un efecto inverso a concentraciones menores. Películas pre-irradiadas a 200 kGy que se sumergieron en solución de 3 M a 80 °C durante 40 h, representaron los mayores porcentajes de injertos reportados (47%), en el cual se apreció mucha formación de poli(2MBA), atribuido a las altas concentraciones de 2MBA en solución, consecuente a ser más reactivo entre el mismo y así homopolimerizarse.

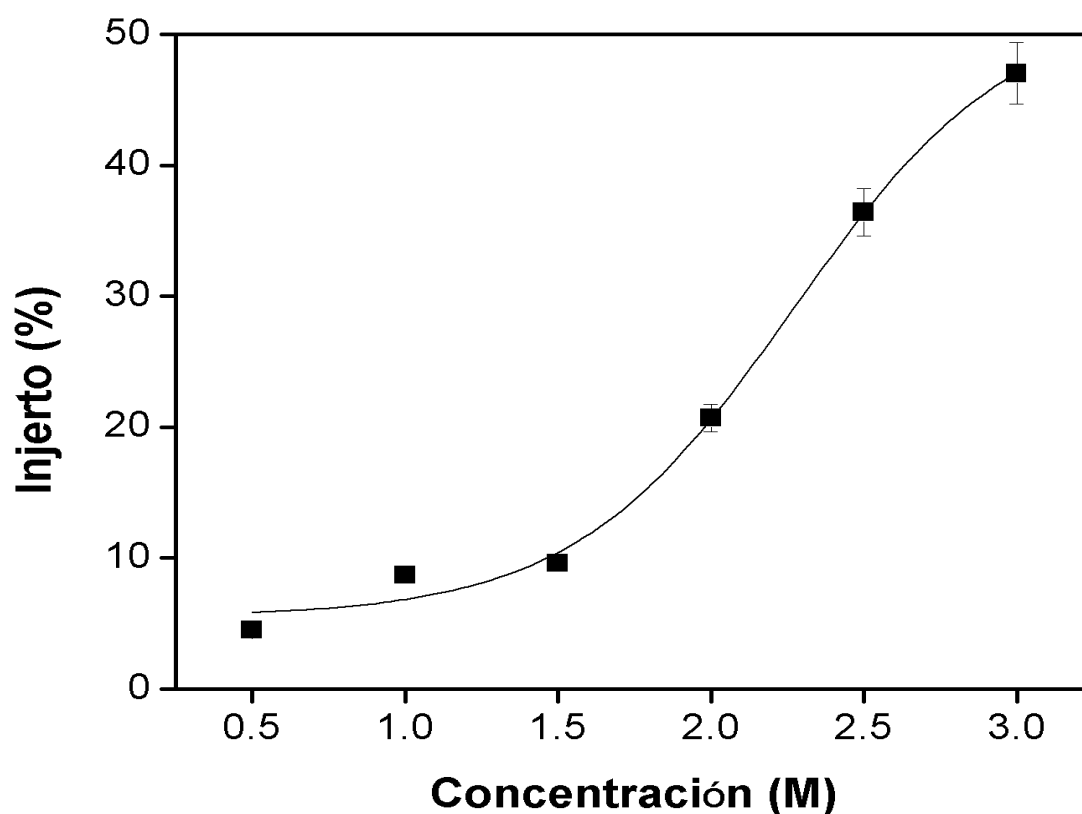


Figura 24. Injerto de 2MBA en función de concentración de monómero.

III.2.4 INJERTO EN FUNCIÓN DE TIEMPO DE REACCIÓN

La serie de experimentos correspondientes al porcentaje de injerto en función al tiempo de reacción, demostró que es otro factor determinante para la funcionalización de las películas de polipropileno; las condiciones para realizar los experimentos fueron a una concentración de monómero al 1 M, dosis de irradiación de 200 kGy y 80 °C. Como se representa en la Figura 25, existió una dependencia del injerto al tiempo de reacción en las primeras 20 h, hasta posteriormente observar una meseta, atribuido principalmente por dos factores;

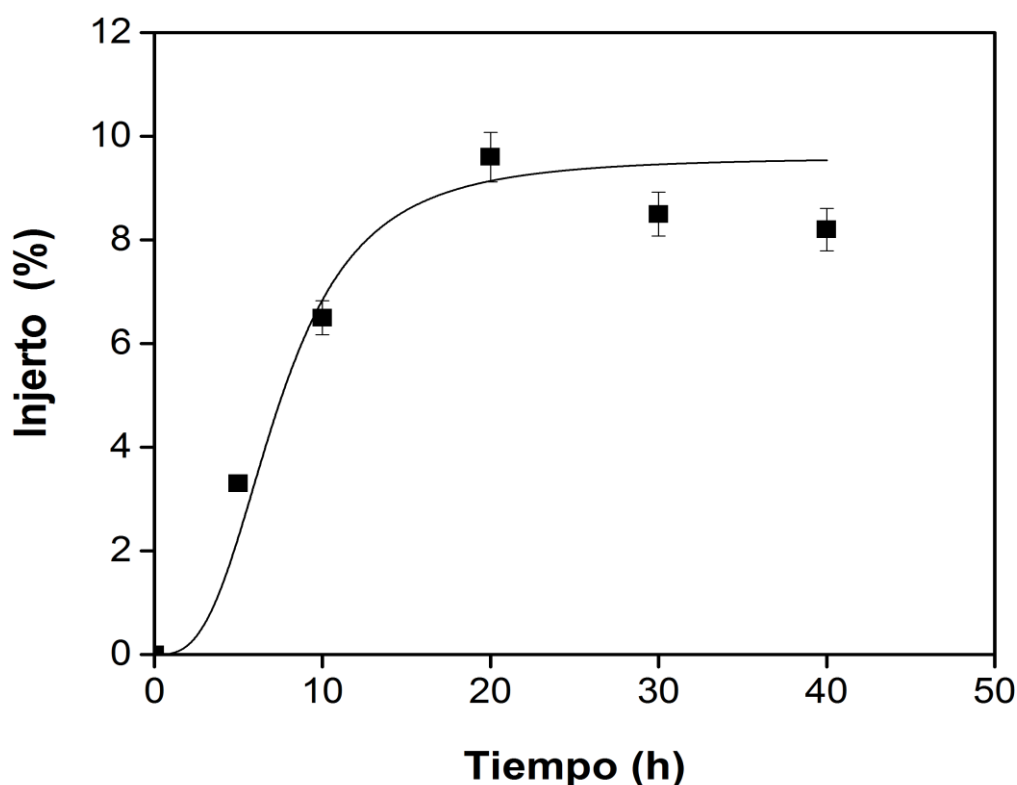


Figura 25. Injerto de 2MBA en función del tiempo de reacción.

el primero debido a que ya no se tenían más radicales disponibles en la superficie de la matriz polimérica (polipropileno), y la segunda a la alta formación de homopolímero que se observó en la solución de reacción, indicando así que ya no había monómero disponible para reaccionar y dar por concluido los experimentos. Es importante recordar, que estos ensayos están altamente relacionados con la temperatura (80 °C), debido a la descomposición térmica de los iniciadores sobre la matriz.

III.3 CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIPROPILENO (PP-g-2MBA)

III.3.1 ANÁLISIS INFRARROJO (FTIR-ATR)

La técnica de espectroscopía de infrarrojo (FTIR-ATR) se utilizó para confirmar la incorporación de 2MBA sobre películas de polipropileno (Figura 26).

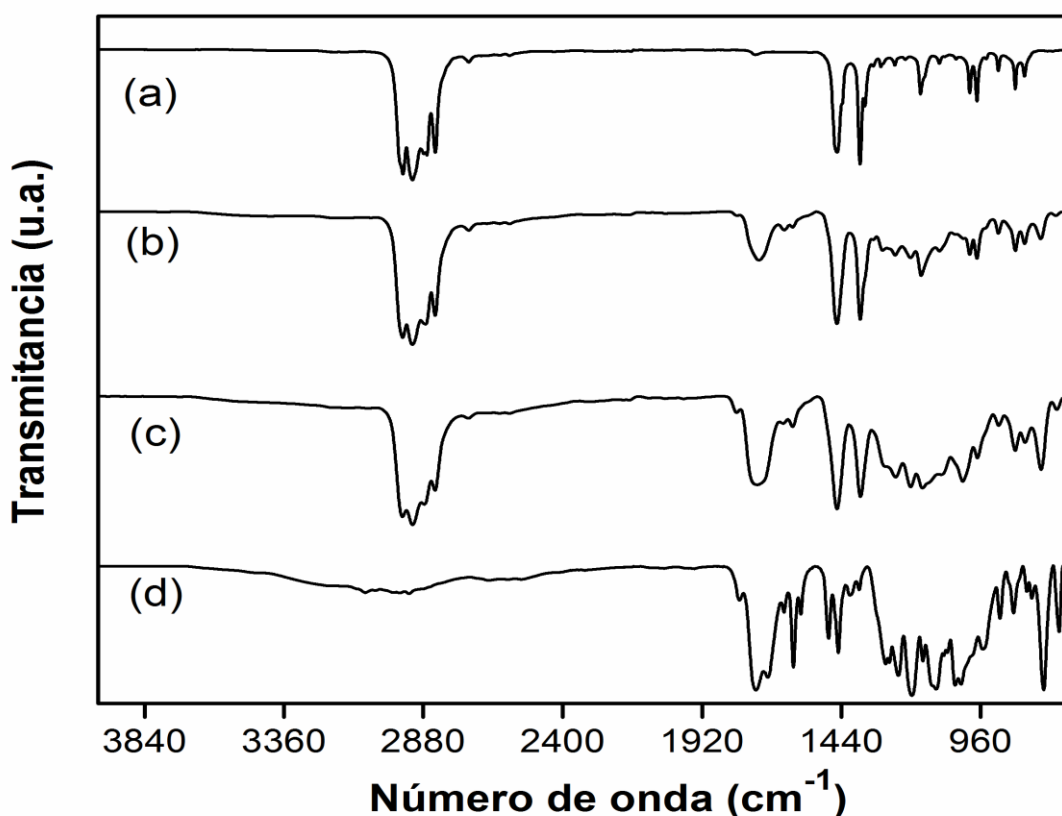


Figura 26. FTIR-ATR espectro de PP testigo (a), PP-g-2MBA 9.6% (b), PP-g-2MBA 20.7% (c), y poli(2MBA) (d)

La Figura 26a corresponde a la película control de PP, la cual mostró bandas características a 2846, 1453 y 1373 cm^{-1} , haciendo referencia a vibraciones de R-C-H, R-CH₂ y R-CH₃. Figura 26d corresponde al homopolímero, que evidencia las señales de los carbonilos (R-C=O) de grupos éster y ácido carboxílico a 1720 y 1698 cm^{-1} , también se observó la banda característica C=C de la región aromática a 1510 cm^{-1} , de la misma forma las señales C-H, CH₂ y CH₃ a 2890, 1452 y 1372 cm^{-1} , así mismo bandas a 1275 y 3425 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento C-O y O-H, de poli(2MBA).

Finalmente las Figuras 26b-c y Tabla 4, hacen referencia a espectros de los copolímeros de películas de PP-g-2MBA con 9.6 y 20.7% de injerto, las cuales mostraron señales características de polipropileno C-H, CH₂ y CH₃ a 2894,1450 y 1371 cm⁻¹, pero también mostraron una vibraciones de los estiramientos de carbonilos (R-C=O) de grupos éster y ácido carboxílico previamente descritos, correspondientes a las cadenas de poli(2MBA). Por lo cual se logra demostrar que la espectroscopia de infrarrojo confirma que el monómero 2MBA fue injertado satisfactoriamente en el polipropileno.

Tabla 4. Asignación de bandas para películas sintetizadas.

<u>Grupo funcional</u>	<u>Material caracterizado/Frecuencia(cm⁻¹)</u>		
	PP	PP-g-2MBA	Poli(2MBA)
C=O, COOH	N/A	1720	1745
C=O, COOR	N/A	1698	1675
C-H	2896	2894	2890
CH₂	1453	1450	1452
CH₃	1373	1371	1372
C-O	N/A	1270	1271
C=C, Aromático	N/A	1508	1510
O-H	N/A	N/A	3425

III.3.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

El análisis térmico fue otra técnica confirmatoria en relación a la funcionalización de las películas, así mismo a la determinación de la resistencia térmica de los materiales diseñados. El termograma de PP control mostró una caída o salto a 455 °C, esta referente a la descomposición de la cadena principal del polímero (Figura 27); de la misma forma se determinó el 10% de pérdida en peso a 428 °C y un residuo de 0.8% a 800 °C (Tabla 5). Películas PP-g-2MBA con injertos de 9.6 y 20.7%, mostraron pérdidas del 10% en peso a 382.9 y 405.3 °C, con residuos del 0.493 y 3.14 % a 800 °C; de la misma forma exhibieron dos descomposiciones (430 y 510 °C). La primera se debe a la descomposición térmica de poli(2MBA) y la segunda referente a PP.

Tabla 5. Resultados de análisis termogravimétrico.

Muestra	Perdida de 10% en peso (°C)	Residuo a 800 °C (%)	Temperatura de descomposición (°C)
<i>PP</i>	428.18	0.807	457.02
<i>PP-g-2MBA 9.6%</i>	382.97	0.493	458.54
<i>PP-g-2MBA 20.7%</i>	405.31	3.147	455.75
<i>PP-g-2MBA 47%</i>	215.22	12.91	455.65
<i>Poli(2MBA)</i>	175.70	8.562	21.32

Poli(2MBA) presentó el 10% de pérdida en peso a 175.7 °C y un 8.5% de residuo a 800 °C; de la misma forma se observaron dos descomposiciones térmicas, la primera referente a la cadena principal (195 °C) y la segunda debido a un reordenamiento de la región aromática (430 °C) (Licea-Claverie et al., 2003).

Películas PP-g-2MBA las cuales presentaban el mayor porcentaje de injerto (47%), se asemejaron más al comportamiento del homopolímero, con 10% de pérdida en peso a 215.2 °C y un residuo del 12.9% a 800 °C. La literatura reporta una temperatura de descomposición de polipropileno cercana a 440 °C, lo cual nos indica que el injerto de poli(2MBA) ha modificado la estabilidad térmica del material original.

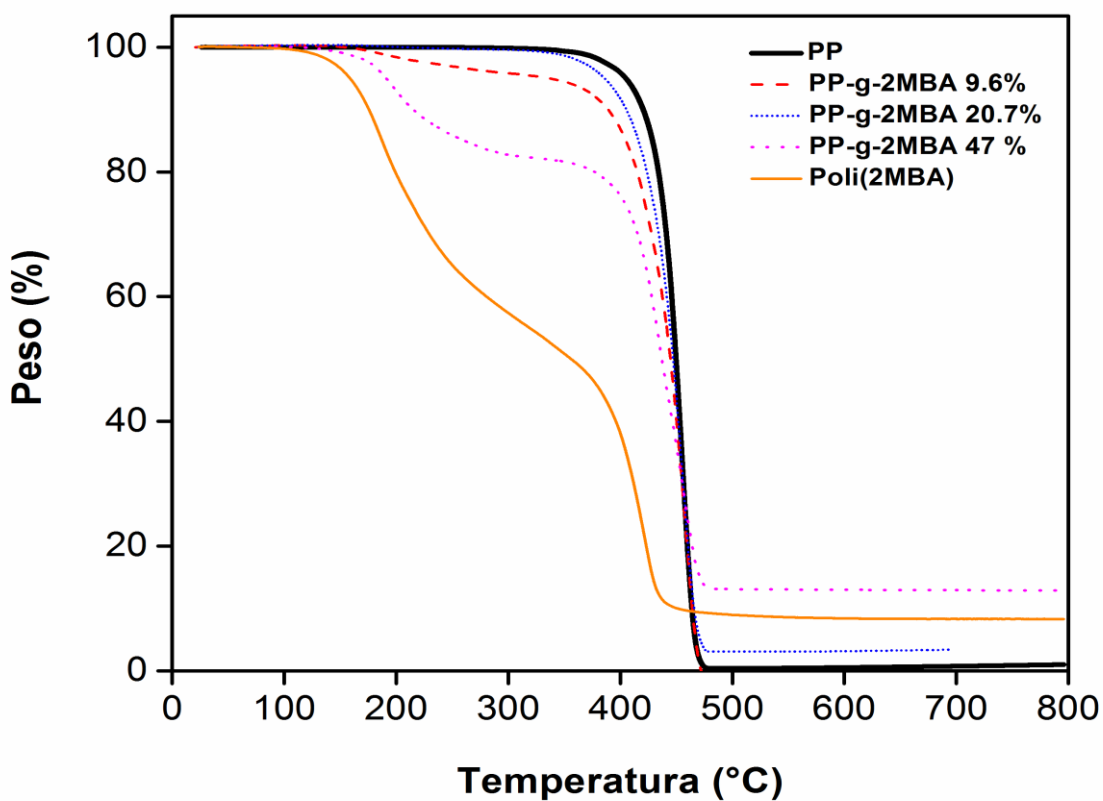


Figura 27. Termograma de PP, PP-g-2MBA 9.6%, 20.7%, 47.0% y poli(2MBA).

III.3.3 ÁNGULO DE CONTACTO

Experimentos referentes a ángulo de contacto fueron realizados para determinar los posibles cambios en las propiedades superficiales de películas de PP modificadas (Figura 28). Se logró demostrar que películas testigo o control de PP mostraron propiedades hidrófobas con ángulos de contacto cercanos a 100°. Películas con injertos en el orden de 7-20% favoreció a una disminución en el ángulo de contacto, aumentando así la hidrofiliicidad a los sistemas, esto debido los grupos hidroxilo y ácido carboxílico presentes. Por otra parte, para porcentajes injerto altos (35 y 47%) se produjo un aumento en el ángulo de contacto, lo que se puede atribuir a la grandes interacciones intramoleculares entre los grupos de poli(2MBA), disminuyendo consecuentemente la interacción con agua (Dasgupta et al., 2015; Kumar et al., 1992).

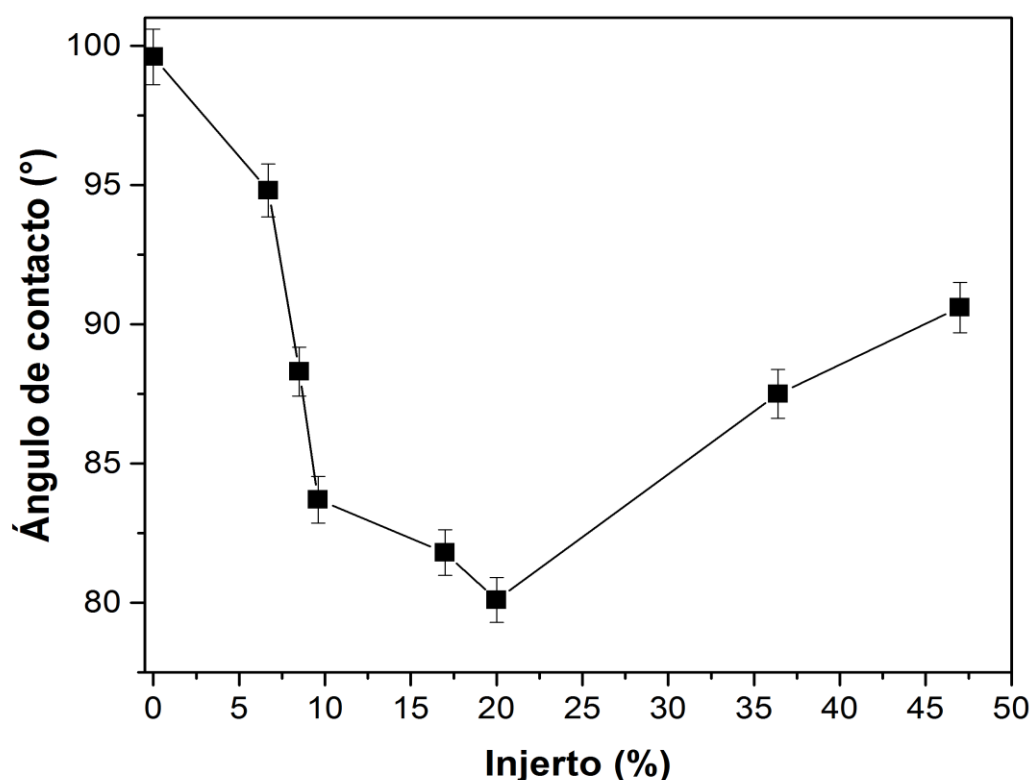


Figura 28. Determinación de ángulo de contacto de películas funcionalizadas.

III.3.4 HINCHAMIENTO LÍMITE

El estudio correspondiente tuvo la finalidad de determinar si el injerto realizado favorecía al grado de hinchamiento de las diferentes películas estudiadas. Fueron realizados experimentos con películas testigo (PP), e injertos con el 4.5,6.5,9.6,17.1,20.7 y 47%. Se observó un hinchamiento gradual dependiente del aumento en el grado de injerto de las películas (Figura 29).

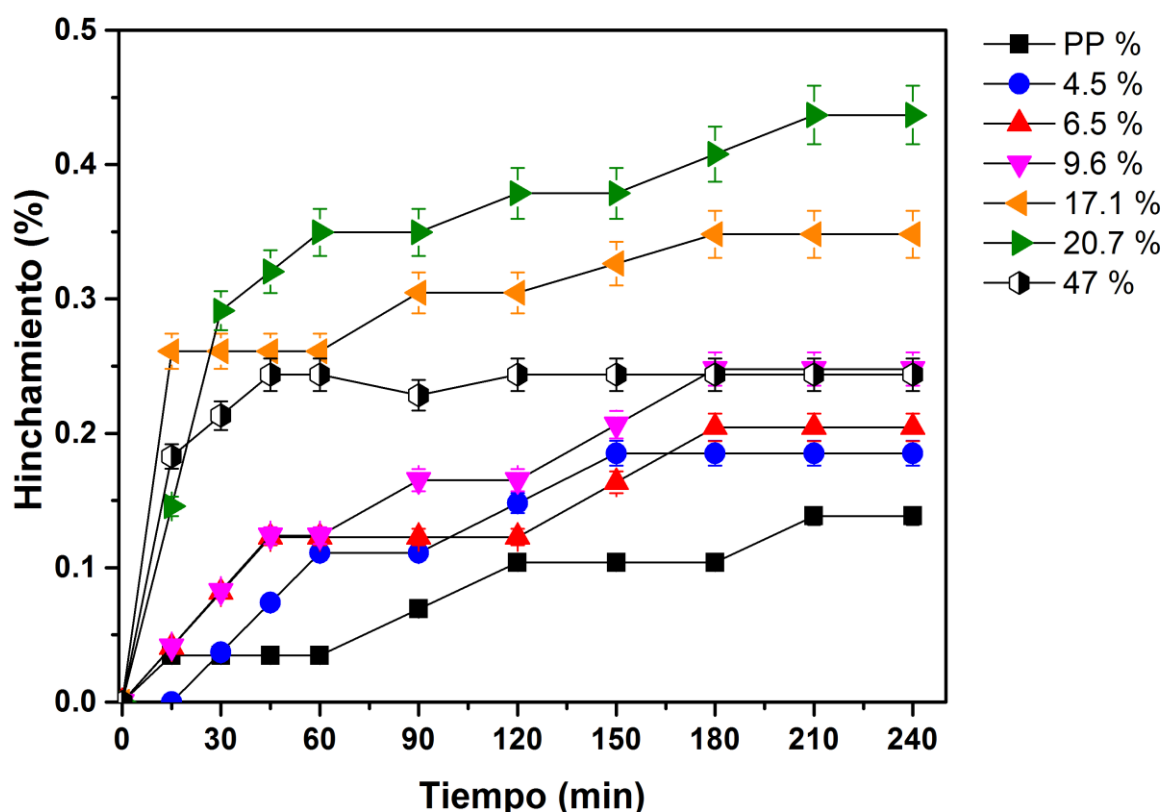


Figura 29. Determinación de hinchamiento límite en películas injertadas.

Sin embargo películas con alto porcentaje de injerto (20.7 y 40.7%) lograron coincidir con el comportamiento obtenido previamente en la prueba de ángulo de contacto, en el cual se observó que el máximo hinchamiento fue con películas de 20.7% de injerto y una disminución en el grado de hinchamiento con injertos del 40.7%; esto debido a los cambios en la hidrofobicidad/hidrofilicidad dados por el injerto de poli(2MBA); películas testigos muestra un mínimo hinchamiento debido a sus características de naturaleza hidrofóbica. Sin embargo, el hinchamiento de todas las películas fue bastante limitada, lo que evita preocupaciones en el cambio en las dimensiones del dispositivo médico después de la inserción o implantación.

III.3.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM-EDX)

Las microscopias fueron realizadas con el objetivo de apreciar si el injerto se estaba realizando sobre la superficie de las películas; fueron evaluadas tres películas, una testigo o control de PP e injertadas con el 5 y 38%. Imágenes de SEM de secciones transversales de película testigo, no evidenció algún recubrimiento (Figura 30).

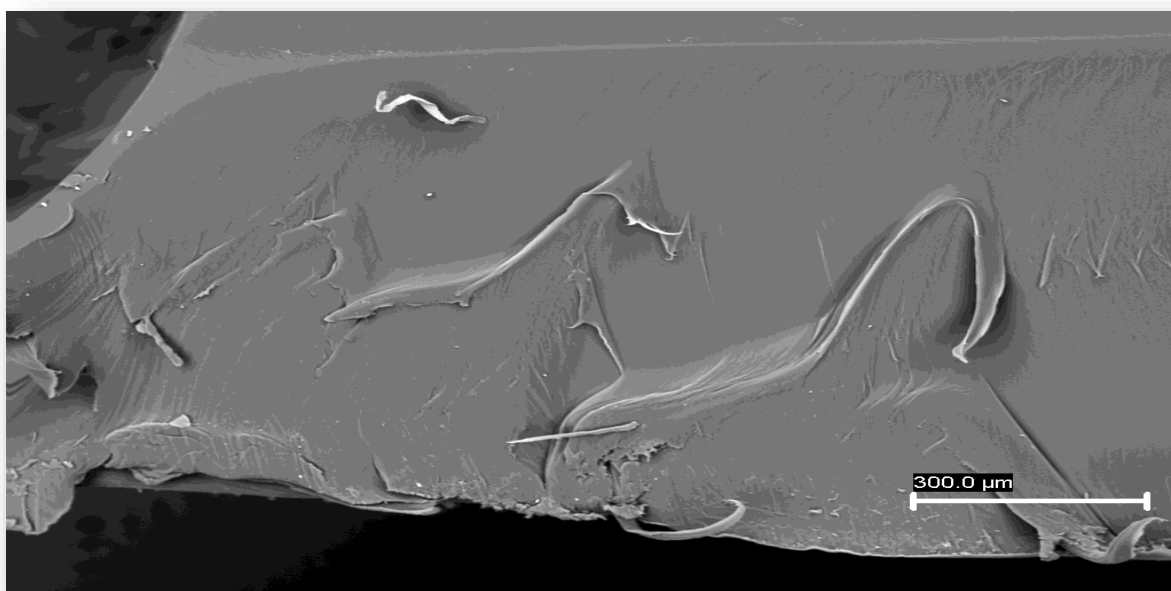


Figura 30. Corte transversal de película control.

En cambio películas funcionalizadas mostraron una capa o recubrimiento sobre la superficies; este asociado al poli(2MBA) (Figura 31 y 32).

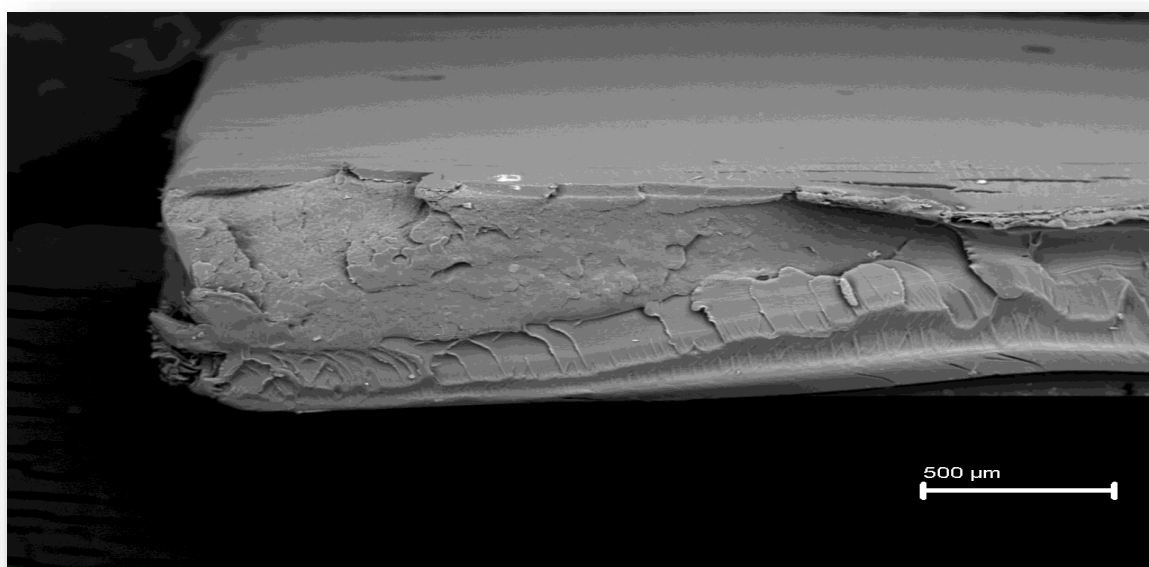


Figura 31. Corte transversal de película PP-g-2MBA 5 %.

El microanálisis EDX confirmó la ausencia de oxígeno en la superficie de PP y reveló un porcentaje creciente de oxígeno para las películas de PP-g-2MBA con injerto al 1, 8.5 y 20.7% con valores de 1.4, 3.2 y 11.4% de O, respectivamente.

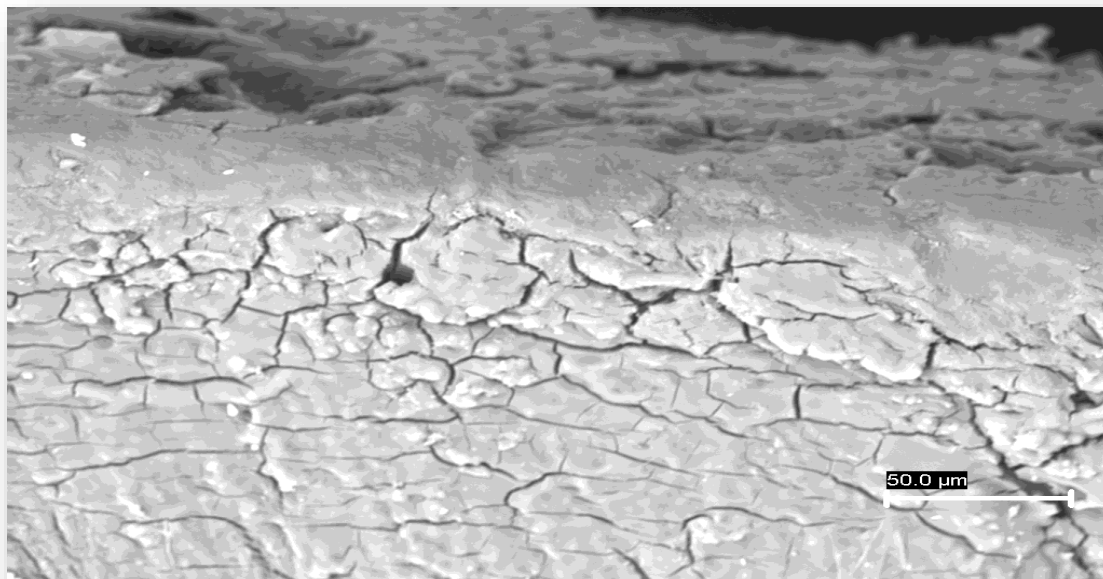


Figura 32. Corte transversal de película PP-g-2MBA 38 %.

III.3.6 MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

Aprovechando las características de fluorescencia del ácido salicílico (Karim et al., 2006) y siendo 2MBA un derivado del mismo, se realizó una microscopía de fluorescencia para determinar si el injerto solo se había realizando sobre la superficie de las películas o también en masa. Fueron evaluadas tres películas, una control (PP) y dos con injerto del 5 y 38%, en el cual se logró apreciar como la película testigo no mostró una efecto fluorescente, pero en cambio en las funcionalizadas se diseminó la fluorescencia dentro de la película (Figura 33 y 34), indicando la presencia de 2MBA a lo largo de la película de polipropileno, de modo que el injerto realmente se produce no sólo en la superficie, sino también en la mayor parte del material.

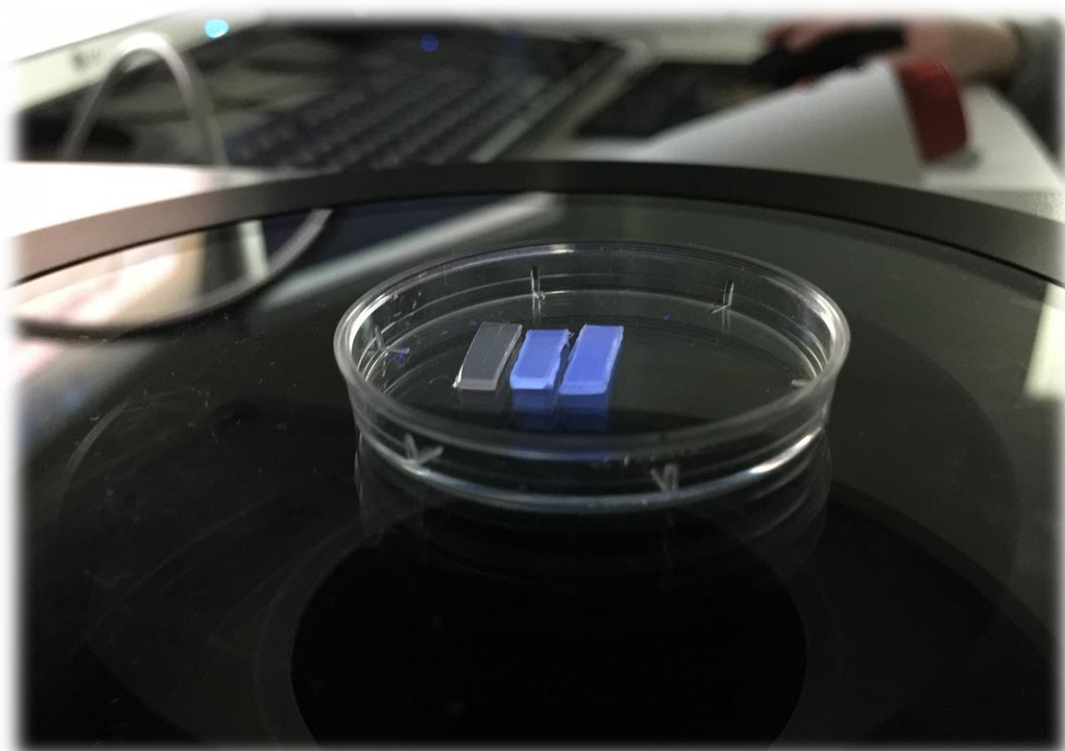


Figura 33. Película testigo (izquierda), 5% (centro) 38% (derecha), expuestas a microscopio confocal.

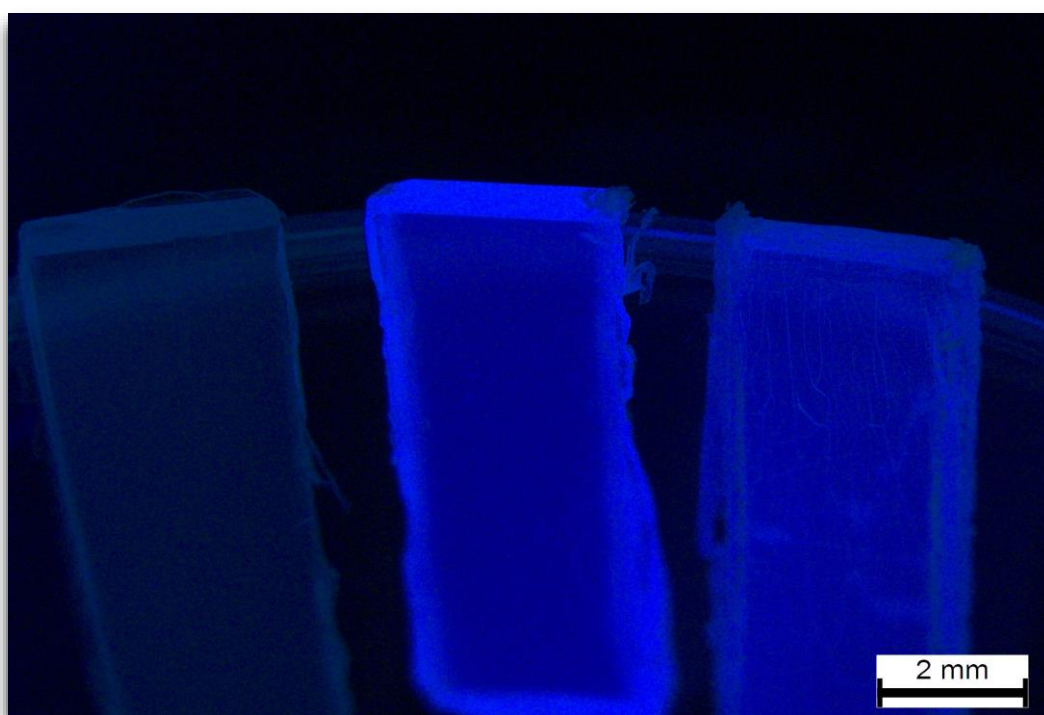


Figura 34. Fluorescencia de PP testigo (izquierda) y funcionalizada 5 y 38% (centro y derecha).

III.4 ESTUDIO DE HIDRÓLISIS-LIBERACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO

Los ensayos de liberación de ácido salicílico se llevaron a cabo en tampón de fosfatos a pH 7.4 y 5.5. Fueron expuestas películas de PP-g-2MBA en metanol por 24 h, para posteriormente analizar el medio de disolución, mediante espectrometría de masas con el fin de identificar las especies eluidas de las películas. El espectro de masas mostró el ion molecular correspondiente a ácido salicílico (93.40 m/z), indicando que efectivamente era un producto de la hidrólisis del polímero (Figura 35 y 36). Fue evaluado el proceso de liberación de películas de PP-g-2MBA con 8.7 y 16.4% de injerto, en las soluciones pH fisiológicas simuladas; siendo el ácido salicílico cuantificado mediante espectrofotometría UV-vis (Figura 37). A pH 7.4, películas con injerto de 8.7% liberó de forma sostenida el fármaco, liberándose 19.2 mg/g (aproximadamente 35.8% liberado) en aproximadamente 14 días. De manera diferente, películas con 16.4% mostró una primera etapa de liberación rápida en las primeras 24 h (Huang and Brazel, 2001), seguida de un segundo paso con cinética más lenta; la cantidad de ácido salicílico liberado fue de 54.2 mg/g (57.5%) a los 14 días.

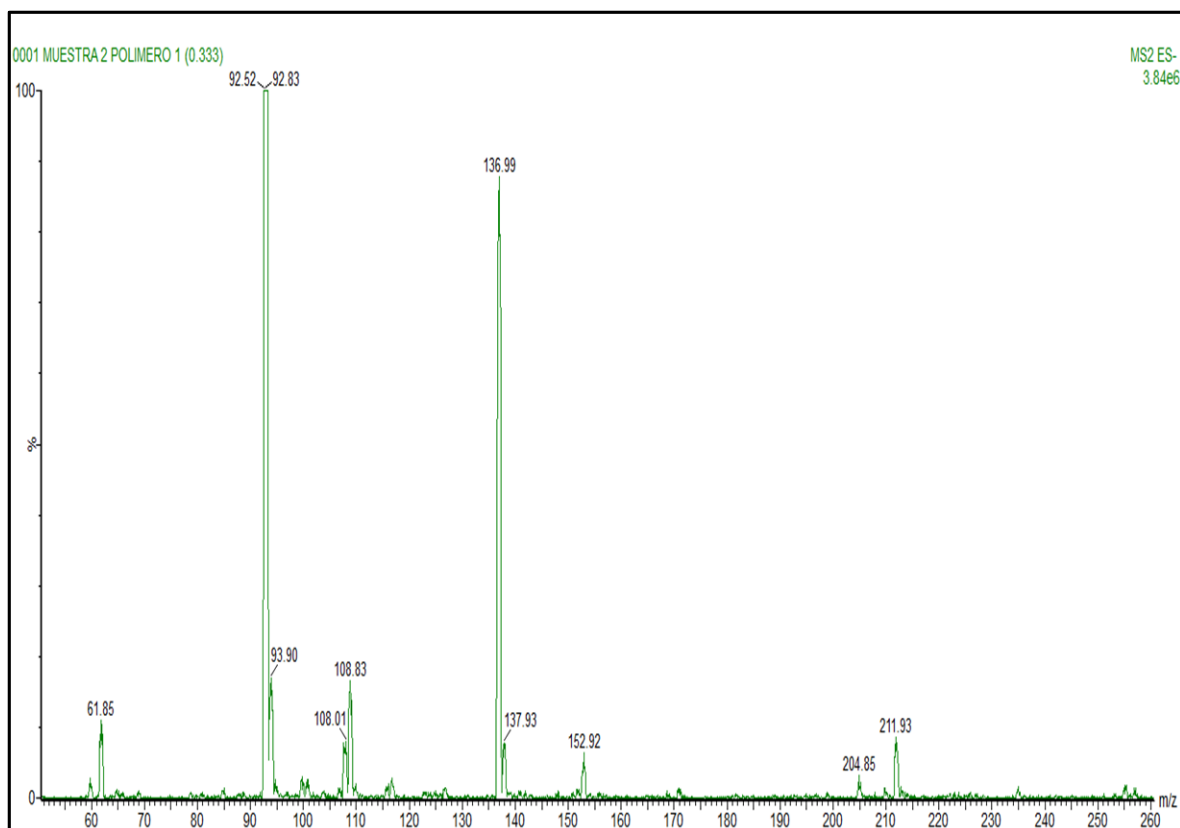


Figura 35. Espectro de masas de ácido salicílico.

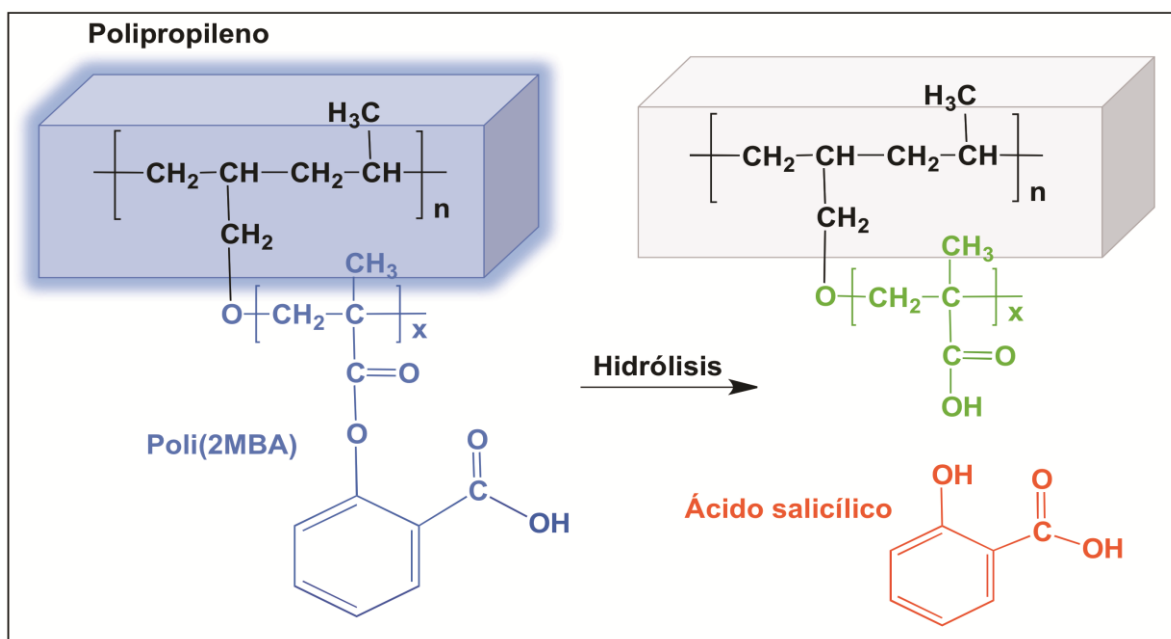


Figura 35. Proceso de hidrólisis-liberación de ácido salicílico

Estos resultados sugieren que para las películas PP-g-2MBA con 16.4% de injerto, la hidrólisis comienza en las cadenas más abundantes y más largas de poli(2MBA). En la superficie del material, donde el polímero injertado entra rápidamente en contacto con el medio acuoso y los grupos colgantes pueden hidrolizarse (Nowatzki et al., 2012). De hecho, las películas PP-g-2MBA con injerto de 16.4% se hincharon más que con 8.7%, lo que favorece el contacto con el agua y, por lo tanto, el proceso hidrolítico (Dasgupta et al., 2015). Las películas también se expusieron a un tampón de pH 5.5, que es un valor típico para el pH de la orina. La película injertada al 8.7% liberó una cantidad menor de ácido salicílico, 2.8 mg/g (5.25%) en 14 días. En el caso de las películas injertadas con el 16.4%, la liberación fue también más lenta a pH 5.5 que a pH 7.4, pero se liberaron cantidades relevantes de fármaco. Se ha informado previamente que la liberación de ácido salicílico en base a polímeros derivados, es fuertemente dependiente del pH, ya que la hidrólisis de los enlaces éster está catalizada por H^+ y OH^- . Por ejemplo, los catéteres urológicos recubiertos con conjugados de acrilato de poliuretano liberan ácido salicílico más rápido en la orina ácida que en el agua (Nowatzki et al., 2012). Los comprimidos de conjugados de poli(hidroxietilmetacrilato) - ácido salicílico mostraron una liberación de fármaco más rápida a pH 8.5 que a pH 7.6 (Jantas and Herczyńska, 2010).

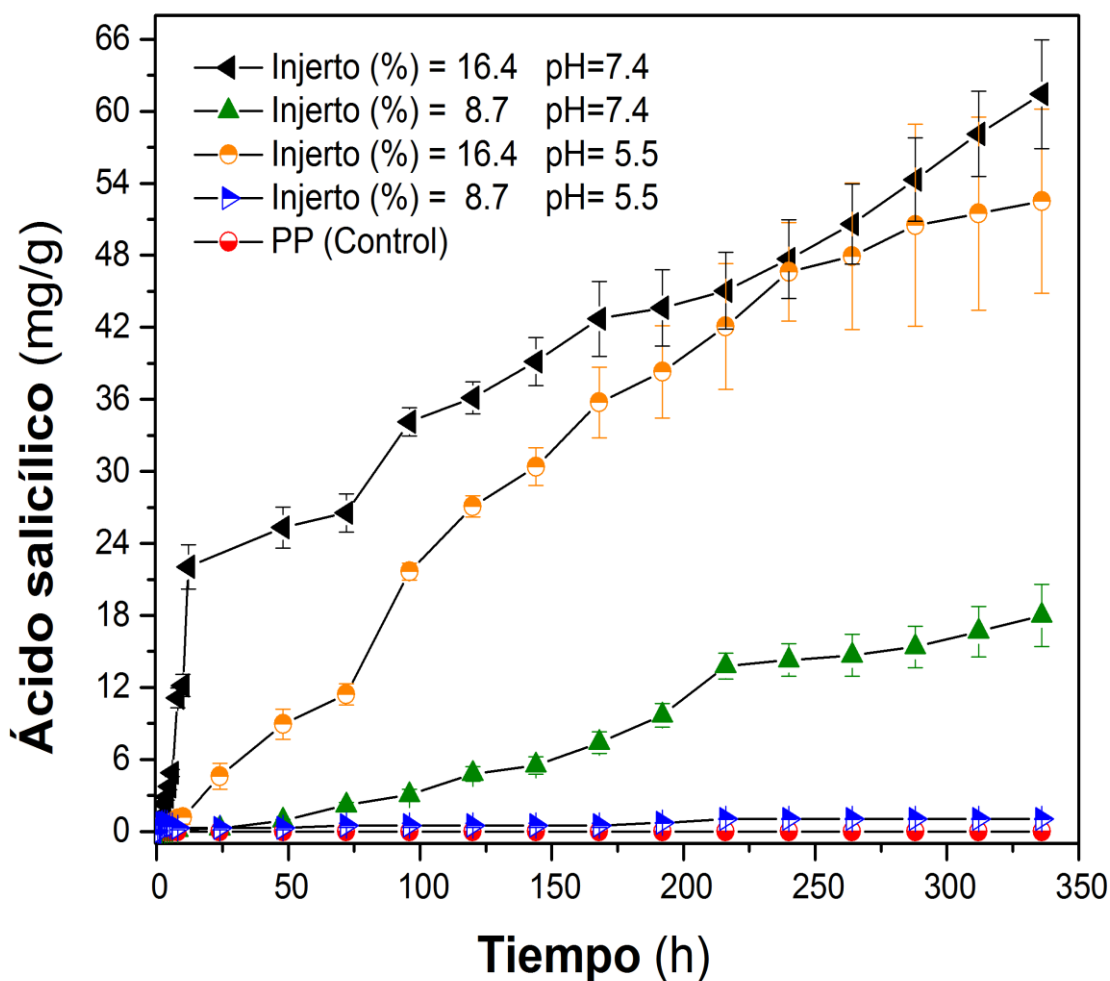


Figura 37. Estudio de liberación de ácido salicílico.

Mayores tasas de hidrólisis a pH 7.4 en comparación con el medio ácido puede estar también relacionado con el aumento de la solubilidad del ácido salicílico a medida que aumenta el pH, lo que a su vez facilita la transferencia de las moléculas del fármaco ionizado al medio acuoso y minimiza la acumulación del fármaco no ionizado hidrofóbico sobre la superficie del dispositivo (lo que puede obstaculizar el contacto con el agua) (Chandorkar et al., 2014). En el caso de las películas PP-g-2MBA, los patrones de liberación siguen una cinética de orden cero. La película injertada al 8.7% mostró un tiempo de retardo de aproximadamente 6 h a pH 5.5 y cerca de 1 h a pH 7.4 y entonces se estimó que las constantes de velocidad de liberación eran 0.004 mg/(g h) (r^2 0.812) y 0.052 mg mg/g h) (r^2 0.968) a pH 5.5 y 7.4 respectivamente. Las películas injertadas al 16.4 % no mostraron un tiempo de retardo, y la constante de velocidad de liberación fue de 0.190 mg/(g h) (r^2 0.972) a pH 5.5. Las dos fases de liberación observadas en solución tampón pH 7.4 se

analizaron por separado. La primera fase de liberación (hasta 24 h), proporcionó una constante de velocidad de liberación de 0.975 mg/(g h) (r^2 0.956), mientras que la segunda etapa se caracterizó por una constante de velocidad de liberación menor de 0.199 mg/(g h) (r^2 0.936). También se han descrito dos fases de diferente velocidad de liberación para resinas de acrilato de uretano flexibles que tienen conjugados salicílicos (Nowatzki et al., 2012). De manera interesante, la liberación de ácido salicílico a partir de conjugados de poliéster siguió una cinética de primer orden, con una velocidad de liberación más rápida al principio, mostrando una disminución progresiva a medida que disminuye la disponibilidad de enlaces éster hidrolizables (Dasgupta et al., 2015). El perfil de liberación de dos fases registrado a pH 7.4 para la película de PP-g-2MBA con 16.4% de injerto sugiere que las cadenas de poli(2MBA) que sobresalen de la superficie del dispositivo hidrolizan rápidamente, mientras que las injertadas en masa de PP son menos accesibles para el agua y por lo tanto los enlaces éster se degradan más lentamente (como ocurre para la película injertada al 8.7%).

III.5 CITOCOMPATIBILIDAD

La citocompatibilidad de películas de PP-g-2MBA fue evaluada por método de contacto directo, utilizando una línea celular de fibroblastos BALB / 3T3. Se demostró una buena viabilidad celular para todas las películas después de 24 h de tiempo de incubación (Figura 38), similar a los resultados de biocompatibilidad de otros sistemas de suministro de fármacos con ácido salicílico (Chandorkar et al., 2014; Dasgupta et al., 2015). Después de 5 días de incubación se mantuvo la citocompatibilidad, con la excepción de las películas con injerto al 20.7% ($p < 0.009$). Estas últimas películas combinan un alto porcentaje de injerto e hidrofiliidad (Figura 20), y por lo tanto se espera una concentración considerable de ácido salicílico liberado en el pequeño volumen de medio de crecimiento, afectando por consecuencia la viabilidad de los fibroblastos.

Anteriormente, la concentración de ácido salicílico de 40 mg / mL, ha demostrado que es segura para los fibroblastos, evitando adecuadamente la formación de trombos (Dasgupta et al., 2015), de la misma forma niveles alrededor de 1200 µg / mL inhiben eficazmente la formación de biofilm.

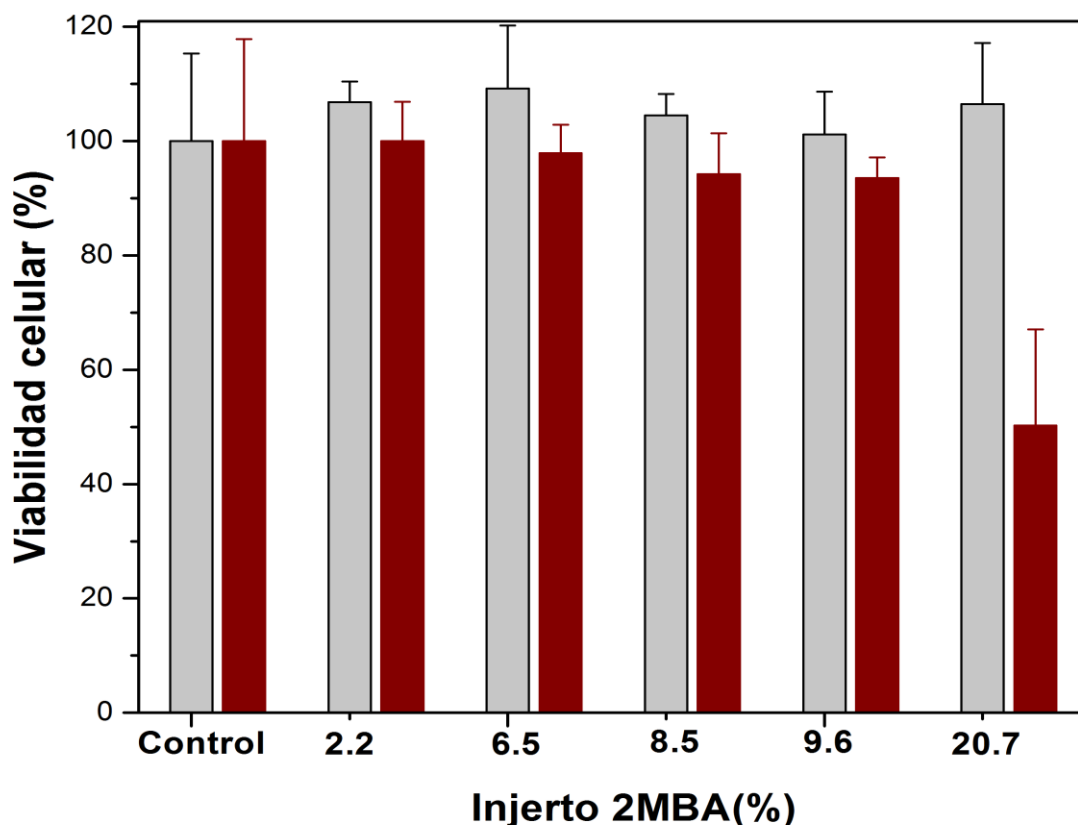


Figura 38. Evaluación de viabilidad celular de películas control e injertadas.

Un gramo de película de PP-g-2MBA con 16.4% de injerto puede proporcionar las concentraciones mencionadas anteriormente en 24 h si se sumerge en volúmenes de 18.3 mL o 550 mL, respectivamente a pH 7.4. Dependiendo del lugar de aplicación / implantación, el dispositivo entrará en contacto con fluidos fisiológicos de diversos sitios, volúmenes y velocidad de flujo; en base a las condiciones mencionadas y diferentes áreas o sitios de implantación, se requerirá un ajuste en el diseño del dispositivo para una liberación de ácido salicílico para una aplicación como potencial plataforma antiinflamatoria, antitrombótica o analgésica.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- ❖ El injerto de poli(2MBA) en películas de polipropileno, puede obtenerse mediante un método de radiación ionizante (rayos gamma).
- ❖ El porcentaje de injerto y por consiguiente la cantidad de ácido salicílico en el sistema diseñado, puede ajustarse modificando las condiciones de dosis absorbida, tiempo de reacción, temperatura y concentración de monómero.
- ❖ Se establecieron las condiciones idóneas para la obtención del máximo porcentaje de injerto (47%), referentes a 200 kGy, concentración de monómero de 3(M), 80 °C y 40 horas de tiempo de reacción.
- ❖ El porcentaje mínimo injerto obtenido fue de 0.89%, en condiciones de 200 kGy, concentración de monómero de 1(M), 40 °C y 40 horas de tiempo de reacción.
- ❖ Se demostró una adecuada modificación de las películas polipropileno por medio de una técnica espectrofotométrica (FTIR-ATR) y térmica (TGA).
- ❖ Se corroboró los cambios en las propiedades de hidrofobicidad/hidrofilicidad del polipropileno, mediante pruebas de ángulo de contacto e hinchamiento; injertos por debajo del 20% mostraron una disminución en el ángulo de contacto, demostrando así un aumento en la hidrofilicidad del sistema, e injertos superiores al 20% un efecto inverso.
- ❖ Mediante la caracterización por microscopia de fluorescencia y microscopia electrónica de barrido, se comprobó que el injerto de 2MBA sobre las películas de polipropileno, ocurrió tanto en superficie como en masa; aparentemente cuanto mayor es el porcentaje de injerto, mayor es la proporción de injerto sobre la superficie de las películas.
- ❖ Se comprobó la hidrólisis de poli(2MBA) injertado, en el cual el producto de degradación fue ácido salicílico; la identificación de ácido salicílico fue realizada por medio de espectroscopia de masas y la correspondiente cuantificación por espectroscopia de UV-vis.
- ❖ Se estableció como poli(2MBA), actúa como un polímero profármaco, presentando un mecanismo de hidrólisis en el enlace éster de la molécula.
- ❖ Aquellas películas con alto porcentaje de injerto, pero aún hidrófilas liberan el fármaco más rápidamente. Además, las películas PP-g-2MBA muestran una velocidad de liberación dependiente del pH.

- ❖ Se espera que los dispositivos médicos injertados con poli(2MBA) a niveles inferiores al 20% de injerto proporcionen una liberación controlada de ácido salicílico durante varios días en el sitio de implantación sin comprometer la viabilidad celular.
- ❖ La técnica de injerto desarrollada permite un control preciso de la cantidad de fármaco incorporado en el dispositivo o sistema, que a su vez puede adaptarse a los requisitos del sitio o área de implantación.
- ❖ Los sistemas diseñados tienen a ser una plataforma innovadora, como estrategia de anclaje y liberación sostenida de antiinflamatorios-analgésicos, mediados por un mecanismo de hidrólisis por polímeros profármacos.

CAPÍTULO V

ANEXOS

Anexo 1. Triplicado de rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH= 5.5

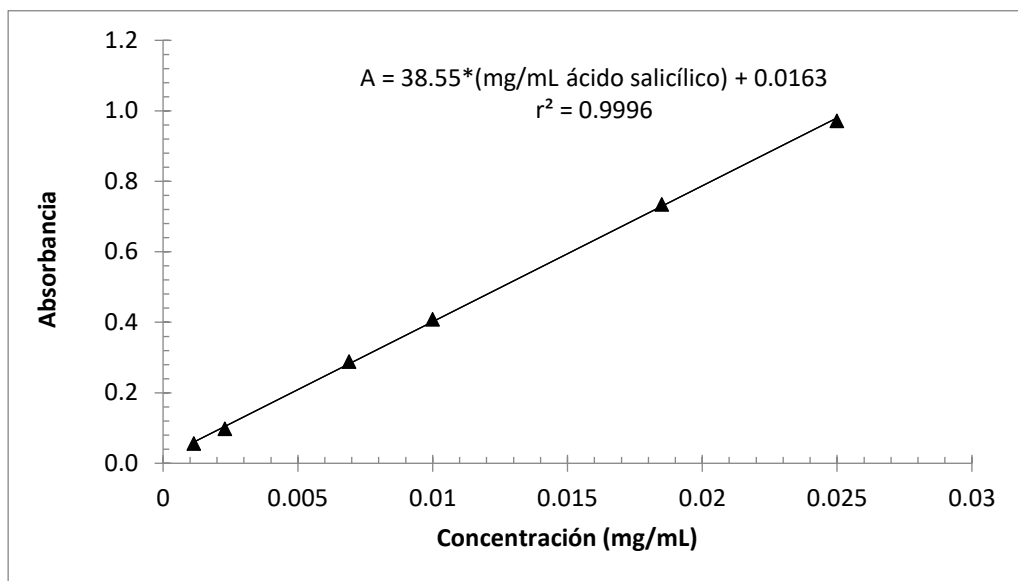


Figura 39. Recta calibración ácido salicílico pH=5.5 (1-3).

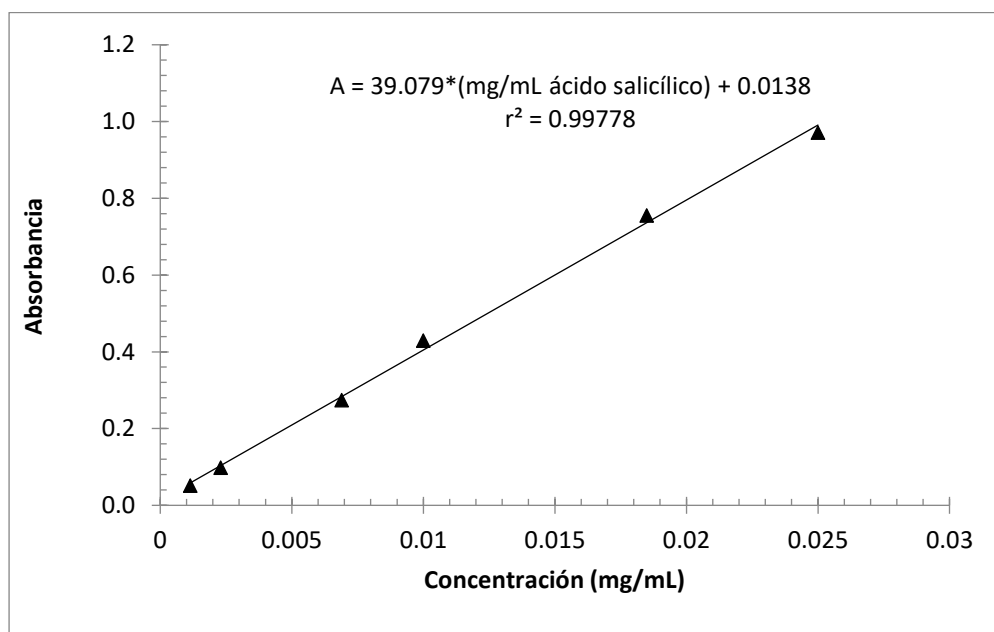


Figura 40. Recta calibración ácido salicílico pH= 5.5 (2-3).

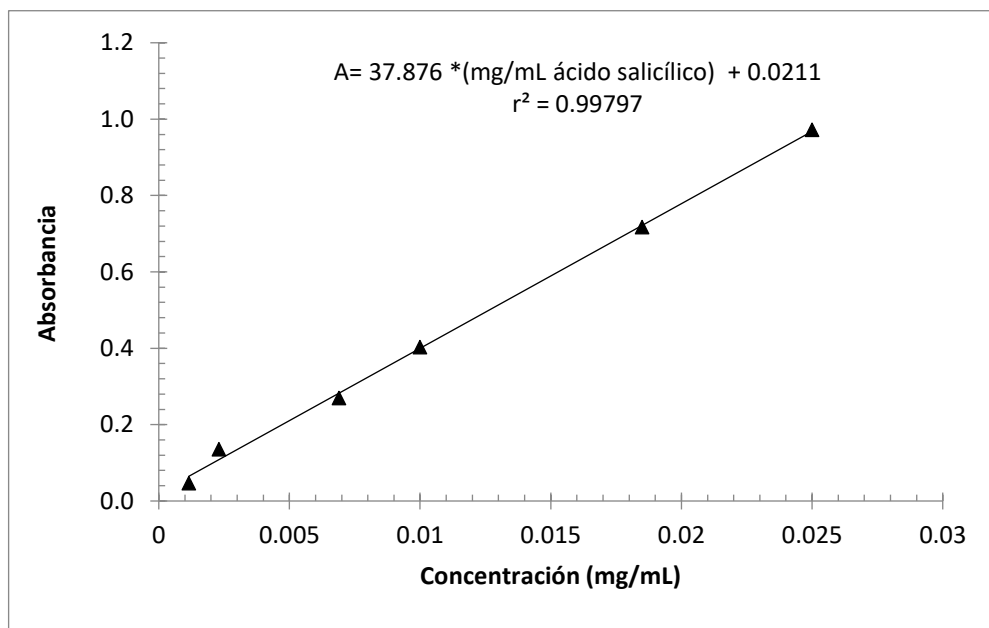


Figura 41. Recta calibración ácido salicílico pH=5.5 (3-3)

Anexo 2. Triplicado de rectas de calibración para cuantificación de ácido salicílico a pH= 7.4

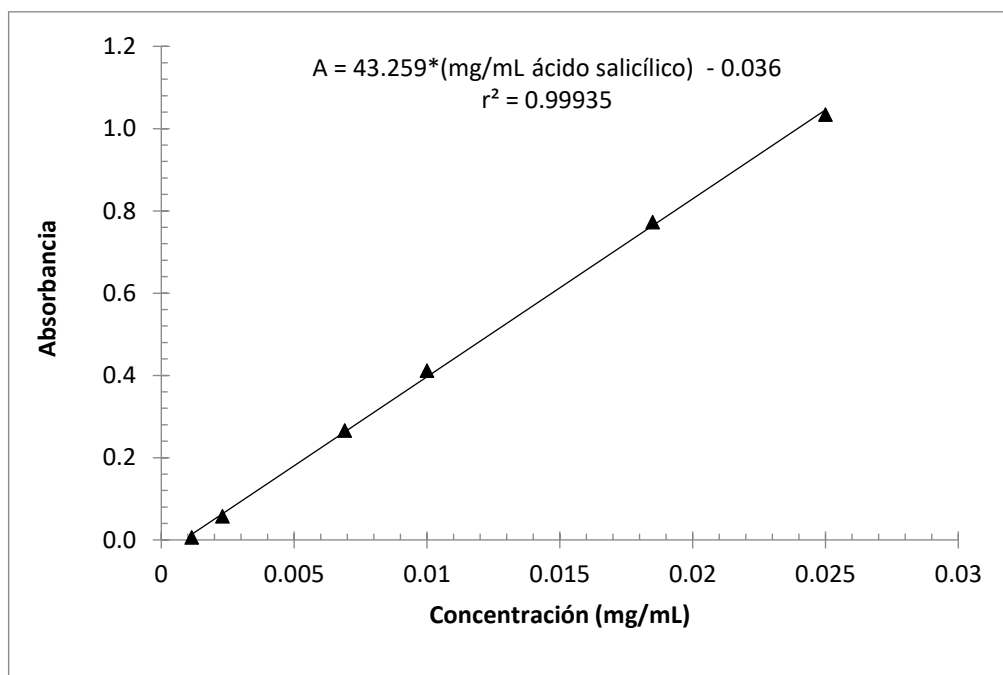


Figura 42. Recta calibración ácido salicílico pH=7.4 (1-3)

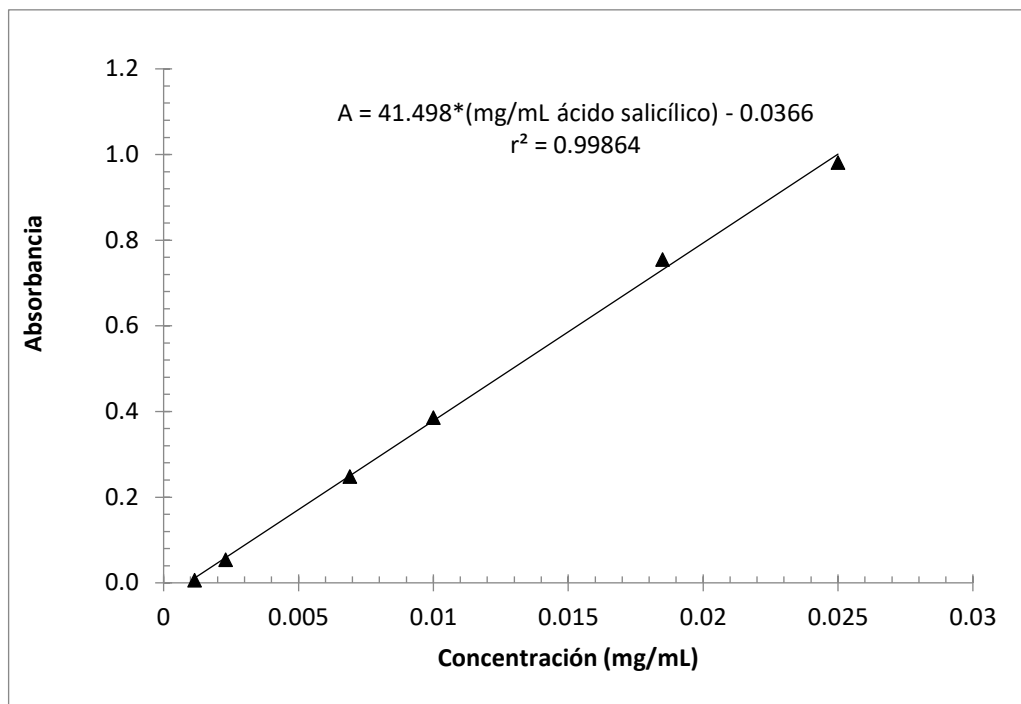


Figura 43. Recta calibración ácido salicílico pH= 7.4 (2-3)

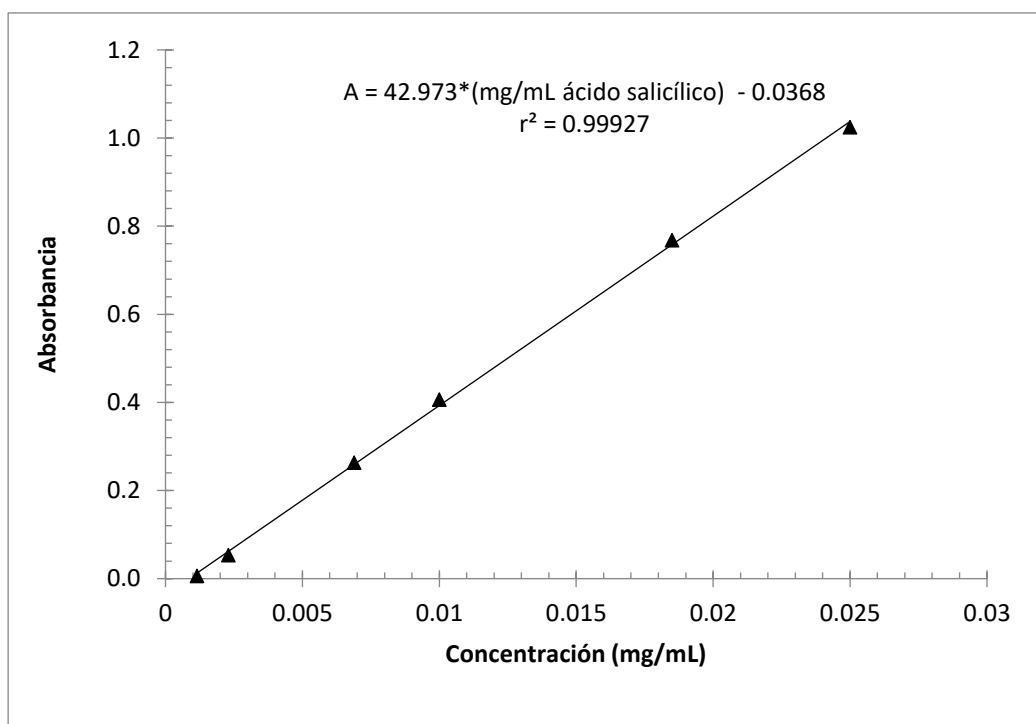


Figura 44. Recta calibración ácido salicílico pH=7.4 (3-3)

Anexo 3. Publicación científica realizada en base al trabajo presentado, en la correspondiente revista International Journal of Pharmaceutics

International Journal of Pharmaceutics 511 (2016) 579–585

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

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

Polymeric prodrug–functionalized polypropylene films for sustained release of salicylic acid

Hector Magaña^a, Kenia Palomino^a, Jose M. Cornejo-Bravo^{a,*}, Luis Díaz-Gómez^b, Angel Concheiro^b, Edgar Zavala-Lagunes^c, Carmen Alvarez-Lorenzo^{b,*}, Emilio Bucio^{c,*}

^a Universidad Autónoma de Baja California, Calzada Universidad 14418, Parque Industrial Internacional Tijuana, 22390 Tijuana, Baja California, Mexico
^b Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, R+DPharma Group (GI-1645), Facultad de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain
^c Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, México DF 04510, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:
Received 14 June 2016
Received in revised form 19 July 2016
Accepted 20 July 2016
Available online 21 July 2016

Keywords:
Grafting
γ-irradiation
Polypropylene
Salicylic acid release
pH-dependent release
Polymer–drug conjugate

ABSTRACT

Medical devices decorated with salicylic acid-based polymer chains (polymeric prodrug) that slowly release this anti-inflammatory and anti-biofilm drug at the implantation site were designed. A "grafting from" method was implemented to directly grow chains of a polymerizable derivative of salicylic acid (2-methacryloyloxy-benzoic acid, 2MBA) onto polypropylene (PP). PP was modified both at bulk and on the surface with poly(2MBA) by means of an oxidative pre-irradiation method (⁶⁰Co source), in order to obtain a grafted polymer in which salicylic acid units were linked by means of labile ester bonds. The grafting percent depended on absorbed dose, reaction time, temperature and monomer concentration. The functionalized films were analyzed regarding structure (FTIR-ATR, SEM-EDX, fluorescence microscopy), temperature stability (TGA), interaction with aqueous medium (water contact angle and swelling), pH-responsive release and cytocompatibility (fibroblasts). In the obtained poly(2MBA)-grafted biomaterial, poly(2MBA) behaved as a polymeric prodrug that regulates salicylic acid release once in contact with aqueous medium, showing pH-dependent release rate.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Implantation of medical devices is commonly associated to inflammation, stenosis and infection (Morais et al., 2010; Percival et al., 2015). To overcome these drawbacks, surface functionalization of biomaterials with polymer brushes or networks that can host drugs and control their release has been widely investigated (Melendez-Ortiz et al., 2014; Pacelli et al., 2015; Magaña et al., 2015; Islas et al., 2015). Commonly, the drug interacts with the grafted polymer through hydrophobic or ionic bonding. Although this approach has been shown useful for a number of cases, there are also limitations. If the strength of binding is weak, the amount of drug loaded may be not sufficient for the therapeutic effect and the release may occur too rapidly once in contact with the physiological fluids. Conversely, drugs that exhibit high affinity for

the polymer remain trapped in the device and do not perform their function either. An alternative to overcome the above mentioned limitations is the covalent binding of the drug to the medical device by means of labile bonds. Once implanted, chemical or enzymatic hydrolysis of the bonds is expected to trigger the release (Ki et al., 2003; Goddard and Hotchkiss, 2007; Komnatnyy et al., 2014). This approach requires at least two-steps processing, comprising first the surface modification of the medical device with suitable groups or polymer chains that, in a subsequent step, should react with a given chemical group of the drug, directly or using an intermediate linker. Stability of the drug during the conjugation, hydrolysis of bonds at the adequate rate, and release of the drug in its active form are additional concerns.

In the last decade, polymeric prodrugs, namely drug molecules bound to a polymer carrier that may also bear a targeting agent, have been largely tested to modulate biodistribution and pharmacokinetics of a number of drugs after parenteral administration (Hoste et al., 2004; Khandare and Minko, 2006). Improved knowledge about the design of polymer–drug conjugates has also motivated their evaluation as an alternative approach for regulating drug release from solid dosage forms. For example, salicylic

* Corresponding authors.
E-mail addresses: jmcornejo@uabc.edu.mx (J.M. Cornejo-Bravo), carmen.alvarez.lorenzo@usc.es (C. Alvarez-Lorenzo), ebucio@nucleares.unam.mx (E. Bucio).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.044>
0378-5173/© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

Figura 45. Publicación (1-7).

acid has been conjugated to poly(vinyl alcohol) (Jantas et al., 2012), polyanhydride-esters (Schmeltzer et al., 2005), polyesters (Dasgupta et al., 2015) and poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (Jantas and Herczyńska, 2010) to provide hydrolysis-dependent release. There are also a few reports on medical devices containing salicylic acid-conjugated polymers for site-specific release in order to take benefit from the anti-inflammatory, antithrombotic, analgesic, and antibiofilm properties of salicylic acid (Rosenberg et al., 2008; Griffin et al., 2011; Nowatzki et al., 2012; Lee et al., 2016). Similarly, conjugates of antimicrobial agents have been proposed for infection-triggered release from urinary devices (McCoy et al., 2013). So far, incorporation of the polymeric prodrugs to medical devices relies on first the synthesis of the drug conjugate, followed by compounding with, or coating of, the biomaterial used for the device.

The aim of this work was to implement a “grafting from” method to directly grow chains of a polymerizable derivative of salicylic acid onto polypropylene, a material commonly used to prepare medical devices (e.g. meshes, sutures, urinary catheters). In this way, regulating the amount of polymer grafted one can precisely tune the amount of drug carried by the medical device. Among several other techniques for polymer grafting, gamma-ray grafting has been demonstrated to be quite convenient for the immobilization of polymer chains on the surface and/or the bulk of medical devices as it does not require chemical initiators/catalyzers and can be easily implemented at industrial scale (Alvarez-Lorenzo et al., 2010). Thus, in this paper we propose for first time, to the best of our knowledge, the grafting of a medical device with a polymeric prodrug that relies on a methacrylic derivative of salicylic acid (2-methacryloyloxy-benzoic acid; 2MBA) having a hydrolysable ester bond (Licea-Claverie et al., 2003). Polymer grafting of such derivative was carried out applying oxidative pre-irradiation, and the effects of the temperature, reaction time and monomer concentration on the grafting percentage were evaluated in detail. Then, release kinetics of salicylic acid was investigated in various pH media, and cytocompatibility tests were performed.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Polypropylene films (PP, 1 mm in thickness) from Goodfellow (Huntingdon, UK) were washed with ethanol (JT Baker, Mexico) for 24 h and finally dried in vacuum at 60 °C to remove impurities. Methacrylic anhydride, dimethylaminopyridine (DMAP), salicylic acid, triethylamine and dichloromethane were from Sigma-Aldrich (USA). Triethylamine and dichloromethane were distilled before use. 2-Methacryloyloxy-benzoic acid (2MBA) was synthesized as previously reported (Licea-Claverie et al., 2003). Briefly, methacrylic anhydride (7.50 g; 50 mmol) was added drop-wise to a solution of salicylic acid (6.91 g; 50 mmol) and DMAP (0.49 g; 4 mmol) in 8.42 ml of triethylamine and 20 ml of dichloromethane. The reaction was carried out at 0 °C.

2.2. Grafting

PP films (1 × 2.5 cm) were irradiated using a ⁶⁰Co gamma source (Gammabeam 651 PT from Nordion Co., Canada) in air, with doses between 50 and 250 kGy, at a dose rate of 13.5 kGy/h. The pre-irradiated PP films were placed in glass ampoules containing 5 ml of 2MBA solutions (covering a wide range of concentrations), and the ampoules were sealed and degassed in a vacuum line by repeated freezing and thawing cycles. Sets of experiments were performed to assess the graft percentage under different conditions of monomer concentration (0.5–3 M), reaction time (5–40 h), temperature (40–

80 °C) and absorbed dose (50–250 kGy). The glass ampoules were placed in a water bath at constant temperature or time, depending on the experiment. All experiments were carried out in triplicate. The films were removed from the glass ampoules and washed with ethanol for 3 h to remove non-reacted substances and homopolymer. The washing was repeated three times. The homopolymer generated during the process was recovered. Finally, the graft films were dried under vacuum and then placed in an oven at 60 °C until reaching constant weight. The grafting percentage was calculated by gravimetry as follows:

$$\text{Grafting}(\%) = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

where W_0 and W represent the mass of the PP film before and after grafting, respectively.

The content in salicylic acid per gram of PP-g-2MBA film was estimated as follows:

$$\text{Salicylic acid}(\text{mg/g}) = \frac{\text{Grafting}(\%)}{(100 + \text{Grafting}(\%)) \times MW_{2MBA}} \times MW_{\text{salicylic acid}} \times 1000 \quad (2)$$

where MW_{2MBA} and $MW_{\text{salicylic acid}}$ represent the molecular weight of 2MBA and salicylic acid, respectively.

2.3. Characterization of PP-g-2MBA film

2.3.1. FTIR-ATR

Attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectra of pristine PP film and PP-g-2MBA were recorded using a Perkin-Elmer Spectrum 100 spectrometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) with 16 scans, taken in the range of 4000–600 cm⁻¹.

2.3.2. TGA

Thermogravimetric analysis (TGA) were carried out using a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE) at a heating rate of 10° C/min in the temperature range of 25–800 °C under nitrogen.

2.3.3. SEM-EDX and fluorescence microscopy

Pristine and PP-g-2MBA films (1 × 0.5 cm) were observed using a scanning electron microscope (SEM) operated at 1.5 kV (Zeiss EVO LS 15) coupled with X-ray microanalysis (EDX; Oxford Inca x-act, Oxford Instruments, UK). Fluorescence microscopy (Leica MZ16F) was used to observe the fluorescence in films exposed to UV light.

2.3.4. Contact angle and swelling test

Small drops of distilled water were deposited on the films and the contact angle was measured after 1 min using an analyzer drop shape Kruss DSA 100 device (Matthews NC, USA). All measurements were repeated 5 times at different surface points. Swelling of control and grafted films in water was estimated at room temperature. The films were weighed at different sampling times, and the swelling was calculated as follows:

$$\text{Swelling}(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (3)$$

where W_s is the weight of the swollen film and W_d is the weight of the dry film.

2.4. Salicylic acid release

Films covering a wide range of graft percentages were placed in vials with ethanol for 1 h and then dried at 40 °C for 2 h. The films were transferred to vials with 5 ml of phosphate buffer pH 7.4 or pH 5.5 and then incubated at 37 °C in an Incubating Mini Shaker VWR

Figura 46. Publicación (2-7).

(USA) at 200 rpm. Samples (1 ml) of the release medium were taken at various time points and the absorbances recorded at 235 nm in a Hach DR 6000 (USA) spectrophotometer. The release medium was changed every four hours for the first 24 h and every 24 h afterwards to prevent autocatalysis. The calibration curves were generated from known concentrations of salicylic acid in buffered media. Experiments were performed in triplicate. Additionally, samples of release medium were analyzed by means of mass spectrometry (Waters, Xevo TQ-D, Milford, MA, USA). Sample mass spectra were obtained using a Waters Xevo[®] TQD MS/MS detector fitted with electrospray probe. Samples were perfused at a flow rate of 20 μ l/min and data were collected using ES+ mode. Spectra were recorded using a cone and capillary voltage of 30 V and 3.21 kV respectively, a desolvation temperature of 200 °C and a source gas flow of 650 L h⁻¹. Data were analyzed using MS Tune application of the software TargetLynx[™] Application Manager (Waters). Release profiles were fitted to zero order kinetics using Excel software (Microsoft Office Professional Plus 2010).

2.5. Cytocompatibility

Cytocompatibility tests were performed using murine fibroblasts (Balb 3T3 American Type Culture Collection CCL-163, Manassas, VA, USA). Balb 3T3 cells (200,000 cells/ml) in DMEM F12 Ham medium (Sigma Aldrich, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% antibiotic solution (streptomycin 10000 μ g/ml and 10,000 units penicillin in 0.85% NaCl) were seeded in 96 well plates and incubated for 12 h. Films of PP-g-2MBA (0.2 $\times$ 0.25 cm²) were placed in wells containing cells and incubated at 37 °C, 5% CO₂ and 90% relative humidity. After 24 h or 5 days, the different films were removed, and an MTT kit (Roche, Switzerland) was used to quantify cell proliferation. Cells cultured in the absence of films were used as negative control. All tests were performed in triplicate. The absorbances were measured with ELISA plate reader at 550 nm (680 microplate reader, BioRad, USA) and cytocompatibility was determined as follows:

$$\text{Cytocompatibility}(\%) = \frac{\text{Abs}_{\text{Sample}}}{\text{Abs}_{\text{Control}}} \times 100 \quad (4)$$

Effect of grafting percentage on cell viability was statistically analyzed by means of ANOVA and multiple range test (Statgraphics Centurion XVI 1.15, StatPoint Technologies Inc., Warrenton VA)

3. Results and discussion

3.1. Synthesis of PP-g-2MBA

The polymerizable derivative of salicylic acid (2MBA) was synthesized and its structure was confirmed as described previously (Licea-Claverie et al., 2003). Series of experiments were performed to evaluate the grafting of 2MBA onto polypropylene films, by varying the irradiation dose, temperature, reaction time and monomer concentration. Graft percent increased with the absorbed dose in the 50–200 kGy range (Fig. 1a), which is explained by the increase in the formation of peroxides and hydroperoxides in PP matrices as irradiation dose increases. As more radicals are formed, the grafting of 2MBA can be initiated at more points (Menhofer et al., 1989). Dose of 250 kGy degraded PP films and was discarded for subsequent studies. The grafting slightly increased when temperature raised from 40 to 50 °C, and was remarkably greater at 60 °C or higher temperature (Fig. 1b). At 60 °C or above, peroxides and hydroperoxides formed during pre-irradiation rapidly decompose to generate free radicals, which in turn leads to more grafting sites (Bondar et al., 2004).

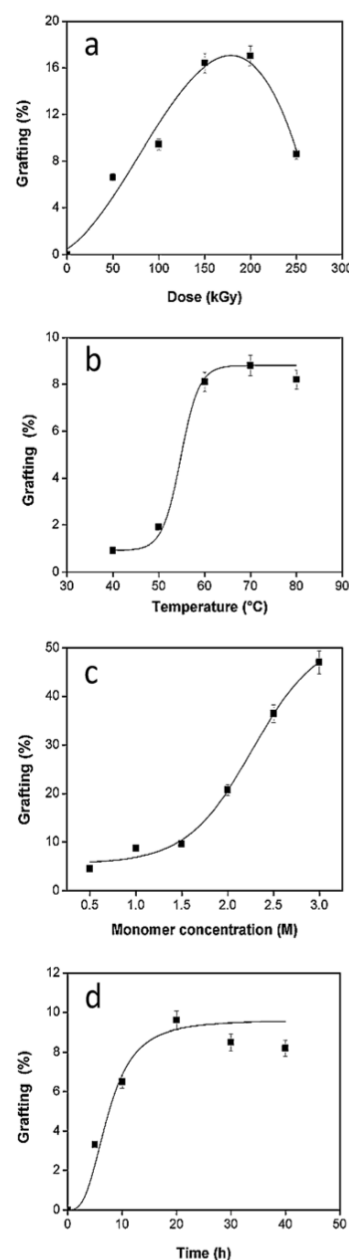


Fig. 1. Dependence of grafting percentage on (a) absorbed dose in the 50–250 kGy range, for a reaction time of 24 h in 1 M 2MBA and 80 °C; (b) reaction temperature at a fix reaction time of 40 h, dose of 200 kGy, and 1 M 2MBA; (c) concentration of 2MBA at dose of 200 kGy, reaction time of 40 h, and 80 °C; and (d) reaction time at dose of 200 kGy, 80 °C, and 1 M 2MBA. All experiments were carried out in triplicate.

Regarding the effect of 2MBA concentration (Fig. 1c), there was a significant increase in graft percentage as the concentration increased in the 0.5–3 M range. The highest graft percentage (nearly 50% w/w) was observed for pre-irradiated films with absorbed dose of 200 kGy that were immersed in 3 M 2MBA solution at 80 °C for 40 h. This reaction time ensured the grafting reaction was complete. As depicted in Fig. 1d, there was a positive dependence of the grafting percentage on the reaction time in the first 20 h, and beyond that time a plateau was observed.

3.2. Characterization of PP-g-2MBA

The FTIR-ATR technique was used to confirm the incorporation of 2MBA onto PP by comparison with pristine PP and poly(2MBA) homopolymer (Fig. 2A). The PP films showed typical signals at 2914–2846, 1453 and 1373 cm^{-1} . The spectra of PP-g-2MBA films (9.6 and 20.7% graft) maintained the characteristic PP signals, but also showed carbonyl stretching vibration ($\text{C}=\text{O}$) of ester and carboxylic acid groups at 1720 and 1698 cm^{-1} respectively, which correspond to the poly(2MBA) grafted chains.

Pristine PP film showed one degradation step at 455 °C, ascribed to the decomposition of the polymer backbone (Fig. 2B). Meanwhile, PP-g-2MBA films with 9.6% and 20.7% grafting exhibited two degradation steps at 430 and 510 °C. The first step was due to the decomposition of poly(2MBA) and the second one to the thermal degradation of PP. The weight loss of poly(2MBA) had two transitions, the first one occurred in the main chain (195 °C) and the second one was due to a rearrangement of the aromatic ring (430 °C) (Licea-Claverie et al., 2003). The PP-g-2MBA film having the highest percentage of grafting (47%) resembled the behavior of the homopolymer more closely.

Compared to pristine PP films, SEM images of cross-sections of PP-g-2MBA films showed a layer or coating on the surface due to poly(2MBA) (Fig. 3). EDX microanalysis confirmed the absence of oxygen on PP surface, and revealed increasing percentage in oxygen for PP-g-2MBA films with 1%, 8.5% and 20.7% graft with values of 1.4, 3.2, and 11.4%, respectively. Taking advantage of the fluorescence characteristics of salicylic acid (Karim et al., 2006) and being 2MBA a derivative thereof, fluorescence microscopy was applied to elucidate whether the grafting occurred only on the surface or also in the bulk. Fluorescence was spread within the film (Fig. 4) indicating the presence of 2MBA throughout the

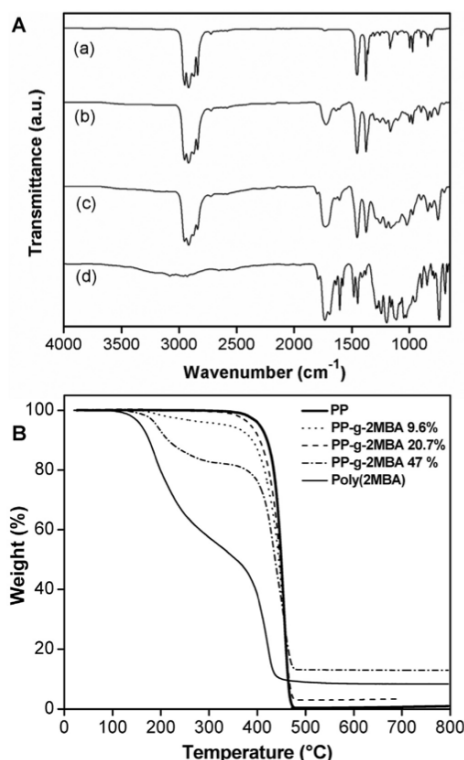


Fig. 2. A) FTIR-ATR spectra of PP (a), PP-g-2MBA 9.6% (b), PP-g-2MBA 20.7% (c), and poly(2MBA) (d); and B) TGA scans of PP, PP-g-2MBA with 9.6%, 20.7% and 47.0% graft, and poly(2MBA).

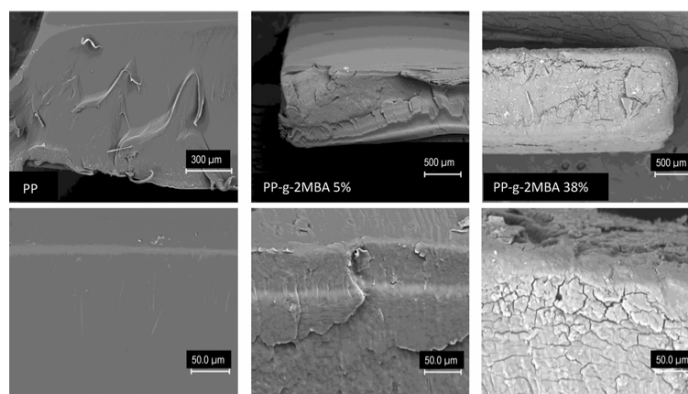


Fig. 3. SEM images of cross-sections of PP and PP-g-2MBA films with 5 and 38% graft (first row with scale bar of 300 μm for PP and 500 μm for PP-g-2MBA films, and second row with scale bar of 50 μm for all films).

polypropylene film, so grafting actually occurs not only in the surface but also in the bulk of the material.

The contact angle was measured to investigate possible changes in the surface properties of PP once modified (Fig. 5). Pristine PP films were hydrophobic as expected from its chemical structure. As the percentage of 2MBA graft in the films (PP-g-2MBA) increased, the contact angle initially decreased, providing hydrophilicity to the system through the phenol and carboxylic acid groups. However, for high grafting percentages (35% and 47%) an increase in the contact angle occurred, which may be attributed to an increase in intramolecular interactions between 2MBA groups, consequently decreasing the interaction with water (Dasgupta et al., 2015; Kumar et al., 1992). This behavior was reflected also in the swelling degree (Fig. 6), which was maximum for films with 20.7% graft. Further increase in the grafting percentage made the films to swell less. Nevertheless, for all films the swelling was quite limited, which avoids concerns of change in the dimensions of the medical device after insertion or implantation.

3.3. Salicylic acid release

Release tests were carried out in phosphate buffer pH 7.4 and pH 5.5 media. Samples from the release medium were withdrawn and analyzed by means of mass spectrometry in order to identify the species eluted from the PP-g-2MBA films. The mass spectrum only showed the molecular ion of salicylic acid indicating that salicylic acid is the sole product of hydrolysis (Fig. 7). Release

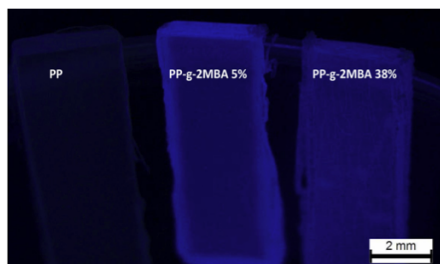


Fig. 4. Fluorescence microscopy images of pristine PP and PP-g-2MBA films with 5% and 38% graft observed under UV light.

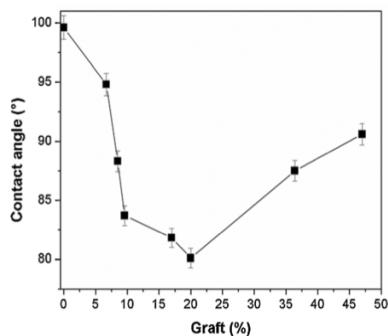


Fig. 5. Water contact angle of PP and PP-g-2MBA films prepared with grafting percentages covering from 5% to 47%.

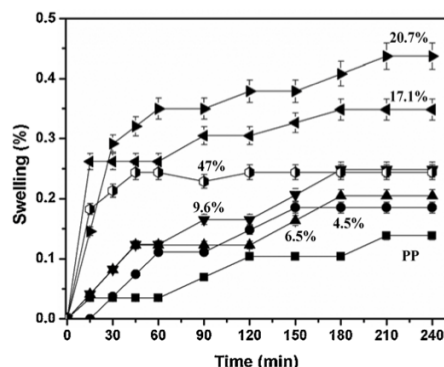


Fig. 6. Swelling in water of PP and PP-g-2MBA films. Grafting percentages are indicated in the plot.

patterns were recorded for PP-g-2MBA films with 8.7% and 16.4% graft; salicylic acid being quantified by means of UV-vis spectrophotometry (Fig. 8). At pH 7.4, the 8.7% grafted film sustainedly released the drug, with 19.2 mg/g released (approx. 35.8% released) in about 14 days. Differently, the film with 16.4% grafted showed a first step of rapid release in the first 24 h (Huang and Brazel, 2001), followed by a second step with slower kinetics; the amount of salicylic acid released was 54.2 mg/g (57.5%) at day 14. These findings suggest that, for PP-g-2MBA films with 16.4% grafting, hydrolysis starts at the more abundant and longer chains of poly(2MBA) on the surface of the material, where the grafted polymer quickly enters in contact with the aqueous medium and the pendant groups may hydrolyze (Nowatzki et al., 2012). In fact, PP-g-2MBA films with 16.4% graft swelled more than those with 8.7% graft, which favors the contact with water and thus the hydrolytic process (Dasgupta et al., 2015). The films were also exposed to buffer pH 5.5, which is a typical value for urine pH. The 8.7% grafted film released a minor amount of salicylic acid, 2.8 mg/g (5.25%) in 14 days. In the case of the 16.4% grafted films, the release was also slower at pH 5.5 than at pH 7.4, but relevant amounts of drug were still released.

It has been previously reported that salicylic acid release from polymer conjugates is strongly dependent on pH, as the hydrolysis of the ester bonds is catalyzed by both H^+ and OH^- . For example, urological catheters coated with polyurethane acrylate conjugates released faster salicylic acid in acidic urine than in water (Nowatzki et al., 2012). Tablets of poly(hydroxyethyl methacrylate)-salicylic acid conjugates showed faster drug release at pH 8.5 than at pH 7.6 (Jantas and Herczyńska, 2010). Higher hydrolysis rates at pH 7.4 compared to acidic medium can be also related to the increase in solubility of salicylic acid as pH raises, which in turn facilitates the transfer of the ionized drug molecules to the aqueous medium and minimizes the accumulation of the hydrophobic non-ionized drug on the device surface (which may hinder the contact with water) (Chandorkar et al., 2014).

In the case of PP-g-2MBA films, the release patterns fitted quite well to zero-order kinetics. The 8.7% grafted film showed a lag time of nearly 6 h at pH 5.5 and close to 1 h at pH 7.4 and then the release rate constants were estimated to be 0.004 mg/(g h) (r^2 0.812) and 0.052 mg/(g h) (r^2 0.968) at pH 5.5 and 7.4, respectively. The 16.4% grafted films did not show a lag time, and the release rate constant was 0.190 mg/(g h) (r^2 0.972) at pH 5.5. The two release phases observed in pH 7.4 buffer medium were analyzed in separate. The

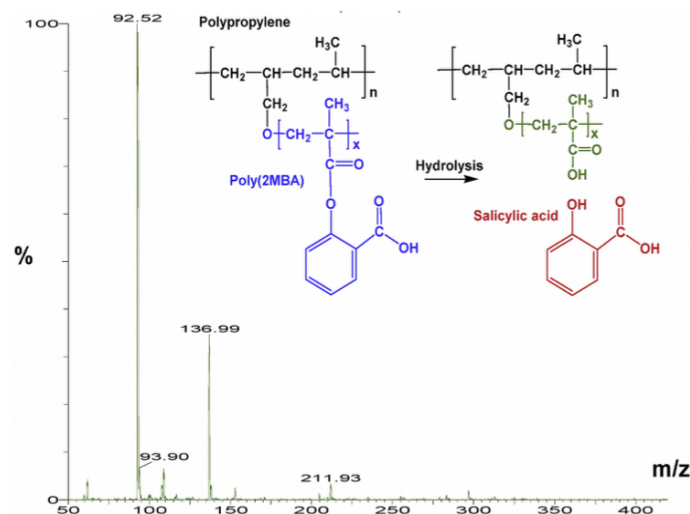


Fig. 7. MS spectrum of the release medium and schematic of the hydrolysis mechanism that regulates salicylic acid release from PP-g-2MBA films.

first rapid step (up to 24 h) rendered a release rate constant of 0.975 mg/(g h) (r^2 0.956), while the second step was characterized by a lower release rate constant of 0.119 mg/(g h) (r^2 0.936). Two phases of different release rate have been also reported for flexible urethane acrylate resins having salicylic conjugates (Nowatzki et al., 2012). Interestingly, the release of salicylic acid from polyester conjugates followed a first order kinetics, with faster release rate at the beginning showing progressive slow down as the availability of hydrolysable ester bonds decreases (Dasgupta et al., 2015). The two-phases release profile recorded at pH 7.4 for PP-g-2MBA film with 16.4% graft suggests that the poly(2MBA) chains protruding out the surface of the device hydrolyze rapidly, while those grafted in the PP bulk are less accessible to water and thus the ester bonds degrade more slowly (as occurs for the 8.7% grafted film).

3.4. Cytocompatibility

The cytocompatibility of PP-g-2MBA films was evaluated by direct contact using a BALB/3T3 fibroblasts cell line. Good cell viability was demonstrated for all the films after 24 h of incubation time (Fig. 9), similar to the biocompatibility results of other salicylic acid drug delivery systems (Chandorkar et al., 2014; Dasgupta et al., 2015). After 5 days of incubation the cytocompatibility was maintained, except for the film with 20.7% graft ($p < 0.009$). This is the film that combines high grafting percentage with still high hydrophilicity (Fig. 6), and thus a considerable concentration of released salicylic acid is expected in the small volume of growth media, then affecting fibroblasts viability. Previously, salicylic acid concentration of 40 μ g/mL has been shown safe for fibroblasts while efficiently prevent thrombus formation (Dasgupta et al., 2015), while levels around 1200 μ g/mL efficiently inhibit biofilm formation (Nowatzki et al., 2012). One

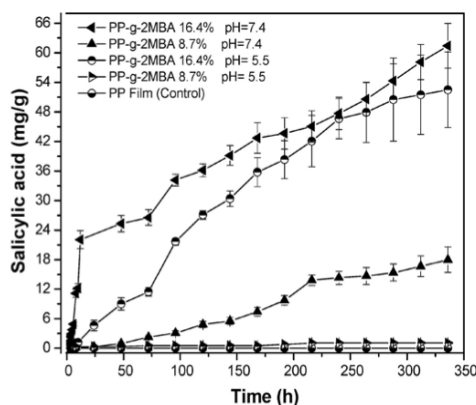


Fig. 8. Salicylic acid release profiles from PP-g-2MBA films in phosphate buffer pH 5.5 and 7.4.

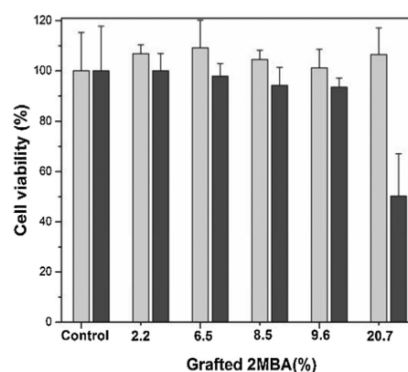


Fig. 9. Viability of Balb/3T3 cells after 24 h (gray bar) and 120 h (black bars) in contact with PP-g-2MBA films prepared with a variety of grafting percentages.

Figura 50. Publicación (6-7)

gram of PP-g-2MBA film with 16.4% graft may provide the above referred concentrations in 24 h if immersed in volumes of 550 ml or 18.3 ml, respectively, at pH 7.4. Depending on the application/implantation site, the device will enter into contact with physiological fluids of diverse composition, volume and flow rate. Thus, knowledge about these issues is required for an optimized design of the salicylic acid eluting device depending on its potential use as anti-inflammatory, antithrombotic, analgesic, or antibiofilm platform.

4. Conclusions

Grafting of poly(2MBA) from polypropylene films can be achieved using a gamma-ray irradiation method. The grafting percentage and thus the amount of salicylic acid on the medical device surface can be tuned modifying absorbed dose, reaction time, temperature and monomer concentration. Under the tested conditions, grafting of 2MBA occurs both on the surface and in the bulk. Apparently the higher the grafting percentage, the higher the proportion of graft on the surface. This finding has an effect on the rate of hydrolysis of the drug-polymer labile bonds; those films with high grafting percentage but still hydrophilic release the drug faster. Moreover, PP-g-2MBA films show pH-dependent release rate as expected from the pH-sensitiveness of the ester bond hydrolysis. Medical devices grafted with poly(2MBA) at levels lower than 20% graft are expected to provide controlled release of salicylic acid for several days at the implantation site without compromising cell viability. The developed grafting technique allows for a precise control of the amount of drug incorporated in the device, which can be adapted to the requirements of the implantation site.

Acknowledgments

This work was supported by SEP-CONACYT (CB 2010-1-157173) and DGAPA-UNAM Grant IN200714 Mexico, MICINN (SAF2014-52632-R) Spain and FEDER. L. Diaz-Gomez acknowledges MINECO for a FPI fellowship (BES-2012-051889). The authors thanks to F. García and B. Leal from ICN-UNAM for technical assistance, and F. Otero-Espinar and the Instituto de Ortopedia y Banco de Tejidos Musculoesqueléticos from USC for help with mass spectroscopy and cell studies.

References

- 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.
- Bondar, Y., Kim, H.J., Yoon, S.H., Lim, Y.J., 2004. Synthesis of cation-exchange adsorbent for anchoring metal ions by modification of poly(glycidyl methacrylate) chains grafted onto polypropylene fabric. *React. Funct. Polym.* 58, 43–51.
- Chandorkar, Y., Bhagat, R.K., Madras, G., Basu, B., 2014. Cross-linked, biodegradable, cytocompatible salicylic acid based polyesters for localized, sustained delivery of salicylic acid: an in vitro study. *Biomacromolecules* 15, 863–875.
- Dasgupta, Q., Chatterjee, K., Madras, G., 2015. Controlled release of salicylic acid from biodegradable cross-linked polyesters. *Mol. Pharm.* 12, 3479–3489.
- Goddard, J.M., Hotchkiss, J.H., 2007. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. *Prog. Polym. Sci.* 32, 698–725.
- Griffin, J., Delgado-Rivera, R., Meiners, S., Uhrich, K.E., 2011. Salicylic acid-derived poly(anhydride-ester) electrospun fibers designed for regenerating the peripheral nervous system. *J. Biomed. Mater. Res.—Part A* 97A, 230–242.
- Hoste, K., De Winne, K., Schacht, E., 2004. Polymeric prodrugs. *Int. J. Pharm.* 277, 119–131.
- Huang, X., Brazel, C.S., 2001. On the importance and mechanism of burst release in matrix controlled drug delivery systems. *J. Control. Release* 73, 121–136.
- Islas, L., Alvarez-Lorenzo, C., Magariños, B., Concheiro, A., Felipe, L., Burillo, G., 2015. Singly and binary grafted poly(vinyl chloride) urinary catheters that elute ciprofloxacin and prevent bacteria adhesion. *Int. J. Pharm.* 488, 20–28.
- Jantas, R., Herczyńska, L., 2010. Preparation and characterization of the poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-salicylic acid conjugate. *Polym. Bull.* 64, 459–469.
- Jantas, R., Raczyski, Z., Herczyńska, L., Stawski, D., 2012. Poly(vinyl alcohol)-salicylic acid conjugate: synthesis and characterization. *Am. J. Polym. Sci.* 2, 79–84.
- Karim, M.M., Lee, H.S., Kim, Y.S., Bae, H.S., Lee, S.H., 2006. Analysis of salicylic acid based on the fluorescence enhancement of the As(III)-salicylic acid system. *Anal. Chim. Acta* 576, 136–139.
- Khandare, J., Minko, T., 2006. Polymer-drug conjugates: progress in polymeric prodrugs. *Prog. Polym. Sci.* 31, 359–397.
- Ki, Y., Il, H., Soo, S., Hoe, K., Jang, S., Dong, K., 2003. Estrogen release from metallic stent surface for the prevention of restenosis. *J. Control. Release* 92, 83–91.
- Komnatnyy, V.V., Chiang, W.C., Tolker-Nielsen, T., Givskov, M., Nielsen, T.E., 2014. Bacteria-triggered release of antimicrobial agents. *Angew. Chem.—Int. Ed.* 53, 439–441.
- Kumar, U., Kato, T., Fréchet, J.M.J., 1992. Use of intermolecular hydrogen bonding for the induction of liquid crystallinity in the side chain of polysiloxanes. *J. Am. Chem. Soc.* 114, 6630–6639.
- Lee, Y.S., Griffin, J., Masand, S.N., Shreiber, D.I., Uhrich, K.E., 2016. Salicylic acid-based poly(anhydride-ester) nerve guidance conduits: impact of localized drug release on nerve regeneration. *J. Biomed. Mater. Res.—Part A* 104 A, 975–982.
- Licea-Claverie, A., Rogel-Hernández, E., López-Sánchez, J.A., Castillo-Arámula, L.A., Cornejo-Bravo, J.M., Arndt, K.F., 2003. A facile synthesis route for carboxyaryl-methacrylates: a way to obtain aromatic polyelectrolytes. *Des. Monomers Polym.* 6, 67–80.
- 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. *Radiat. Phys. Chem.* 107, 164–170.
- McCoy, C.P., Irwin, N.J., Brady, C., Jones, D.S., Andrews, G.P., Gorman, S.P., 2013. Synthesis and release kinetics of polymerisable ester drug conjugates: towards pH-responsive infection-resistant urinary biomaterials. *Tetrahedron Lett.* 54, 2511–2514.
- Melendez-Ortiz, H.I., Díaz-Rodríguez, P., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2014. Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug-device combo products. *J. Pharm. Sci.* 103, 1269–1277.
- Menhofer, H., Zlutecky, J., Heusinger, H., 1989. The influence of irradiation temperature and oxygen on crosslink formation and segment mobility in gamma-irradiated polydimethylsiloxanes. *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part C* 33, 561–566.
- Morais, J.M., Papadimitrakopoulos, F., Burgess, D.J., 2010. Biomaterials/tissue interactions: possible solutions to overcome foreign body response. *AAPS J.* 12, 188–196.
- Nowatzki, P.J., Koepsel, R.R., Stoodley, P., Min, K., Harper, A., Murata, H., Donfack, J., Hortelano, E.R., Ehrlich, G.D., Russell, A.J., 2012. Salicylic acid-releasing polyurethane acrylate polymers as anti-biofilm urological catheter coatings. *Acta Biomater.* 8, 1869–1880.
- Pacelli, S., Manoharan, V., Desalvo, A., Lomis, N., Jodha, K.S., Prakash, S., Paul, A., 2015. Tailoring biomaterial surface properties to modulate host-implant interactions: implication in cardiovascular and bone therapy. *J. Mater. Chem. B* 4, 1586–1599.
- Percival, S.L., Suleman, L., Donelli, G., 2015. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *J. Med. Microbiol.* 64, 323–334.
- 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. *Let. Appl. Microbiol.* 46, 593–599.
- Schmeltzer, R.C., Schmalenberg, K.E., Uhrich, K.E., 2005. Synthesis and cytotoxicity of salicylate-based poly(anhydride esters). *Biomacromolecules* 6, 359–367.

Figura 51. Publicación (7-7)

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS

REFERENCIAS

- Agrawal, N., 2015. Agrawal, N., 2015. Polymeric Prodrugs: Recent Achievements and General Strategies. *J. Antivir. Antiretrovir.* 01. doi:10.4172/jaa.S15-007 Polymeric Prodrugs: Recent Achievements and General Strategies. *J. Antivir. Antiretrovir.* 1. doi:10.4172/jaa.S15-007
- Al-Tahami, K., Singh, J., 2007. Smart polymer based delivery systems for peptides and proteins. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.* 1, 65–71. doi:10.2174/187221107779814113
- 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
- Alvarez-Lorenzo, C., Garcia-Gonzalez, C.A., Bucio, E., Concheiro, A., 2016. Stimuli-responsive polymers for antimicrobial therapy: drug targeting, contact-killing surfaces and competitive release. *Expert Opin. Drug Deliv.* 13, 1109–1119. doi:10.1080/17425247.2016.1178719
- Amato, S.F., 2015. Regulatory strategies for biomaterials and medical devices in the USA: classification, design, and risk analysis, *Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices.* Woodhead Publishing Limited. doi:10.1533/9780857099204.27
- Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S., Kankane, S., 2008. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Prog. Polym. Sci.* 33, 1088–1118. doi:10.1016/j.progpolymsci.2008.07.005
- Bazban-Shotorbani, S., Hasani-Sadrabadi, M.M., Karkhaneh, A., Serpooshan, V., Jacob, K.I., Moshaverinia, A., Mahmoudi, M., 2017. Revisiting structure-property relationship of pH-responsive polymers for drug delivery applications. *J. Control. Release* 253, 46–63. doi:10.1016/j.jconrel.2017.02.021
- Bondar, Y., Kim, H.J., Yoon, S.H., Lim, Y.J., 2004. Synthesis of cation-exchange adsorbent for anchoring metal ions by modification of poly(glycidyl methacrylate) chains grafted onto polypropylene fabric. *React. Funct. Polym.* 58, 43–51. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2003.11.006
- Bose, S., Ghosh, A.K., 2015. Diagnosis of biofilm- associated infections in medical devices, *Biomaterials and Medical Device-associated Infections.* Woodhead Publishing Limited. doi:10.1533/9780857097224.1.71
- Briscoe, W.H., 2014. Polymers and Nanoscience. *Colloid. Found. Nanosci.* 107–133. doi:10.1016/B978-0-444-59541-6.00005-9

- Chandorkar, Y., Bhagat, R.K., Madras, G., Basu, B., 2014. Cross-linked, biodegradable, cytocompatible salicylic acid based polyesters for localized, sustained delivery of salicylic acid: An in vitro study. *Biomacromolecules* 15, 863–875. doi:10.1021/bm401715z
- Chapiro, A., 1977. *Radiat. Phys. Chem.* 1977, Vol. 9, pp. 55-67. Pergamon Press. Printed in Great Britain. 9, 55–67.
- Cooper, I.R., 2015. Introduction to biomaterials and medical device-associated infections. *Biomater. Med. Device - Assoc. Infect.* 3–17. doi:10.1533/9780857097224.1.3
- Dasgupta, Q., Chatterjee, K., Madras, G., 2015. Controlled Release of Salicylic Acid from Biodegradable Cross-Linked Polyesters. *Mol. Pharm.* 12, 3479–3489. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00515
- Desai, K., 2015. Postmarket surveillance approaches for biomaterials and medical devices in the USA, *Regulatory Affairs for Biomaterials and Medical Devices*. Woodhead Publishing Limited. doi:10.1533/9780857099204.145
- Fleige, E., Quadir, M.A., Haag, R., 2012. Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: Concepts and applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 866–884. doi:10.1016/j.addr.2012.01.020
- 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
- Gong, J., Chen, Y., Jiang, J., Yang, L., Li, J., 2016. A numerical study of thermal degradation of polymers: Surface and in-depth absorption. *Appl. Therm. Eng.* 106, 1366–1379. doi:10.1016/j.applthermaleng.2016.06.114
- Huang, J., Turner, S.R., 2016. Recent advances in alternating copolymers: The synthesis, modification, and applications of precision polymers. *Polym. (United Kingdom)* 116, 572–586. doi:10.1016/j.polymer.2017.01.020
- Huang, X., Brazel, C.S., 2001. On the importance and mechanism of burst release in matrix controlled drug delivery systems. *J. Control. Release* 73, 121–136.
- Islas, L., Alvarez-lorenzo, C., Magariños, B., Concheiro, A., Felipe, L., Burillo, G., 2015. Singly and binary grafted poly (vinyl chloride) urinary catheters that elute cipro fl oxacin and prevent bacteria adhesion. *Int. J. Pharm.* 488, 20–28. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.04.036
- Jantas, R., Herczyńska, L., 2010. Preparation and characterization of the poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-salicylic acid conjugate. *Polym. Bull.* 64, 459–469. doi:10.1007/s00289-009-0189-x

- Karim, M.M., Lee, H.S., Kim, Y.S., Bae, H.S., Lee, S.H., 2006. Analysis of salicylic acid based on the fluorescence enhancement of the As(III)–salicylic acid system. *Anal. Chim. Acta* 576, 136–139. doi:10.1016/j.aca.2006.02.004
- Khandare, J., Minko, T., 2006. Polymer-drug conjugates: Progress in polymeric prodrugs. *Prog. Polym. Sci.* 31, 359–397. doi:10.1016/j.progpolymsci.2005.09.004
- Kumar, U., Kato, T., Fréchet, J.M.J., 1992. Use of Intermolecular Hydrogen Bonding for the Induction of Liquid Crystallinity in the Side Chain of Polysiloxanes. *J. Am. Chem. Soc.* 114, 6630–6639. doi:10.1021/ja00043a004
- Licea-Claveríe, a., Rogel-Hernández, E., Lopéz-Sanchez, J. a., Castillo-Arámbula, L. a., Cornejo-Bravo, J.M., Arndt, K.F., 2003. A facile synthesis route for carboxyaryl-methacrylates: a way to obtain aromatic polyelectrolytes. *Des. Monomers Polym.* 6, 67–80. doi:10.1163/156855503321127547
- Lopez-Saucedo, F., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2017. Radiation-grafting of vinyl monomers separately onto polypropylene monofilament sutures. *Radiat. Phys. Chem.* 132, 1–7. doi:10.1016/j.radphyschem.2016.11.006
- Maitz, M.F., 2015. Applications of synthetic polymers in clinical medicine. *Biosurface and Biotribology* 1, 161–176. doi:10.1016/j.bsbt.2015.08.002
- Melendez-Ortiz, H.I., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2015. Grafting of *N*-vinyl caprolactam and methacrylic acid onto silicone rubber films for drug-eluting products. *J. Appl. Polym. Sci.* 132, n/a-n/a. doi:10.1002/app.41855
- Melendez-Ortiz, H.I., Díaz-Rodríguez, P., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2014. Binary graft modification of polypropylene for anti-inflammatory drug-device combo products. *J. Pharm. Sci.* 103, 1269–1277. doi:10.1002/jps.23903
- Menhofer, H., Heusinger, H., 1987. Radical formation in polydimethylsiloxanes and polydimethyldiphenylsiloxanes studied by the ESR spintrap technique. *Int. J. Radiat. Appl. Instrumentation. Part 29*, 243–251.
- Merkle, H.P., 2015. Drug delivery's quest for polymers: Where are the frontiers? Dedicated to Robert Gurny on the occasion of his 70th birthday. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 97, 293–303. doi:10.1016/j.ejpb.2015.04.038
- Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H., 2008. Radical addition-fragmentation chemistry in polymer synthesis. *Polymer (Guildf)*. 49, 1079–1131.
- Nowatzki, P.J., Koepsel, R.R., Stoodley, P., Min, K., Harper, A., Murata, H., Donfack, J., Hortelano, E.R., Ehrlich, G.D., Russell, A.J., 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

- Pacelli, S., Manoharan, V., Desalvo, A., Lomis, N., Jodha, K.S., Prakash, S., Paul, A., 2015. Tailoring biomaterial surface properties to modulate host-implant interactions: implication in cardiovascular and bone therapy. *J. Mater. Chem. B* 4, 1586–1599. doi:10.1039/C5TB01686J
- Percival, S.L., Suleman, L., Donelli, G., 2015. Healthcare-Associated infections, medical devices and biofilms: Risk, tolerance and control. *J. Med. Microbiol.* 64, 323–334. doi:10.1099/jmm.0.000032
- Pino-Ramos, V.H., Ramos-Ballesteros, A., Lopez-Saucedo, F., Lopez-Barriguete, J.E., Varca, G.H.C., Bucio, E., 2016. Radiation Grafting for the Functionalization and Development of Smart Polymeric Materials. *Top. Curr. Chem.* 374.
- Poole-Warren, L.A., Patton, A.J., 2015. Introduction to biomedical polymers and biocompatibility, *Biosynthetic Polymers for Medical Applications*. Elsevier Ltd.
- Puiu, R.A., Dolete, G., Ene, A.M., Nicoară, B., Vlăsceanu, G.M., Holban, A.M., Grumezescu, A.M., Bolocan, A., 2016. Properties of biofilms developed on medical devices. *Biofilms Implant. Med. Devices Infect. Control* 25–46. doi:10.1016/B978-0-08-100382-4.00002-2
- Qian, C., Wan, G., Frazier, C.E., Baird, D.G., 2016. Isothermal crystallization of blends containing two thermotropic liquid crystalline polymers. *Mater. Today Commun.* 9, 16–21. doi:10.1016/j.mtcomm.2016.09.002
- Rodriguez, I.C Cerezo, A Salem, I., 2000. Bioadhesive delivery systems. *Ars Pharm.* 41, 1–115.
- 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. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 70, 467–477. doi:10.1016/j.ejpb.2008.05.020
- Venturi, M., D'Angelantonio, M., 2017. Applications of radiation chemistry in the fields of industry, biotechnology and environment.
- Verheyen, L., Leysen, P., Van Den Eede, M.P., Ceunen, W., Hardeman, T., Koeckelberghs, G., 2017. Advances in the controlled polymerization of conjugated polymers. *Polym. (United Kingdom)* 108, 521–546. doi:10.1016/j.polymer.2016.09.085
- Ward, M.A., Georgiou, T.K., 2011. Thermoresponsive polymers for biomedical applications. *Polymers (Basel)*. 3, 1215–1242. doi:10.3390/polym3031215
- Zuñiga-Zamorano, I., Meléndez-Ortiz, H.I., Costoya, A., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Bucio, E., 2016. Poly(vinyl chloride) catheters modified with pH-responsive poly(methacrylic acid) with affinity for antimicrobial agents. *Radiat. Phys. Chem.* 0–1. doi:10.1016/j.radphyschem.2017.02.008

