

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas



Tesis Doctoral

**Síntesis y caracterización de materiales
poliméricos para sistemas de transporte y
liberación de fármacos con potenciales
aplicaciones en terapias oftalmológicas.**

Lic. Paula Andrea Faccia

Director: Dr. Javier I. Amalvy

Marzo 2013.-

RESUMEN

La administración tópica de medicamentos en terapias oftalmológicas consiste en colocar el fármaco (generalmente una solución o suspensión) directamente sobre el ojo mediante goteo. Luego de esta aplicación el tiempo de residencia del fármaco en la película lagrimal es generalmente corto, típicamente entre 2 y 5 minutos, y durante este tiempo solamente se absorbe en el tejido corneal entre 1 y 10 % de la dosis aplicada. El resto del fármaco es drenado hacia la circulación sistémica junto con la lágrima. Usualmente estas limitaciones son compensadas con la aplicación de dos o más dosis seguidas, espaciadas cada 5 minutos, a fin de alcanzar la dosis terapéutica en el tejido. Según la gravedad de la patología, puede que este procedimiento deba realizarse varias veces al día. Todo este proceso conlleva a que se produzcan fluctuaciones muy marcadas en los niveles del fármaco en los tejidos, pudiendo alcanzarse valores superiores o inferiores a los niveles terapéuticos requeridos. Además, el uso de gotas oculares está asociado a una rápida variación en la velocidad de administración del fármaco a la córnea, lo cual a su vez limita la eficacia del sistema terapéutico.

Si bien la administración tópica clásica mediante gotas (colirios) es de fácil aplicación y presenta menos complicaciones potenciales que otros sistemas de administración tópica (inyecciones, insertos, etc.), no es posible tener un control adecuado de la administración del fármaco ya que no permite controlar los niveles alcanzados con sucesivas aplicaciones durante todo el periodo de tratamiento.

Por otra parte la absorción sistémica del fármaco a través del drenaje lagrimal genera una distribución del mismo en tejidos no específicos y evita el pasaje por el hígado, pudiendo causar efectos adversos sistémicos importantes, en especial cuando se administran de manera crónica.

Con el objetivo de mejorar la absorción del fármaco en el sitio de acción o de absorción específico se han desarrollado estrategias alternativas que permiten aumentar su tiempo de permanencia en el ojo. Estos sistemas se denominan *sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos* y se basan en la posibilidad de localizar el fármaco o la droga justamente en el sitio de acción y suministrar la cantidad necesaria durante el tiempo requerido, con el propósito de mejorar la biodisponibilidad y disminuir los efectos no deseados. Los sistemas de transporte y liberación de medicamentos son diseñados para regular la velocidad de liberación del fármaco,

mantener una concentración terapéutica estable en el organismo, y evitar que se produzcan fluctuaciones importantes en sus niveles plasmáticos.

En este caso la frecuencia de dosificación disminuye, se reduce el peligro de sobredosificación, se mejora la absorción, se alcanza un mayor tiempo de residencia y se producen menos efectos secundarios.

La liberación de la droga a partir de estos sistemas puede ser constante durante un dado período o bien puede estar promovida por la acción de un determinado factor del entorno.

Dentro de los sistemas alternativos para la administración de medicamentos oculares se encuentran las formulaciones semisólidas (geles), los ungüentos, los sistemas coloidales, los insertos y las lentes de contacto. Estos sistemas incrementan significativamente la eficiencia de las terapias oculares. Sin embargo presentan algunos inconvenientes como ser: visión borrosa en el caso de geles y ungüentos, problemas de colocación y expulsión, como sucede con los injertos.

En el caso de las lentes de contacto, además de prolongar el tiempo de permanencia, también mejora la absorción, ya que su dimensión y ubicación (frente a la córnea) permite un contacto íntimo con la superficie corneal. Además presentan la ventaja de no interferir con la visión del paciente, no son expulsadas del ojo y en general presentan un alto confort.

Las lentes de contacto adecuadas para estos fines son las denominadas “blandas” y son fabricadas empleando hidrogeles poliméricos ligeramente entrecruzados y se las conoce como lentes de contacto terapéuticas. Estas lentes de contacto terapéuticas, son preparadas fácilmente como sistemas de liberación mediante la inmersión de la lente en una solución de la droga o principio activo y actuando como reservorio.

Las lentes de contacto de hidrogel han sido propuestas desde 1965 como posibles dispositivos para liberación o *delivery* de drogas. Sin embargo la mayoría de los estudios realizados desde esa fecha apuntan al estudio de la eficiencia que presentan las lentes de contacto blandas, diseñadas para otros fines (corrección óptica) como reservorio de medicamentos. Los inconvenientes que se presentan con las lentes de contacto blandas comerciales como sistemas de liberación controlada es su baja afinidad y capacidad de captar diferentes tipos de fármacos. Asimismo, en los casos donde la carga del fármaco en el hidrogel es adecuada, su mayor limitación radica en que la liberación para algunos fármacos ocurre demasiado rápido como para mantener niveles

terapéuticos en las estructuras oculares durante períodos de tiempo suficientemente largos.

En los últimos años se ha puesto mayor énfasis en la innovación tecnológica de lentes de contacto diseñados específicamente para sistemas de liberación de fármacos, debido en parte a los avances realizados en la comprensión de los mecanismos involucrados en los procesos de liberación, y al desarrollo y aplicación de nuevas estrategias orientadas a mejorar la capacidad de carga y el desempeño de estos sistemas.

El comportamiento ideal de un sistema de liberación controlada o *delivery* de fármacos debería ser tal que pudiese regular la velocidad de liberación de forma tal de administrar la cantidad apropiada de fármaco, en el lugar adecuado y en el momento necesario.

Una estrategia aplicada recientemente en el campo de la tecnología farmacéutica para el desarrollo de sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos es el uso de hidrogeles responsivos, materiales con grupos funcionales capaces de modificar su estructura en respuesta a estímulos externos. En este marco, la aplicación de hidrogeles responsivos se basa en la posibilidad de que estos materiales modifiquen sus estructuras ante cambios del entorno, provocados por la presencia de un estado patológico, por requerimientos biológicos fluctuantes o por la aparición de ciertas biomoléculas, y liberen la cantidad apropiada del principio activo (fármaco) en función de la magnitud de ese cambio. La ventaja de emplear estos materiales radica en que se combinan las propiedades características de los hidrogeles con el potencial de regular la captación o liberación de sustancias en respuesta a cambios producidos en el entorno.

El objetivo de este trabajo es sintetizar hidrogeles responsivos para su aplicación como sistemas de transporte y liberación de fármacos oculares de forma tal que permitan aumentar los tiempos de permanencia del fármaco en contacto con los tejidos oculares y lograr ejercer un control efectivo en la velocidad de liberación del mismo. Como se expuso previamente, esto permitirá: aumentar la absorción del fármaco, mejorar la biodisponibilidad, minimizar los efectos secundarios, disminuir la frecuencia de dosificación, evitar múltiples aplicaciones por dosis y mejorar el cumplimiento de la pauta terapéutica por parte de los pacientes. Particularmente, en este trabajo la elección del material se orientó hacia la posibilidad de modular la velocidad de liberación del fármaco en respuesta a pequeños cambios en el valor del pH lagrimal.

A partir de copolímeros de dos monómeros acrílicos, 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) y 2-(diisopropilamino)etil metacrilato (DPA), esperamos obtener un material,

que presente por un lado propiedades compatibles para ser uso en la fabricación de lentes de contacto; y por otro lado que posea propiedades pH responsivas que permitan ser utilizados como sistemas para modular la liberación de fármacos y en particular en terapias oftalmológicas.

El presente trabajo está organizado en capítulos. En el capítulo I se introduce el tema con una breve exposición de los conceptos generales sobre la administración de fármacos oculares y las vías de absorción. También se definen los sistemas de liberación controlada, sus características, y particularmente se describen las ventajas y desventajas del empleo de lentes de contacto terapéuticas y las posibilidades de emplear sistemas responsivos.

En el capítulo II se describe de forma general la síntesis de los hidrogeles y los materiales y métodos empleados para la misma.

En el capítulo III se estudian las propiedades fisicoquímicas de los hidrogeles sintetizados empleando diferentes técnicas de caracterización. Se estudian las características espectrales, las propiedades térmicas y las características superficiales. Como caracterización específica para su potencial aplicación se estudian las propiedades ópticas, la humectabilidad, el contenido acuoso y la densidad, a fin de determinar si los mismos son compatibles con su uso como lente de contacto terapéutica.

En el capítulo IV se estudia el comportamiento de los copolímeros HEMA/DPA como sistemas de captación y liberación de principios activos, y su capacidad de controlar la velocidad de liberación a través de cambios en el pH del medio. En primer lugar se realiza un estudio sobre la capacidad de incorporar diferentes principios activos en diferentes condiciones de carga (pH y concentración de la solución de carga); en segundo lugar se analizan las interacciones entre algunos principios activos incorporados y la matriz de los polímeros; y en tercer lugar se estudia la capacidad de liberar los principios activos incorporados. A partir de éstos se determinan los tiempos y las cantidades de compuestos liberados en diferentes condiciones de pH y para las distintas composiciones y grados de entrecruzamiento de los hidrogeles.

En el capítulo V se detallan las conclusiones generales de este trabajo y en el capítulo IX se plantean actividades y líneas de estudio que pueden ser motivo de trabajos futuros.

AGRADECIMIENTOS

A Fran por ser mi sustento todos estos años, por toda la alegría y el amor que me da día a día, por el aporte para este trabajo y fundamentalmente por esa vida que viene en camino y que tanto ansiamos.

A mis padres y a mi hermano Martín por permitirme llegar a donde estoy, por todo el apoyo, y cariño.

A mi director Javier por guiarme en este camino, por comprensión, colaboración, paciencia y por su buena predisposición para permitirme realizar la tesis con total libertad.

A Oscar y Guille por escucharme, aconsejarme, y por su valiosa ayuda en este trabajo, y fundamentalmente por aceptarme en su familia.

A Pichi, Oti, Negro, Juan y Alejo por dejarme formar parte de su familia.

A CONICET, por otorgarme las becas que me permitieron realizar este trabajo.

Al INIFTA y su gente, por permitirme realizar mis tareas de Tesis en sus instalaciones y por la permanente colaboración.

A mis amigas Nati, Lau, Ari y Vere por compartir buenos momentos y estar siempre presentes.

A Marita y Flor por su compañía, amistad y apoyo de todo el año en la facultad.

A Pablo, Seba y Gaby por su buena onda, por brindarme un ambiente agradable y amigable de trabajo, y por el tiempo dedicado a ayudarme.

A Susana Cortizo, por el material y equipo prestado, y por la buena onda y los mates compartidos junto a ella y Fernando, Tamara, Juan y Marcos.

A los becarios del centro por su constante colaboración y a Flor y Mavi por sus charlas y buena onda.

A Luciano Carlo y Laura Dántola por ayudarme con las mediciones de actinometría.

Al Dr. Néstor Murray por su disposición para consultas y orientación

GRACIAS

ÍNDICE

I.1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
I.1.1. Anatomía y fisiología ocular	
I.1.2. Aspectos generales de la administración de fármacos para el tratamiento de afecciones oculares	
I.1.2.1. Vías de administración tópica	
I.1.2.1.1. Vías de absorción del medicamento durante la administración tópica	
I.1.2.1.2. Administración de colirios	
I.1.2.1.3. Estrategias para mejorar la absorción del fármaco administrado por vía tópica	
I.1.3. Sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos	
I.1.3.1. Sistemas para aplicaciones oftalmológicas	
I.1.3.1.1. Lentes de contacto blandas terapéuticas	
I.1.3.1.1.1. Incorporación del fármaco en el hidrogel	
I.1.3.1.1.2. Mecanismo de liberación	
I.1.3.1.1.3. Observaciones sobre la eficiencia de la liberación.	
I.1.4. Hidrogeles sensibles a las condiciones del entorno	
I.1.5. Fármacos y principios activos empleados	
I.2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	37
I.3. BIBLIOGRAFÍA	39
<hr/>	
II. SÍNTESIS Y PREPARACIÓN DE HIDROGELES DE p(HEMA-co-DPA)	43
II.1. INTRODUCCIÓN	43
II.1.1. Estructura y características del hidrogel	
II.1.2. Síntesis de los hidrogeles	
II.2. PARTE EXPERIMENTAL	50
II.2.1. Reactivos empleados para la síntesis de los copolímeros	
II.2.2.1. Purificación de los monómeros mediante extracción por cromatografía en columna	
II.2.2.1.1. Control de la purificación de monómeros por Resonancia Magnética Nuclear de ¹ H (¹ H-NMR)	
II.2.2.1.2. Control de la purificación de monómeros por FTIR	
II.2.2. Molde empleado para la polimerización	

II.2.3. Lámpara UV empleada para la fotoiniciación	
II. 2.4. Procedimiento de polimerización	
II.2.4.1. Seguimiento de la polimerización radicalaria fotoiniciada mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier	
II.2.5. Preparación de de los copolímeros y homopolímeros sintetizados	
II.2.5.1. Purificación de los hidrogeles	
II.2.5.2. Corte y almacenado de las películas de los copolímeros y homopolímeros	
II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	60
II.3.1. Determinación de la intensidad de la lámpara UV	
II.3.2. Tiempo de polimerización	
II.3.3. Preparación de películas de p(HEMA-co-DPA) para caracterización	
II.4. CONCLUSIONES	65
II.5. BIBLIOGRAFÍA	65
<hr/>	
III. CARACTERIZACIÓN DE LOS HIDROGELES	67
III.1. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA	67
III.1.1. PARTE EXPERIMENTAL	67
III.1.1.1. Espectroscopia infrarroja de transmisión por transformada de Fourier (FTIR)	
III.1.1.2. Espectroscopia UV	
III.1.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
III.1.2.1. Espectroscopia infrarroja de transmisión por transformada de Fourier (FTIR)	
III.1.2.2. Espectroscopia UV	
III.1.3. CONCLUSIONES	82
III.2. PROPIEDADES TÉRMICAS	85
III.2.1. PARTE EXPERIMENTAL	85
III.2.1.1. Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)	
III.2.1.2. Análisis termogravimétrico y térmico diferencial (TGA-DTA)	
III.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	86
III.2.2.1. Determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g)	
III.2.2.2. Estado de las moléculas de agua en el interior del hidrogel	
III.2.2.3. Estabilidad térmica	

III.2.3. CONCLUSIONES	123
III.3. CONTENIDO ACUOSO Y DINÁMICA DE HINCHAMIENTO	125
III.3.1. PARTE EXPERIMENTAL	125
III.3.1.1. Contenido Acuoso	
III.3.1.2. Cinéticas de hidratación-deshidratación-rehidratación	
III.3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	126
III.3.2.1. Análisis del contenido acuoso en función del pH a 25,0 °C	
III.3.2.2. Análisis del contenido acuoso en función del pH a 34,5 °C	
III.3.2.3. Determinación del pKa para las películas de p(HEMA-co-DPA) a partir de las curvas de contenido acuoso a 25,0 y 34,5 °C	
III.3.2.4. Análisis del contenido acuoso en función de la temperatura	
III.3.2.5. Ensayos de hidratación-deshidratación-rehidratación	
III.3.3. CONCLUSIONES	137
III.4. CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL	139
III.4.1. PARTE EXPERIMENTAL	139
III.4.1.1. Ángulo de contacto	
III.4.1.2. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)	
III.4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	142
III.4.2.1. Humectabilidad	
III.4.2.2. Análisis microscópico de la morfología superficial e interna del hidrogel	
III.4.3. CONCLUSIONES	160
III.5. PROPIEDADES ÓPTICAS	163
III.5.1. PARTE EXPERIMENTAL	163
III.5.1.1. Transmisión de luz visible	
III.5.1.2. Índice de refracción	
III.5.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	164
III.5.2.1. Transmisión de luz en el espectro visible	
III.5.2.2. Índice de refracción.	
III.5.3. CONCLUSIONES	168
III.6. OTRAS PROPIEDADES	169
III.6.1. PARTE EXPERIMENTAL	169
III.6.1.1. Determinación de la densidad	
III.6.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	170
III.6.2.1. Densidad del hidrogel	

III.6.3. CONCLUSIONES	170
III.7. BIBLIOGRAFÍA	171

IV. HIDROGELES COMO SISTEMAS DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS	177
IV.2. INCORPORACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS	184
IV.2.1. PARTE EXPERIMENTAL	184
IV.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	185
IV.2.2.1. Relación entre las características del principio activo y su incorporación	
IV.2.2.2. Efecto del pH de la solución de carga sobre la cantidad de PA incorporado.	
IV.2.2.3. Relación entre la concentración de la solución de carga y la cantidad de principio activo incorporado	
IV.2.2.4. Cinéticas de incorporación de R6G y DXP	
IV.3. INTERACCIÓN ENTRE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y LA MATRIZ DEL POLÍMERO	206
IV.3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	206
IV.3.1.1. Incorporación del PA en la matriz del polímero empleando la técnica de espectroscopía FTIR por transmisión	
IV.3.1.2. Análisis microscópico (SEM) de los hidrogeles con principios activos incorporados	
IV.4. ENSAYOS DE LIBERACIÓN	215
IV.4.1. PARTE EXPERIMENTAL	215
IV.4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	216
IV.4.2.1. RODAMINA 6G COMO PRINCIPIO ACTIVO MODELO	216
IV.4.2.1.1. Liberación a pH ocular medio	
IV.4.2.1.2 Liberación a diferentes valores de pH desde películas en estado colapsado	
IV.4.2.1.3. Liberación a varios pH de películas en estado abierto	
IV.4.2.2. DEXAMETASONA COMO FÁRMACO DE USO TERAPÉUTICO	239
IV.4.2.2.1. Liberación a pH y temperaturas oculares	
IV.4.2.2.2. Liberación con cambios dinámicos de pH8	
IV.5. CONCLUSIONES	246

IV.6. BIBLIOGRAFÍA	250
<hr/>	
V. CONCLUSIONES GENERALES	257
VI. APÉNDICE	259
VII. LISTA DE REACTIVOS	275
VIII. DIVULGACIÓN CIENTÍFICA	276
IX. TRABAJOS FUTUROS	277
X. LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	278
XI. LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	291

I.1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El presente capítulo considera el abordaje del tema de sistemas poliméricos para transporte y liberación controlada de fármacos oculares. En una primera instancia se introducen algunos conceptos básicos sobre la anatomía y fisiología del globo ocular, principalmente del segmento anterior, y la administración de fármacos oculares, enfocando el tema hacia la administración tópica: sus vías de absorción, la farmacocinética, su eficacia y sus complicaciones. Luego se introducen los sistemas de transporte y liberación controlada, como estrategia para mejorar la administración de fármacos, se repasan algunos conceptos y se ofrecen ejemplos generales y específicos de su aplicación en terapias oftalmológicas. Dentro de estas estrategias, el interés se centra en el uso de hidrogeles como sistema de transporte y liberación controlada de fármacos, particularmente aplicados como lentes de contacto terapéuticas.

En este punto se desarrolla el aporte central de este estudio que se centra en la consideración e implementación de la lente de contacto de hidrogel como sistema de liberación, para comprender su funcionamiento, ventajas y limitaciones. Posteriormente se plantea como alternativa, para mejorar la eficiencia de las terapias oculares, el empleo de hidrogeles responsivos como sistema polimérico de transporte y liberación controlada de fármacos con potencial aplicación en el tratamiento de patologías oculares, todo lo cual constituye el aporte central de este estudio.

Por último se lleva a cabo una revisión de los fármacos y principios activos que han sido ensayados en combinación con hidrogeles (correspondientes a lentes de contacto comerciales y a nuevos materiales diseñados específicamente para la mencionada aplicación) en estudios *in vivo* e *in vitro*. Finalmente se describen las características y propiedades de los fármacos y principios activos que se utilizan en el presente trabajo.

I.1.1. Anatomía y fisiología ocular

El ojo humano es el órgano del sentido de la visión, y se constituye como una estructura esférica blanco nacarada de 24 mm de diámetro promedio en el adulto. Un esquema de la anatomía del globo ocular se muestra en la Figura I.1.1.1:

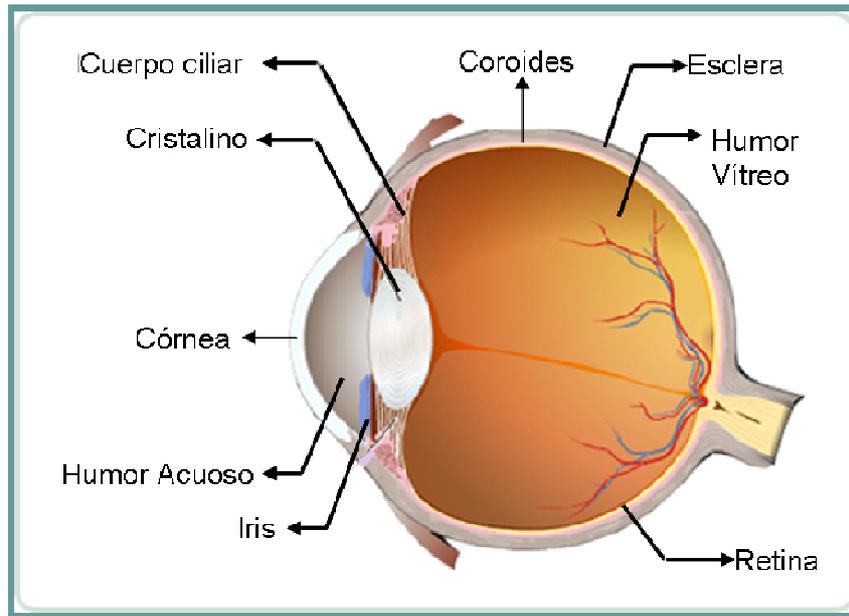


Figura I.1.1.1. Esquema del globo ocular

El globo ocular está formado por tres capas concéntricas, cada una de las cuales cumple con una función distinta. La túnica externa del ojo está formada en la parte anterior por la córnea transparente, y en la parte posterior por la esclera. Esta capa tiene por función proteger el contenido ocular y mantener la forma del globo ocular. La túnica media es la úvea, que está formada por tres estructuras bien diferenciadas, y de atrás hacia delante se conocen como: la coroides, el cuerpo ciliar y el iris. Por último, la túnica interna es la retina, que es una capa fotosensible y su función es convertir los estímulos lumínicos en impulsos nerviosos para dar inicio al proceso visual. En el interior del ojo se encuentra el cristalino, que es una estructura transparente y avascular cuya función, junto con la córnea, es enfocar la luz incidente en los elementos sensoriales de la retina. Esta estructura separa el humor acuoso, que ocupa la cavidad anterior del globo ocular, del humor vítreo, que ocupa la cavidad posterior del globo ocular. El humor acuoso ocupa el volumen libre de dos zonas: la cámara anterior, que corresponde al espacio ubicado entre la córnea y el iris; y la cámara posterior que es el espacio comprendido entre el iris y el cristalino. El volumen total del humor acuoso es de 200-300 μl y presenta un flujo de 2-5 $\mu\text{l}/\text{min}$ (Sasaki H. y col., 1996). Los fármacos que son exitosamente absorbidos por el tejido corneal, se distribuyen en el volumen del humor acuoso, y su eliminación ocurre principalmente por excreción junto con esta sustancia, por metabolismo, y/o por absorción y posterior eliminación a través de los tejidos vasculares de la úvea (Sasaki H. y col., 1996). Los líquidos oculares están

separados del flujo sistémico por barreras formadas por uniones herméticas entre las células epiteliales y endoteliales. Estas barreras se denominan hematoacuosa y hematorretiniana, dependiendo de su localización en el ojo.

El sistema ocular también posee un conjunto de estructuras auxiliares llamados anexos oculares, que comprenden los párpados y el aparato lagrimal, cuya función es proteger el ojo y favorecer su función visual.

El globo ocular se puede dividir en dos segmentos, uno anterior y otro posterior, cada uno de los cuales agrupa las estructuras que se encuentran altamente relacionadas entre sí por su anatomía y fisiología. El segmento anterior agrupa las estructuras comprendidas entre los párpados y la cara anterior del cristalino e incluye: los párpados, el aparato lagrimal, la película lagrimal, el cristalino, el iris, el cuerpo ciliar, las cámaras anterior y posterior, la cornea y la conjuntiva (Guerrero Vargas J.J., 2006). A su vez existe una subclasificación que agrupa las estructuras expuestas del ojo: cornea, conjuntiva, párpados y película lagrimal. Esta subclasificación se conoce como segmento externo del ojo, estas estructuras presentan una influencia directa en la biodisponibilidad, absorción y eficacia de los fármacos administrados por vía tópica.

- Córnea

La córnea es una estructura en forma de lente transparente ligeramente elíptica. Se encuentra conformada por cinco capas, que en orden antero-posterior son: epitelio, membrana de Bowman, estroma, membrana de Descemet y endotelio.

El epitelio es la principal barrera para la penetración de los fármacos oculares administrados por vía tópica. Esta capa posee una composición rica en lípidos por lo que permite un mejor paso de los fármacos liposolubles, al igual que el endotelio. Si el epitelio no está intacto, como es en casos de abrasiones corneales o úlceras infecciosas; o se encuentra inflamado, la penetración intraocular del fármaco es mayor. Por otra parte el estroma es una capa de carácter hidrofílico, que ocupa el 90% del espesor corneal (500 μm), y forma una barrera para los fármacos altamente hidrofóbicos (Duvall B.S. y col., 2006). De esta forma para que un fármaco sea absorbido por el tejido corneal y pueda alcanzar el humor acuoso, deberá atravesar previamente una barrera lípido-agua-lípido que corresponde a la barrera formada por el epitelio-estroma-endotelio.

- *Conjuntiva*

Es una membrana laxa y transparente. Se distinguen tres partes (Figura I.1.1.2): la conjuntiva bulbar, que reviste la cara anterior del globo ocular desde el limbo hasta los fondos de saco; la conjuntiva tarsal, que se extiende por la superficie posterior de los párpados hasta su borde libre; y el fornix o fondos de saco conjuntival que es una zona plegada, de transición entre la conjuntiva bulbar y tarsal, ubicada en el punto de contacto entre la porción móvil del párpado y la esclera. El fondo de saco cumple la función de reservorio de los medicamentos administrados por vía tópica.

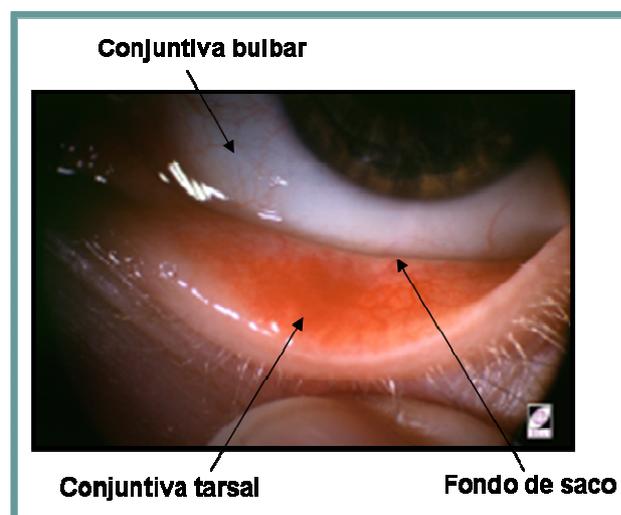


Figura I.1.1.2: Imagen de la conjuntiva bulbar, tarsal y el fondo de saco.

- *Película lagrimal*

La película lagrimal pre-corneal es una capa de fluido compleja que puede ser considerada como una estructura trilaminar, en la cual se distinguen (de afuera hacia adentro) la capa lipídica, la capa acuosa y la capa de mucina. La capa lipídica es secretada por las glándulas de Meibomio y las glándulas accesorias de Zeis, y posee un espesor de $0,1 \mu\text{m}$ (Baeyens V. y Gurny R, 1997). Esta capa posee un papel importante en la estabilidad de la película lagrimal, ya que previene una rápida evaporación de la misma. La capa acuosa es secretada por la glándula principal y las glándulas accesorias de Krause y Wolfring, ocupa el 95 % del volumen de la película lagrimal, y tiene un espesor de $6,5 \pm 1,2 \mu\text{m}$ (determinado con el método fluorométrico (Mishima, 1965)). La capa mucosa es secretada por las células caliciformes de la conjuntiva, se encuentra formada por glicoproteínas, y su función es favorecer el contacto entre la capa acuosa (hidrofílica) y la superficie corneal (hidrofóbica).

La función de la película lagrimal es formar y mantener una superficie óptica lisa y uniforme sobre la superficie de la córnea; eliminar los desechos y cuerpos extraños del ojo; nutrir y lubricar la córnea y la conjuntiva; y aportar una actividad antibacteriana.

La película lagrimal normal tiene un volumen entre 5 y 10 μl , un espesor de 5 a 10 μm (Van Heringen N.J., 1981), su presión osmótica es 300 mOsm/l que equivale a una solución de NaCl de 0,9 %, y el pH promedio es de 7,4 y varía entre 7,3 y 7,7 (Moses R.A. y Hart W.M., 1988). La película lagrimal está compuesta por lípidos (polares y no polares), proteínas (IgA, IgM, IgE, IgG, albúmina, lisozima, etc.), sales (Cl^- , Na^+ , K^+ , HCO_3^- , Ca^{+2} , Mg^{+2}), glucosa, y minerales entre otros compuestos.

- *Drenaje lagrimal*

El flujo lagrimal normal es aproximadamente de 0,5 a 2,2 $\mu\text{l}/\text{min}$ y disminuye con la edad. La lágrima se elimina a través del sistema excretor (Figura I.1.1.3) formado por los puntos lagrimales, conductillos lagrimales, el saco lagrimal y el conducto nasolagrimal (Moses R.A. y Hart W.M., 1988). La vía lagrimal excretora se inicia en los puntos lagrimales que son dos aberturas de 0,3 mm ubicadas en la porción interna de cada párpado. La lágrima se absorbe con cada parpadeo a través de estos puntos y continúa su excreción atravesando las diferentes estructuras del sistema excretor hasta alcanzar la cavidad nasal donde se reabsorbe en las mucosas nasales.

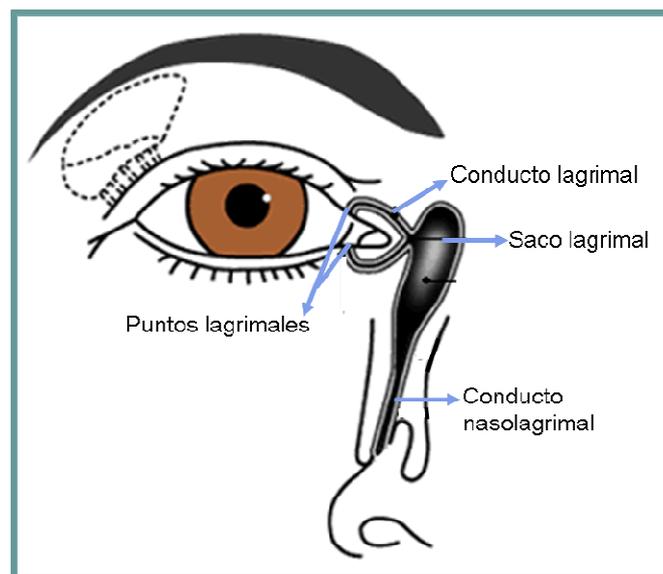


Figura I.1.1.3. Anatomía del sistema lagrimal excretor.

La administración tópica de muchos medicamentos, generan una estimulación del flujo lagrimal al producir irritación ocular. La concentración del fármaco disponible en la lágrima para ser absorbido por los tejidos oculares, es inversamente proporcional al flujo lagrimal como consecuencia de la dilución de la droga y su posterior depuración a través del conducto nasolagrimal (Bartlett J.D. y Jaanus S.D., 2008).

I.1.2. Aspectos generales sobre la administración de fármacos para el tratamiento de afecciones oculares

El ojo puede verse afectado por muchas condiciones patológicas, de índole variado, como son infecciones, alergias, inflamaciones, procesos degenerativos, etc., y la mayoría de los tratamientos empleados en estas condiciones involucran la administración de fármacos.

La penetración ocular de los fármacos ocurre por difusión a través de los fluidos extracelulares (el plasma y la lágrima). Aunque, la eficacia con la que ingresan depende de la vía de administración y de sus características fisicoquímicas. En particular, la penetración por vía sistémica se encuentra muy limitada por la presencia de las barreras hematorretiniana y hematoacuosa, que aíslan el globo ocular del resto del cuerpo. Es por ello, que para la administración de fármacos oculares se emplean otras vías alternativas, como son (Bartlett J.D. y Jaanus S.D., 2008):

- *La aplicación tópica*, la cual consiste en aplicar el medicamento (en forma de gotas, geles ungüentos, etc.) directamente sobre el segmento externo del ojo, y es la principal vía de administración cuando el tejido o la zona comprometida se localizan en el segmento anterior.

- *La inyección periocular*: consiste en aplicar una inyección en los tejidos que rodean el ojo, habiendo tres posibilidades según su ubicación: subconjuntival, retrobulbar o por debajo de la cápsula de Tenon. Esta vía se utiliza cuando la dosis necesaria supera la cantidad máxima que puede ser incorporada por vía tópica.

- *La inyección intraocular*: consiste en aplicar una inyección a través de las capas del ojo y administrar el fármaco directamente en su interior distinguiéndose la intracameral (en cámara anterior) y la intravítrea (en cámara vítrea). Esta vía de administración se utiliza durante las cirugías que requieren la administración de sustancias viscoelásticas, o para el tratamiento de infecciones severas principalmente del segmento posterior.

En general, la elección de una u otra vía dependerá de factores como: el tejido o la zona comprometida, la gravedad de la patología, las características del fármaco a administrar, el riesgo que presenta la ruta, la posibilidad de efectos secundarios, eligiendo el método que más se adecue al paciente.

En este trabajo nos enfocaremos en la vía de administración tópica, que es la que se emplea con mayor frecuencia y presenta menos complicaciones secundarias a las otras formas de administración.

I.1.2.1. Vías de administración tópica

La administración tópica consiste en colocar el medicamento en el fondo de saco para que luego, con ayuda del párpado, entre en contacto con la película lagrimal y se distribuya por toda la superficie ocular. Esta vía se emplea principalmente para tratar afecciones localizadas en la córnea, la conjuntiva o el cuerpo ciliar.

I.1.2.1.1. Vías de absorción del medicamento durante la administración tópica

Una vez que el fármaco se disuelve en la película lagrimal, este puede absorberse por los tejidos oculares, o bien drenarse hacia los conductos del sistema lagrimal. En la Figura I.1.2.1 se diferencian de manera esquemática las dos posibles vías de absorción del fármaco.

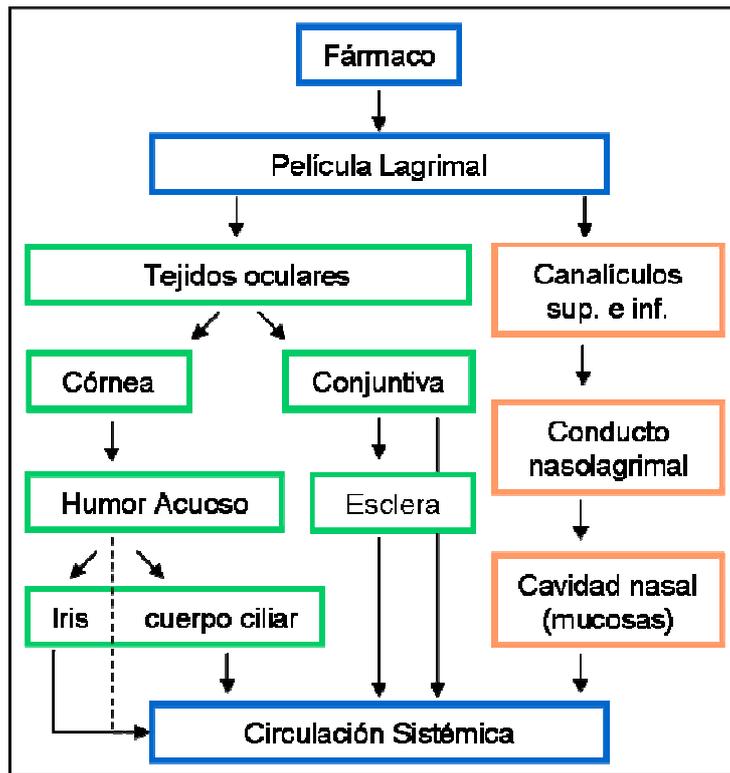


Figura I.1.2.1.1. Posibles vías de absorción de un fármaco ocular administrado por vía tópica.

En la primera vía de absorción, una proporción del fármaco se absorbe a través de los tejidos oculares (córnea y conjuntiva), y de ahí se distribuye hacia otras estructuras intraoculares y, eventualmente, luego de un cierto tiempo drena hacia el flujo sistémico. La penetración transcorneal conforma la vía de absorción deseada para la administración tópica, ya que permiten obtener efectos farmacológicos oculares localizados. La absorción conjuntival es mayormente improductiva, (Davies N.M., 2000; Hughes P.M. y col., 2005) y además, por ser un tejido muy vascularizado, facilita el acceso del fármaco a la circulación sistémica. En el caso de la absorción transcorneal, el fármaco se acumula en el humor acuoso, lo que le permite alcanzar otras estructuras intraoculares (iris y cuerpo ciliar), o drenar hacia la circulación sistémica a través de la red trabecular.

Otra posibilidad es que el fármaco drene junto con la lágrima, en cada parpadeo, hacia la nariz siguiendo la ruta de drenaje esquematizada en la Figura I.1.2.2. Esta vía tiene una implicancia directa en la biodisponibilidad del fármaco, ya que reduce su tiempo de permanencia en la película lagrimal pre-corneal, y en consecuencia disminuye su concentración en los tejidos oculares, y por ende su absorción. La proporción de fármaco que drene a través de estos conductos lagrimales depende de la

frecuencia de parpadeo, el volumen lagrimal y la formulación del vehículo o excipientes del fármaco.

Por otra parte, el inconveniente que presenta esta vía de absorción radica en que, una vez que el fármaco drena hacia la nariz, se absorbe en la mucosa nasal altamente vascular, y finalmente es dirigido hacia flujo sistémico. De esta forma los medicamentos aplicados por vía tópica, que pasan por el conducto nasolagrimal, tienen acceso directo a la circulación sistémica. Este paso además de distribuir el medicamento en los tejidos no específicos, evita el denominado efecto de primer paso por el hígado; y en consecuencia, los medicamentos tópicos pueden causar efectos adversos sistémicos importantes, en especial cuando se administran de manera crónica. Por ejemplo en el caso de fármacos antagonistas β -adrenérgicos, colinérgicos y anticolinérgicos, una o dos gotas de un fármaco tópico pueden proporcionar una dosis sistémica significativa de este fármaco.

Asimismo, si bien la tasa y magnitud de absorción del fármaco por los tejidos oculares se encuentra mayormente limitada por la velocidad y la dinámica del recambio lagrimal, también depende de otros factores como son: la velocidad de penetración del fármaco a través de la córnea, la formulación del vehículo o excipientes, la concentración de la dosis, y las características fisicoquímicas del fármaco.

A su vez la capacidad del fármaco para difundir a través del tejido corneal también depende de las características del fármaco. Entre ellas se distinguen el peso molecular, la estructura química, la naturaleza hidrofóbica o hidrofílica, el coeficiente de partición, el estado iónico de la molécula, la configuración estérica, y su solubilidad.

1.1.2.1. 2. Administración de colirios

Luego de la aplicación del colirio en el fondo de saco conjuntival, el tiempo de residencia del fármaco en la película lagrimal es corto, de aproximadamente 2 a 5 minutos (Cohen R.A. y col., 1996; Deshpande S.G. y Shirolkar S., 1989). Durante este tiempo solo se absorbe en el tejido corneal entre un 1 a 10 % de la dosis aplicada, el resto es absorbido por la conjuntiva o drenado por los conductos lagrimales (Singh C.P. y Shah D.O., 1999). Por ejemplo cuando la pilocarpina se administra como colirio, existe una relación de 100:1 entre la depuración precorneal y la penetración transcorneal, o sea la formulación se elimina 100 veces más rápido que lo que se absorbe por la córnea (Robinson J.R., 1989). Para compensar estas limitaciones,

generalmente se indica como procedimiento la aplicación de dos o más dosis seguidas, espaciadas cada 5 minutos, para alcanzar una dosis terapéutica en el tejido. En algunos casos se instilan dos aplicaciones de un pequeño volumen (idealmente 1 a 10 μl) (Keister J.C. y col., 1991) de una solución extremadamente concentrada con un intervalo de 5 minutos. Esto permite que se absorba la máxima cantidad posible en cada aplicación, y evita el derrame en exceso de la gota, debido a que la capacidad de retención del fluido lagrimal en el fondo de saco es de aproximadamente 10 μl (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006). Sin embargo, esta estrategia no aumenta el tiempo de residencia del fármaco, y las complicaciones que surgen de la absorción sistémica son mayores.

En muchos casos se requiere de la administración de dosis repetidas de mantenimiento a lo largo del día, para evitar que la concentración caiga por debajo del nivel terapéutico. Todo este proceso conlleva a que se produzcan fluctuaciones muy marcadas en los niveles del fármaco en los tejidos, pudiendo situar los mismos por encima o por debajo de los niveles terapéuticos. Además, el uso de gotas oculares resultan en una rápida variación en la velocidad de administración del fármaco a la córnea, lo cual a su vez limita la eficacia del sistema terapéutico (Duvall B.S. y col., 2006).

También se debe considerar que el grado de cumplimiento de este procedimiento depende de la pericia que tenga el paciente para efectuarlo, lo que provoca que en muchos casos esta vía de administración sea poco controlada e imprecisa, e incluso tediosa para el paciente.

Una estrategia que se ha empleado para mejorar la biodisponibilidad del fármaco en soluciones o suspensiones es el uso de sustancias viscosantes, que aumenten la viscosidad del vehículo y prolonguen su retención en el área precorneal (Sasaki H. y col., 1996). Existe una relación lineal entre la disminución en la velocidad del drenaje lagrimal y el aumento de la viscosidad. Sin embargo un aumento excesivo de la viscosidad también resulta en una rápida eliminación debido a la lacrimación refleja y al aumento en la frecuencia de parpadeo (Sasaki H. y col., 1996).

La administración tópica clásica, en suspensión acuosa o solución, es de fácil aplicación, segura, y presenta menos complicaciones potenciales que otros sistemas de administración tópica. (Duvall B.S. y col., 2006; Sasaki H., y col., 1996). Sin embargo, con este tipo de administración no es posible tener un control adecuado del efecto del

principio activo, debido a que el fármaco se libera de forma prácticamente inmediata (Lin H.R. y Sung K.C., 2000; Lang J.C., 1995), y no permite controlar los niveles alcanzados con sucesivas aplicaciones, o durante todo el periodo de tratamiento.

I.1.2.1.3. Estrategias para mejorar la absorción del fármaco administrado por vía tópica

La penetración del fármaco, a través de los tejidos hacia el interior de la cavidad ocular ocurre mediante un mecanismo de difusión pasiva, la fuerza impulsora la proporciona el gradiente de concentración que se forma entre la película lagrimal y los tejidos oculares (Hosoya y col., 2005), y la velocidad de difusión del fármaco se puede describir mediante la Ley de Fick (Katzung B.G., 2005). En la Figura I.1.2.1.3. se muestra la relación entre la concentración de la dosis del fármaco, su aparición en el sitio de acción y el tiempo que permanece en contacto con el tejido. Una vez instilado el fármaco en el fondo de saco, existe un período de tiempo entre esta instilación, y su aparición en el humor acuoso, este tiempo se define como el tiempo de retraso. Pasado este tiempo de retraso, la concentración del fármaco en el humor acuoso aumenta de forma lineal con su concentración en la película lagrimal, (sin considerar las alteraciones relativas a ciertos estados patológicos) (Bartlett J.D. y Jaanus S.D., 2008)... Después de un cierto tiempo, la velocidad de penetración del fármaco comienza a desacelerarse y la concentración del mismo alcanza un valor máximo, que posteriormente comienza a descender debido a la depuración (eliminación) hacia la circulación sistémica. La duración del efecto terapéutico dependerá del tiempo que el fármaco permanezca en contacto con el sitio de acción por arriba de la concentración mínima efectiva.

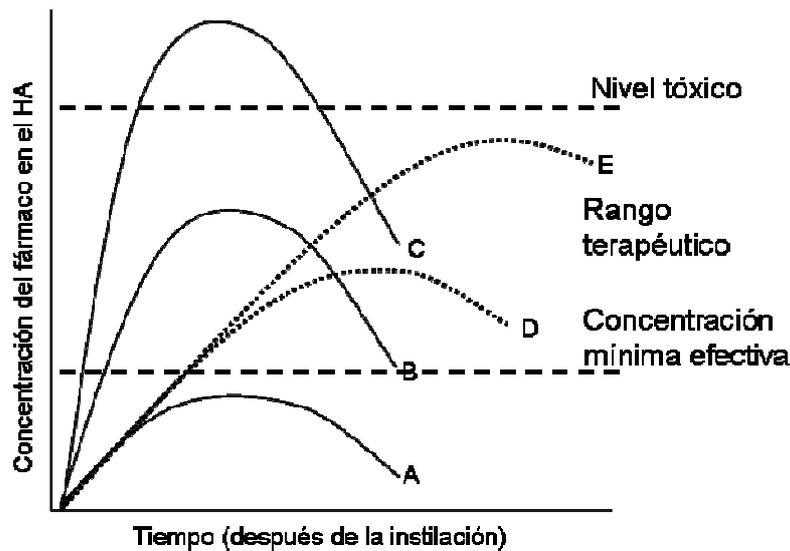


Figura I.1.2.1.3. Representación gráfica de la concentración del fármaco en el humor acuoso (HA) en función del tiempo (A) y su relación con el rango terapéutico. Efecto del incremento de la dosificación (curva B y C) y el tiempo de contacto entre el fármaco y los tejidos (curvas D y E), sobre el nivel de concentración y el tiempo de permanencia en el humor acuosos. (Tomado de Duvall B.S. y col., 2006).

Con el objetivo de mejorar la absorción de los fármacos oculares se presentan dos estrategias posibles relacionadas con la forma de administración: aumentar la concentración del fármaco, y/o aumentar su tiempo de permanencia en el ojo. Si se aumenta la concentración de la dosis, de un valor A a un valor B o C (Figura I.1.2.1.3.1), la velocidad con la que el fármaco atraviesa el tejido se incrementa, y como consecuencia, también la concentración lograda en el humor acuoso. De esta forma la potencia del fármaco aumenta, sin embargo, esto no se traduce necesariamente en un aumento de la eficacia (Katzung B.G., 2005). Además, trabajar con dosis altas, dependiendo del rango terapéutico, presenta un mayor riesgo frente a los efectos secundarios, tanto en el sitio de acción, ya que la concentración máxima puede superar la dosis tóxica, como en otros sitios inespecíficos a través del drenaje lagrimal. En este último caso, el volumen de fármaco que se elimina por el conducto lagrimal no depende de la concentración, pero la cantidad de fármaco que alcanza las mucosas nasales es mayor, y por ende su absorción y los efectos secundarios.

La otra posibilidad mencionada es aumentar el tiempo de permanencia del fármaco en contacto con el tejido para mejorar la absorción del fármaco y extender la duración del efecto terapéutico. Por ejemplo, si para una concentración de dosis A se

aumenta el tiempo de permanencia (curva D o E), la absorción del fármaco será más sostenida en el tiempo. De esta forma se logrará un mayor tiempo de tratamiento con concentraciones menores, y una menor frecuencia de dosificación. En este caso la acumulación del fármaco en el sitio de acción dependerá de la relación entre la velocidad de absorción y la velocidad de eliminación. Generalmente, al aumentar el tiempo de contacto, se retrasa todo el proceso, tanto el tiempo en el cual se alcanza el máximo, como el tiempo de depuración (Duvall B.S. y col., 2006).

Los inconvenientes relacionados con las formas de administración clásicas (baja biodisponibilidad y efectos secundarios) tanto para la vía tópica como para otras vías de administración, motivaron el desarrollo de formulaciones o sistemas que permitieran aumentar la absorción del fármaco sobre la base del aumento en el tiempo de contacto entre el fármaco y el sitio de acción o de absorción específico. Estos sistemas se denominan *sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos*.

I.1.3. Sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos

La ciencia de los sistemas de liberación controlada o *delivery* de drogas se describe como la aplicación de principios químicos y biológicos para controlar *in vivo* la localización temporal y espacial de las moléculas de la droga activa para obtener beneficios clínicos (Uchgbu I.F. y Schätzlein A.G., 2006).

El principio de liberación lenta ha sido utilizado en la industria farmacéutica desde 1950, pero no fue hasta 1960 en que los polímeros fueron usados con estos fines (Goldberg E.P. y Nakajima A., 1980). Folkman y Long fueron los primeros en reportar, en 1964, la liberación sostenida de droga empleando materiales poliméricos como sistemas de liberación (Folkman J. y Long D.M., 1964). Desde entonces las investigaciones en el campo de la liberación controlada vienen desarrollándose en todas las áreas de la medicina (Uchgbu I.F. y Schätzlein A.G., 2006; Ratner B.D. y col., 1989) El fundamento de estos sistemas se basa en localizar el fármaco en el sitio de acción específico y en suministrar la cantidad necesaria durante el tiempo requerido, con el propósito de mejorar la biodisponibilidad y disminuir los efectos no deseados (Goldberg E.P. y Nakajima A., 1980).

El control de la liberación del fármaco puede ser de tipo espacial, temporal, o de ambos (Díez Peña E., 2002). Los sistemas de control espacial buscan dirigir la liberación del fármaco a el/los lugar/es específico/s para aumentar su biodisponibilidad

en ese sitio, y minimizarla en otras partes del organismo buscando evitar efectos secundarios. Este control se puede lograr colocando directamente el sistema o dispositivo en el lugar de acción; algunos ejemplos son los parches e insertos. Por otra parte, se puede emplear un sistema que permita accionar la liberación del fármaco cuando este se encuentre próximo a determinados sitios específicos, convenientes para su estabilidad o absorción. Un ejemplo de este tipo serían las formulaciones de administración oral que retrasan la liberación del fármaco en el estómago para proteger fármacos lábiles a pH ácido, o para proteger el estómago de fármacos irritantes (Chien Y.W., 1992; Diez Peña E., 2002). Ambos casos mejoran la absorción del fármaco, la biodisponibilidad y minimizan las manifestaciones secundarias.

Los sistemas de control temporal son diseñados para regular la velocidad de liberación del fármaco y para mantener una concentración terapéutica estable en el organismo, con el fin de prolongar sus efectos terapéuticos y evitar que se produzcan fluctuaciones en sus niveles plasmáticos. En este caso la frecuencia de dosificación disminuye, el peligro de sobredosis es menor, mejora la absorción, se genera un mayor tiempo de residencia y se producen menos manifestaciones secundarias. La administración de la cantidad apropiada del fármaco en el sitio de acción específico es esencial para el éxito de todo tratamiento. En este concepto se basa el fundamento de los sistemas de liberación controlada de droga (Goldberg E.P. y Nakajima A., 1980). Una representación grafica del nivel del fármaco en sangre lograda con un dispositivo de liberación sostenida se muestra en la Figura I.1.3.1: (Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1997).

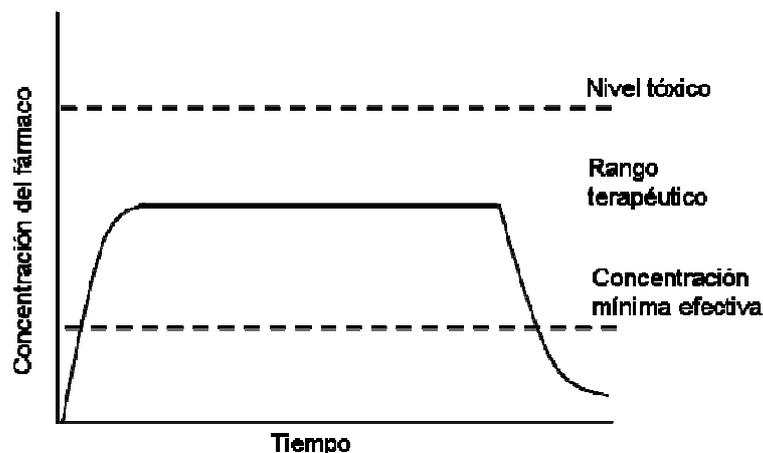


Figura I.1.3.1. Esquema del nivel de droga en sangre obtenido con un dispositivo de liberación controlada.

El *delivery* de droga ocurre cuando se combinan en forma adecuada un polímero, natural o sintético, con una droga determinada, y luego la droga es liberada durante un período de tiempo deseado en el entorno biológico apropiado (Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1997). La liberación de la droga puede ser constante, durante un período largo; o bien puede estar promovida por la presencia de un determinado entorno u otro factor externo (Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1997).

Los sistemas de liberación controlada se pueden dividir según la forma en que almacenan el principio activo en dos grandes grupos: los sistemas tipo reservorio, y los sistemas matriciales (Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1997) ambos esquematizados en la Figura I.1.3.2:

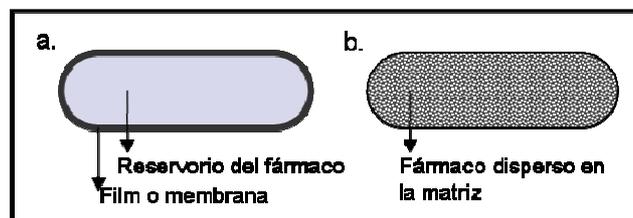


Figura I.1.3.2. Tipos de sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos según su característica de almacenamiento del principio activo: sistema tipo reservorio (a), y sistema tipo matricial (b).

En los sistemas tipo reservorio el fármaco se encuentra recubierto o encapsulado por un film o una membrana (generalmente un polímero), cuya función es controlar la velocidad de liberación. En este caso las dos partes son fácilmente diferenciables. En los sistemas matriciales, el fármaco se encuentra suspendido y distribuido, de forma homogénea, en el interior de la matriz del material. En este sistema no es posible diferenciar el principio activo de la matriz que lo soporta o contiene.

Por otro lado los sistemas de liberación también se pueden clasificar según el método de liberación. Se distinguen tres mecanismos principales en función del proceso que permite la liberación del principio activo: difusión, degradación o erosión, e hinchamiento seguido de difusión (Peppas N.A. y col., 2000).

- Liberación controlada por difusión

Es el mecanismo de liberación más común y ocurre casi siempre, en mayor o menor medida, en sistemas de tipo reservorio y matricial. Este ocurre cuando el

dispositivo se coloca en un medio acuoso y el fármaco egresa desde el interior del material hacia el medio externo, controlado por el gradiente de concentración. Este proceso puede ocurrir de forma macroscópica (a través de los poros), o a nivel molecular (difundiendo a través de las cadenas poliméricas) (Brannon-Peppas L., 1997). Una característica que presentan los materiales, que accionan principalmente por este mecanismo, es que son estables en medio fisiológico o acuoso, y su tamaño no varía por hinchamiento o degradación (Brannon-Peppas L., 1997).

- Liberación controlada por erosión o biodegradación

Este mecanismo ocurre principalmente cuando se emplean polímeros biodegradables, que como consecuencia de su degradación, el fármaco (disuelto en el interior de la matriz) se libera al medio. La degradación ocurre por mecanismos biológicos naturales, y consiste en una hidrólisis aleatoria de las cadenas poliméricas, con formación de compuestos biológicamente aceptables (Brannon-Peppas L., 1997). En este caso la velocidad de liberación es controlada por la velocidad de degradación del polímero, que a su vez depende principalmente del volumen de la matriz.

- Liberación controlada por hinchamiento

En este mecanismo, el fármaco migra hacia el exterior de la matriz o del reservorio como consecuencia de cambios estructurales que se producen en el material. El mecanismo mencionado proporciona condiciones para la liberación de orden cero, y se aprecia en la mayoría de los sistemas responsivos, los cuales poseen la capacidad de modificar su estructura (generalmente su hinchamiento y tamaño) frente a estímulos externos.

El empleo de uno u otro mecanismo se encuentra sujeto a las características del material y del sitio de aplicación.

1.1.3.1. Sistemas para aplicaciones oftalmológicas

A fin de controlar los niveles de concentración del fármaco, prolongar su tiempo de permanencia en la película lagrimal precorneal, y mejorar su biodisponibilidad, se han desarrollado sistemas alternativos para la administración de medicamentos oculares. Entre ellos se encuentran las formulaciones semisólidas (geles), ungüentos, los sistemas coloidales, insertos y lentes de contacto (Sasaki H. y col., 1996). Estos sistemas incrementan significativamente la eficacia de las terapias oculares.

Los geles oftálmicos son polímeros en estado líquidos que gelifican *in situ* cuando son colocados en el área precorneal y adquieren una consistencia semisólida. Son sistemas matriciales y responsivos que sufren una transición de fase reversible, estimulada por el pH o la temperatura ocular, y así liberan la droga por hinchamiento (Sasaki H. y col., 1996). Por ejemplo el Timoptic® es un formulación diaria que combina la goma gellan (Gelrite®) con alginatos para prolongar los tiempos de liberación del timolol en el tratamiento del glaucoma. (Schenker H.I. y Silver L.H., 2000).

Por otra parte los ungüentos también se utilizan como vehículos de fármacos oculares debido a que son bien tolerados e incrementan el tiempo de contacto. Están generalmente formados por una emulsión de aceites minerales y agua; y permiten suministrar antibióticos, ciclopléjicos o mióticos y otras sustancias liposolubles por difusión. Son especialmente útiles cuando se colocan junto con un parche ocular.

Tanto los ungüentos como los geles administran el fármaco en forma más lenta, prolongando el tiempo de permanencia. Sin embargo no son del todo aceptados por los pacientes debido a los inconvenientes que presentan, como visión borrosa e incomodidad, y en el caso de los ungüentos también pueden ocasionar irritación de la mucosa ocular (Sasaki H. y col., 1996).

Los sistemas coloidales como liposomas, nanopartículas y nanocápsulas también han sido probados en aplicaciones oftálmicas. Los liposomas mejoran la absorción corneal, debido a que generan un contacto íntimo con la córnea y la conjuntiva. Las nanopartículas o nanocápsulas pueden incluso penetrar dentro del epitelio corneal y facilitar la liberación de la droga hacia el humor acuoso (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006). Estos sistemas son muy prometedores, pero todavía presentan limitaciones debido a su compleja fabricación, particularmente con respecto a problemas de estabilización durante la esterilización (Felt O. y col., 2002).

En el caso de los insertos sólidos o semisólidos son dispositivos que se colocan en el fondo de saco, y proporcionan una tasa de suministro continuo. Se distinguen tres clases: solubles, biodegradables e insolubles. El Ocusert® Pilo-20 y Pilo-40, son sistemas insolubles tipo reservorio capaces de liberar droga, pilocarpina, a una velocidad programada de 20 o 40 µg/h respectivamente, por largos períodos de tiempo (7 días) (Sasaki H. y col., 1996). A pesar de ello, la dificultad que presenta su manipulación y colocación, la sensación de cuerpo extraño en el ojo y el alto riesgo de

expulsión accidental, generalmente limitan su uso práctico (Sintzel M.B. y col., 1996). Otro tipo de insertos son los protectores de colágeno biodegradables.

Una estrategia diferente propuesta por muchos investigadores es el empleo de lentes de contacto blandos, que corresponden al grupo de lentes de contacto fabricadas a partir de hidrogeles poliméricos ligeramente entrecruzados. Estas lentes de hidrogel son preparadas fácilmente como sistemas matriciales de liberación a partir de su inmersión en una solución de la droga (Sasaki H. y col., 1996; Li C.C. y Chauhan A., 2006). Estas lentes, al actuar como reservorio de medicamento, prolongan los tiempos de permanencia, y mejoran la absorción, ya que su dimensión y ubicación (frente a la córnea) le permiten un mayor cubrimiento y contacto con la superficie corneal (Smolen V.F. y col., 1975; Hehl E.M. y col., 1999).

Otras ventajas del uso de las lentes de contacto como vehículo para la administración de fármacos, es que no interfieren con la visión del paciente, no son expulsadas del ojo y presentan un alto confort. Además, muchas personas ya son usuarias de lentes de contacto como medio de corrección óptica, por lo que se encuentran familiarizadas con los métodos de cuidado, colocación y extracción. También se ha demostrado que funcionan como medio de vendaje cuando se utilizan en casos de erosiones corneales o traumatismos, ya que protegen la córnea y facilitan la cicatrización epitelial (Lindahl K.J. y col., 1991).

Las lentes de contacto de hidrogel han sido propuestas desde 1965 como posibles dispositivos para el *delivery* de droga (Sedlacek, J., 1965). La mayoría de los estudios realizados desde esa fecha apuntan al estudio de la eficacia que presentan las lentes de contacto blandas, diseñadas para otros fines (corrección óptica) como reservorio de medicamentos. Las lentes de contacto que, además de brindar una corrección óptica, han demostrado ser eficaces como reservorio de medicamentos se agrupan en la clasificación de la FDA (USA) como lentes de contacto terapéuticas (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006).

En los últimos años se ha puesto mayor énfasis en la innovación tecnológica de estos dispositivos como sistemas de liberación controlada para mejorar su capacidad de carga y el control temporal de la liberación. (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006; Kapoor Y. y col., 2009; Kapoor Y. y Chauhan A., 2008).

Con el presente trabajo se pretende ampliar los conocimientos en el desarrollo de nuevos sistemas poliméricos para la administración controlada de fármacos a partir de

materiales especialmente diseñados para esta finalidad, para su aplicación como lente de contacto terapéutica.

1.1.3.1.1. Lentes de contacto terapéuticas

Muchos trabajos realizados entre los siglos 16 y 19 contribuyeron a la comprensión general del ojo y el desarrollo de la óptica oftálmica, pero el concepto de lente de contacto no apareció hasta 1845 con la publicación de Herschel “Disertación sobre la luz”. En este trabajo, el autor propuso que la visión podía ser corregida con un dispositivo de contacto, y recomendó la adaptación sobre la superficie de la córnea de un vidrio o gelatina esférica hecho en base a una impresión de la córnea (Fatt I., 1993). Los primeros lentes de contacto que se adaptaron fueron empleados originalmente para propósitos de vendaje y no para la corrección de la visión. En 1886, Galezowski promovió el empleo de lentes de contacto como vendas, aplicando discos de gelatina de un espesor de 0,25 – 0,50 mm cargados con diferentes drogas (cloruro de mercurio e hidrocloreto de cocaína) para prevenir complicaciones después de la cirugía de catarata (Mely R., 1886). Sin embargo, no se realizaron avances en el empleo de lentes de contacto con aplicaciones terapéuticas hasta 1960 a partir del desarrollo de geles poliméricos hidrofílicos ligeramente entrecruzados de PHEMA (Wichterle y col., 1960). Estos presentaban ciertas ventajas, con respecto a las lentes de poli(metacrilato de metilo) que se venían usando, tales como: mayor comodidad, rápida adaptación del usuario, reducida producción de lágrimas, menor posibilidad de expulsión y una alta biocompatibilidad (Schnabel W, 2007). En 1964, Rycroff utilizó lentes de hidrogel con propósitos terapéuticos para tratar el penfigoide ocular y el síndrome Stevens-Johnson (IACLE, 2000). Sin embargo, el primero en describir el uso de lentes de contacto blandas como reservorio de medicamento fue Sedlacek en 1965 (Sedlacek, J., 1965), y posteriormente Gasset y Kaufman en 1970 (Gasset A. y Kaufman H.E., 1970).

Desde esa época hasta la fecha, muchos investigadores han estudiado la posibilidad de utilizar una lente de contacto blanda como sistema de *delivery* de droga para mejorar la absorción corneal y la biodisponibilidad de la misma. (Silbert, J.A., 1996).

1.1.3.1.1.1. Incorporación del fármaco en el hidrogel

Si bien muchos trabajos demostraron que el uso de un lente de contacto como sistema de liberación controlada mejora el tiempo de permanencia del fármaco en la

cavidad ocular, los métodos de carga empleados para incorporar el fármaco en la lente de contacto difieren entre los diferentes trabajos. La mayor parte de los estudios se enfocan en la inmersión de la lente en una solución concentrada de droga por un período de tiempo, seguido de estudios de liberación *in vitro* o *in vivo*. Este método resulta en una liberación inicial rápida, seguida de una etapa lenta que dura desde varias horas a días (Hillman, J.S., 1974; Ruben M. y Watkins R., 1975). La lente es comúnmente empleada en una etapa post operatoria con antibióticos y antiinflamatorios no-esteroideo (AINE), y con antibióticos en varias infecciones (Silbert, J.A., 1996).

Otro método utilizado consiste en instilar el colirio sobre la superficie de la lente de contacto *in situ*, o sea una vez colocada la lente se aplica una gota de solución sobre su cara anterior. La técnica mencionada se utiliza comúnmente cuando la lente de contacto se emplea como vendaje protector en traumatismos corneales o complicaciones en infecciones severas (Lindahl K.J. y col., 1991). En este caso la lente absorbe al comienzo la droga desde la lágrima, y luego actúa como reservorio, liberando de forma lenta la droga a medida que la concentración en la lágrima disminuye (Hehl E.M. y col., 1999). Una variación de este método es depositar una gota de colirio en la parte cóncava de la lente de contacto, y luego colocar la lente sobre el ojo. (Arthur B.W. y col., 1983; Hull D.S. y col., 1974).

Un gran número de estudios han demostrado la ventaja de emplear la lente de contacto como vehículo para mejorar la eficacia y la potencia de los fármacos. El uso de lentes de contacto cargadas por inmersión fue más efectivo en pruebas *in vivo*, que el empleo de colirios o gotas oftálmicas para un gran número de combinaciones lente/fármaco como por ejemplo: pilocarpina/Vifilcon[®] (Hull D.S. y col., 1974; Hillman J.S., 1974). A su vez el método de inmersión fue más efectivo que la aplicación del colirio sobre la lente ya adaptada, en pruebas con pilocarpina/Lidofilcon[®] y pilocarpina/p-HEMA (Ruben M. y Watkins R., 1975). A pesar de ello, el método de inmersión tiene sus limitaciones como son la difusión de agua dentro del polímero y la solubilidad de la droga. En este caso la capacidad de incorporación del fármaco en el hidrogel depende del tamaño de poro (determinado por la densidad de entrecruzamiento y grado de hidratación), del tamaño molecular del fármaco, y de la concentración de la solución de carga (Karlgaard y col., 2003).

Otro método alternativo comúnmente utilizado consiste en colocar la droga en la mezcla de polimerización (Ende M.T.A y Peppas N.A., 1997). Este método permite

regular la cantidad de PA que se quiere incorporar en la matriz. Sin embargo, presenta como desventajas que el PA puede reaccionar o interactuar con alguno de los componentes durante la síntesis modificando su velocidad de liberación y efectividad.

Recientemente se han utilizado otras técnicas de incorporación del PA que acompañan el desarrollo de nuevos sistemas de liberación controlada. Entre ellas se encuentran: el encapsulamiento de partículas de microemulsión en el interior de la matriz (Li C.C. y col., 2007); la reacción de intercambio iónico en hidrogeles con grupos funcionales (Sato T. y col., 2005); la técnica de impresión molecular (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006); y también el método de impregnación en un solvente supercrítico (SSI) (Braga M.E.M. y col., 2008). Estas técnicas mejoran la capacidad de incorporación del fármaco en el hidrogel, pero a su vez aumentan el número de pasos de síntesis, requieren de ciertos procesos posteriores, utilizan solventes y/o requieren de un equipamiento específico para su realización.

I.1.3.1.1.2. Mecanismo de liberación

La adaptación de la lente de contacto blanda consiste en colocar la misma (con los parámetros y medidas necesarias) sobre la córnea de forma tal que quede centrada sobre la misma (Figura I.1.4.2.1) y presente un pequeño movimiento de desplazamiento controlado durante el parpadeo.



Figura I.1.3.1.1.2.1. Lente de contacto blanda adaptada en el ojo derecho del paciente.
Con permiso de IACLE.

En esta situación la lente de contacto queda suspendida delante de la córnea y recubierta por dos porciones de película lagrimal. Una porción de película lagrimal que recubre la superficie externa de la lente de contacto y se indica como película lagrimal

pre-lente; y otra porción que permanece entre la lente de contacto y la córnea que se denomina película lagrimal pos-lente, como se esquematiza en la Figura I.1.4.2.2.

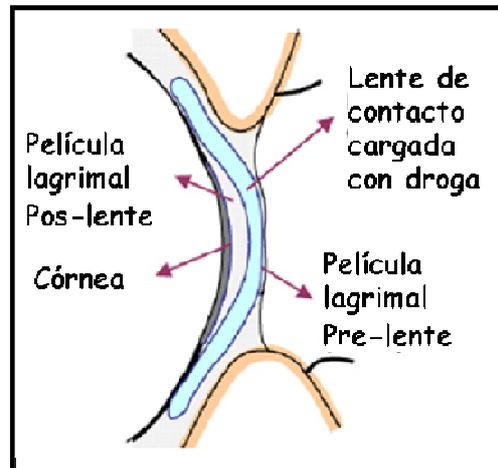


Figura I.1.3.1.1.2.2. Esquema de la lente de contacto colocada sobre la superficie corneal y posición de la película lagrimal pre-lente y pos-lente. Adaptado de Kim J. y Chauhan A. 2008.

Durante el empleo de un lente de contacto como reservorio, el fármaco difunde hacia la película lagrimal por un mecanismo de difusión simple, pudiendo migrar hacia la capa lagrimal pre-lente o pos-lente. Sin embargo la difusión hacia la capa lagrimal pos-lente es mayor que hacia la pre-lente. En el primer caso la difusión del fármaco desde el interior de la matriz hacia esa dirección se ve favorecida por el gradiente de concentración que se forma entre esta película lagrimal y la lente de contacto. Por otra parte la difusión hacia la capa lagrimal pre-lente es baja como consecuencia de la evaporación lagrimal. Esto se explica porque durante el intervalo de tiempo entre dos parpadeos la superficie externa de la lente tiende a deshidratarse producto del rompimiento (evaporación) de esta capa lagrimal y por ende la difusión de la droga hacia esta porción de película lagrimal disminuye. Se estima que la liberación de la droga hacia la película pos-lente es cinco veces mayor que la liberada hacia la película pre-lente (Li C.C. y Chauhan A., 2006). Esto explica la mejora sustancial en la biodisponibilidad del fármaco con el uso de estos sistemas, ya que al permanecer atrapado entre la lente y la cornea (en la capa pos-lente) aumenta el tiempo de contacto con el tejido corneal y de esta forma mejora significativamente su absorción. Algunos autores indican que el tiempo de residencia del fármaco en esta situación es de aproximadamente 30 minutos (Creech y col., 2001) y que este aumento conduce a un incremento significativo en su biodisponibilidad. Tanto modelos matemáticos como

datos clínicos sugieren que la biodisponibilidad para la absorción de la droga oftálmica puede aumentar cerca de un 50 %, valor de un orden de magnitud más grande que la conseguida con las gotas oftálmicas (Li C.C. y Chauhan A., 2006).

I.1.3.1.1.3. Observaciones sobre la eficiencia de la liberación

Las lentes de contacto actuando como reservorios pueden proporcionar mejoras notables, comparadas con la administración convencional de colirio. Por ejemplo las lentes Etafilcon A (1-day Acuvue®), cargadas por inmersión en soluciones de antifúngicos y fluoroquinolonas proporcionaron concentraciones más altas en el humor acuoso que la convencional instilación de colirio (Hehl E.M. y col., 1999).

En un ensayo sobre lentes Polimacon® y Alfafilcon® cargadas con ciprofloxacina (por inmersión en una solución comercial durante 1 hora) se obtuvieron niveles del fármaco en el tejido corneal y en el humor acuoso, muy superiores comparados con los niveles obtenidos con el uso del colirio. Luego de seis horas los valores de ciprofloxacina obtenidos en la córnea fueron: 8,034 µg para Polimacon®, 6,432 µg Alfafilcon® y 0,451 µg para el colirio; y en el humor acuoso: 0,361 µg para Polimacon®; 0,240 µg para Alfafilcon® y 0,0071 µg para el colirio (Pinilla-Lozano I. Y col., 1998).

Además, en algunos casos, también puede permitir una disminución en la dosis requerida para lograr el efecto terapéutico deseado (Jain M.R., 1988). Por ejemplo, la instilación de unas gotas de pilocarpina al 1 % sobre las lentes de contacto blandas disminuyó en forma más eficaz la presión intraocular, que unas gotas de solución de pilocarpina al 8 % instilada directamente sobre la cavidad ocular (Kaufman H.E. y col., 1971).

En particular el empleo de lentes de contacto como sistema de *delivery* de droga presenta una gran ventaja para condiciones clínicas que requieren una alta concentración intraocular de droga como por ejemplo inflamaciones del segmento anterior, glaucoma de ángulo cerrado o infecciones. En un estudio de pacientes con abrasiones corneales, la instilación de diclofenac sobre lentes de contacto proporcionó un alivio significativo del dolor y acortó los tiempos de terapia en la mayoría de los casos (Salz J.J. y col., 1994).

En un estudio con antibióticos, la lente de contacto blanda cargada por inmersión (durante 90 minutos), demostró ser más eficaz que la administración

mediante inyección subconjuntival, aumentando considerablemente la biodisponibilidad ocular del fármaco y reduciendo al mínimo efectos adversos del fármaco y de la vía de administración (Jain M.R., 1988).

La principal desventaja que presentan las lentes de contacto blandas comerciales como sistemas de liberación controlada es su baja afinidad por una gran cantidad de fármacos, y su baja capacidad para captarlos (Momose T. y col., 1997). Además, en algunas lentes solo pueden penetrar la matriz aquellos principios activos con un peso molecular menor de 500 g/mol (Aquavella J.V., 1976). Estas características limitan su versatilidad frente a diferentes tratamientos, y el tiempo de terapia máximo que pueden lograr (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006). A su vez, como se indicó anteriormente, la absorción del fármaco a través de la córnea es por un mecanismo de difusión pasiva, por lo tanto la concentración alcanzada en el humor acuoso será baja si la concentración del fármaco liberado también lo es. Heyrman y col., indicaron que la concentración lograda en el humor acuoso con lentes de contacto comerciales es sólo un décimo de la concentración que puede ser alcanzada empleando colirios (Heyrman T.P. y col., 1989).

Asimismo, en los casos donde la carga del fármaco en el hidrogel es adecuada, su mayor limitación radica en que la liberación para algunos fármacos ocurre demasiado rápido como para mantener niveles terapéuticos en las estructuras oculares durante períodos lo suficientemente largos de tiempo (Karlgaard C.C.S. y col., 2003). Por ejemplo, la gentamicina administrada con una lente de contacto (cargada por inmersión) mantiene dosis activas durante 72 horas (Busin 1988), mientras que en el caso de la pilocarpina la actividad se mantiene tan solo durante 30 minutos (Leshner 1993). O por el contrario, también un excesivo tiempo de contacto entre la droga y la córnea, puede exacerbar los efectos adversos tópicos de la misma (Silbert J.A., 1996).

En los últimos años, el interés en el uso de lentes de contacto como sistema de *delivery* de fármacos ha crecido gracias a los avances realizados en la comprensión de los mecanismos involucrado en la liberación de fármacos, y al desarrollo y aplicación de nueva tecnología orientada a mejorar la capacidad de carga y desempeño de estos sistemas (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006).

Una estrategia aplicada recientemente en el campo de la tecnología farmacéutica para el desarrollo de sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos es el uso de hidrogeles responsivos (Uchgbu I.F., Schätzlein A.G., Bawa P. y col., 2009; París R. y Quijada-Garrido I., 2010) con grupos funcionales capaces de modificar su

estructura en respuesta a estímulos externos. El comportamiento ideal de los sistemas de liberación controlada o *delivery* de fármacos es poder regular la velocidad de liberación de forma tal de administrar la cantidad apropiada del fármaco, en el lugar adecuado y en el momento necesario.

En este marco, la aplicación de hidrogeles responsivos se basa en la posibilidad de que estos materiales modifiquen sus estructuras ante cambios del entorno, provocados por la presencia de un estado patológico, requerimientos biológicos fluctuantes, o la aparición de ciertas biomoléculas en el organismo (Chien Y.W., 1992) y liberen la cantidad apropiada de fármaco en función de la magnitud de ese cambio. De esta manera sería posible ajustar la velocidad de liberación del fármaco a las necesidades del tratamiento. Lograr este comportamiento sería especialmente útil en casos donde: la dosis del fármaco debe reducirse de forma gradual para no producir complicaciones como es el caso de los corticoides administrados en condiciones inflamatorias severas (Duvall B.S. y col., 2006); la dosis del fármaco debe aumentar debido a aparición o exacerbación de un estado patológico; o que frente a la aparición de toxicidad como consecuencia de una exposición prolongada del medicamento, la liberación cese.

En este trabajo se propone sintetizar hidrogeles responsivos capaces de transportar y liberar en forma sostenida fármacos de uso en patologías oculares; de tal manera de ejercer un control efectivo en el tiempo de permanencia del fármaco en contacto con los tejidos oculares, y en la velocidad de liberación del mismo.

I.1.4. Hidrogeles sensibles a las condiciones del entorno

El hidrogel es un tipo de material polimérico con estructura tridimensional, que se caracteriza por su capacidad de absorber y retener en su interior grandes volúmenes de agua pudiendo aumentar su tamaño hasta 1000 veces sin disolverse. En general, los hidrogeles pueden absorber agua e hincharse hasta lograr valores de equilibrio que van desde el 10 al 98 % p/p en condiciones de temperatura fisiológica, pH y fuerza iónica (Ratner B.D., 1989). Tanto el hinchamiento como el deshinchamiento del hidrogel son fenómenos reversibles, gracias a que sus propiedades viscoelásticas le permiten recuperar su forma original inclusive luego de estar largos períodos de tiempo en una u otra forma (Silberberg A., 1993). Sin embargo, el hinchamiento final del hidrogel depende del predominio de cadenas hidrofílicas sobre las hidrófobas en el polímero, así también como de la densidad de entrecruzamiento y de las condiciones del medio. Una

gran ventaja que presentan los hidrogeles es que son materiales muy versátiles, ya que pueden ser sintetizados a partir de un gran número de precursores y de maneras muy diferentes para ajustar sus propiedades a la aplicación determinada.

En los últimos años se ha prestado particular atención a los hidrogeles del tipo responsivo. Estos pertenecen a una gran familia de materiales que han sido caracterizados como *inteligentes*. El desarrollo de estos materiales poliméricos con propiedades estímulo-respuesta se logran a partir de la inclusión de especies monoméricas con propiedades determinadas (iónicas, térmicas, etc.) en la estructura del polímero. La principal característica que define a estos materiales es su capacidad de variar su estructura en respuesta a pequeños cambios generados en alguna variable del medio en que se encuentran (Bajpai A.K. y col., 2008). Estos sistemas sufren una transición de fase reversible en presencia o ausencia del estímulo, como se esquematiza en la Figura I.1.4.1:

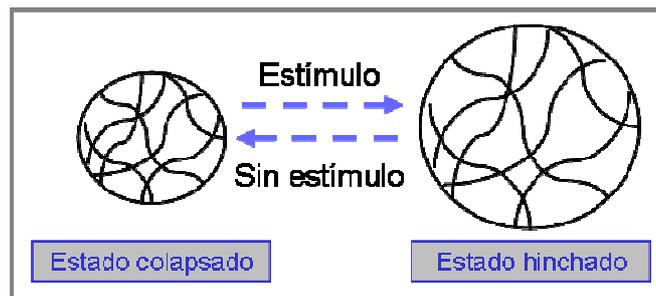


Figura I.1.4.1. Esquema del cambio morfológico que sufre un hidrogel responsivo en presencia de un estímulo.

Cuando el estímulo se encuentra presente, la estructura del hidrogel pasa de un estado contraído o colapsado a un estado expandido o hinchado, mientras que si se elimina el estímulo esta situación se revierte.

Por lo tanto, dependiendo del tipo de monómero incorporado en el hidrogel, este puede presentar propiedades responsivas frente a una gran variedad de cambios en el entorno. Estos hidrogeles pueden responder a cambios en la fuerza iónica, campo eléctrico, radiación electromagnética, pH, temperatura, presión y/o luz (Bajpai A.K. y col., 2008). En la tabla I.1.4.1 se muestra un cuadro con los diferentes tipos de estímulo y las posibles respuestas que éste puede generar en el polímero cuando se encuentra presente.

Tabla I.1.4.1. Naturaleza de las posibles respuestas del polímero frente a diferentes tipos de estímulos externos.

Tipos de estímulos	Tipos de respuestas
pH	- Química/bioquímica (estimula o inhibe las reacciones o los procesos)
Temperatura	- Cambio de forma (hinchamiento o deshinchamiento)
Agentes químicos o bioquímicos	- Separación de fases (precipitación)
Disolventes o sales	- Superficie (se vuelve más hidrófobo)
Campo eléctrico	- Permeabilidad (aumenta o disminuye)
Radiación electro-magnética	- Propiedades mecánicas (se reduce la dureza)
Tensión mecánica	- Óptica (se vuelve más transparente u opaco, o se colorea)
	- Eléctrica (genera señales, ocurre una reacción electroquímica)

El surgimiento de estos materiales responsivos permitió ampliar el campo de aplicación de los hidrogeles a áreas biomédicas, farmacéuticas, agrícolas, etc. (Ostroha J. y col., 2004). Su buena versatilidad se debe a que combinan las propiedades de los hidrogeles, con la posibilidad de regular la captación o liberación de sustancias (fármacos, anticuerpos, enzimas, pesticidas, complejos, sustancias inorgánicas etc.) en respuesta a los cambios producidos en el entorno.

La mayoría de los trabajos de investigación que apuntan a la liberación controlada de fármacos, se han centrado en el efecto del pH y la temperatura debido a la importancia de estas variables en sistemas fisiológicos, biológicos y químicos. Particularmente, en este trabajo la elección del material se orientó hacia la posibilidad de modular la velocidad de liberación del fármaco en respuesta de pequeños cambios en el valor del pH lagrimal. Si bien no ha sido estudiado en profundidad se detectaron casos de patologías oculares donde el valor de pH ocular se modifica, como son las alergias oculares, pacientes con rosácea, infecciones bacterianas y síndrome de ojo seco (Nom M.S., 1988). Se ha postulado que los cambios de pH ocular pueden ser útiles tanto en terapias como en diagnóstico de enfermedades (Coles W. y Jaros P., 1984).

Para la síntesis de hidrogeles con propiedades pH responsivos se empleará la combinación de dos o más monómeros, durante la polimerización, a fin de obtener materiales con propiedades que resulten de la combinación de las propiedades individuales de cada monómero empleado. Éste es un método muy empleado en el campo de los materiales poliméricos, porque permite diseñar materiales con características finales deseadas para una determinada aplicación a partir de la selección de los monómeros adecuados.

Como monómero base se empleará 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) (Figura I.1.4.2) que es un monómero comúnmente utilizado para la síntesis de biomateriales y en particular para la fabricación de lentes de contacto, debido a que presenta buenas propiedades mecánicas, una muy buena transparencia en la región de luz visible y una buena compatibilidad fisiológica, resistencia a la degradación, resistencia a la absorción por el cuerpo y permeabilidad a los metabolitos (Tomic S. y col., 2007).

Por otra parte, los hidrogeles responsivos son preparados, como se comentó previamente, adicionando monómeros con propiedades responsivas a las cadenas principales del polímero. Particularmente para sintetizar hidrogeles sensibles al cambio de pH se deben adicionar compuestos con grupos pendientes funcionales ionizables (ácidos o básicos) como por ejemplo los que se indican en la Tabla I.1.4.2. En estos sistemas se observa que la variación del pH del medio induce cambios en el grado de ionización de los electrolitos presentes en la matriz del polímero y, como consecuencia, genera un cambio en el grado de hinchamiento del hidrogel. La ionización del polímero y el intervalo de pH en el cual cambia de un estado abierto a un estado cerrado dependerán de las propiedades ácido-base de sus monómeros y de las interacciones inter- e intramoleculares de estos grupos. En general los polímeros con grupos aniónicos presentan un estado abierto a pH alcalino o neutro, mientras que los que poseen grupos catiónicos su estado abierto predomina a pH ácido o neutro.

Tabla I.1.4.2. Grupos sensibles al cambio de pH.

Grupos aniónicos		Grupos catiónicos	
-COO ⁻	-OPO ₃ ⁻	-N ⁺	-NRNH ₂ ⁺
-OPO ₃ ⁻²	-OSO ₃ ⁻	-NH ⁺	-NR ₂ H ⁺
-PO ₃ ⁻²	-SO ₃ ⁻	-NH ₂ ⁺	-HR ₃ ⁺
-PO ₂ ⁻²	-OCS ₂ ⁻	-NH ₃ ⁺	-S ⁺
-SiO ₂ ⁻²		-P ⁺	

Entre los monómeros que se han utilizado para la síntesis de sistemas responsivos se encuentran el N-(3-aminopropil) metacrilamida, el ácido metacrílico y el 2-aminoetil metacrilato (Bawa P. y col., 2009; París R. y Quijada-Garrido I., 2010). Recientemente se han utilizado monómeros catiónicos como el 2-(dietilamino)etil metacrilato y el 2-(dimetilamino)etil metacrilato (Amalvy J.I. y col., 2004).

Como en los sistemas pH responsivos la velocidad de liberación se encuentra regulada por el hinchamiento del hidrogel, en este trabajo se seleccionó el monómero catiónico 2-(diisopropilamino)etil metacrilato (DPA), para favorecer la liberación en condiciones oculares donde el pH se acidifique.

El DPA es un monómero de la familia de los metacrilatos que posee una amina terciaria como grupo funcional (Figura I.1.5.2). Este monómero presenta buenas propiedades pH responsivas sintetizado como homopolímero en forma de microgel, además su cambio morfológico en respuesta al pH se reportó cercano al rango de pH fisiológico (Bütün V. y col., 2001).

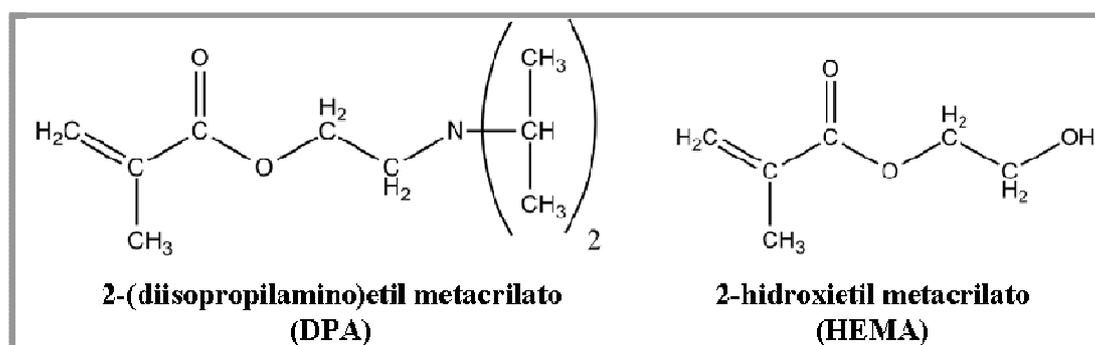


Figura I.1.4.2. Estructura molecular de los reactivos utilizados.

Mediante la copolimerización de HEMA y DPA esperamos obtener un material, que presente por un lado buenas propiedades (térmicas, ópticas y mecánicas) compatibles para ser usado en la fabricación de lentes de contacto; y por otro lado que posea propiedades pH responsivas que permitan utilizar este sistema para modular la liberación de fármacos y en particular en terapias oftalmológicas.

Es oportuno resaltar que hasta la fecha de comienzo de este trabajo no se habían reportado estudios en donde se empleara el DPA como comonomero del HEMA, ni se estudiaran las propiedades del copolímero. En vista de que el DPA posee características responsivas distintivas y como las interacciones entre ambos monómeros podían dar lugar a modificaciones en el comportamiento final del sistema, se propuso realizar un estudio detallado de las propiedades del copolímero (Faccia P.A. y Amalvy J.I., 2013).

I.1.5. Fármacos y principios activos empleados

La lista de fármacos que se han utilizado en conjunto con lentes de contacto es muy amplia e incluye: mióticos (pilocarpina); antibióticos (gentamicina, tobramicina, polimixina B, vancomicina, anfotericina B, ciprofloxacina); antivirales (idoxuridina); corticosteroides (dexametasona); antihistamínicos (cromoglicato); β -bloqueantes (timolol); entre otros. (Karlgaard y col., 2003; Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006; Kaufman y col., 1971).

Entre los fármacos empleados durante el desarrollo e investigación de nuevos sistemas para la liberación controlada de fármacos oculares se encuentran: indometacina, lidocaína, nafazolina, azuleno, timolol maleato, ciclosporina (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006).

En este trabajo, la capacidad de absorción de los hidrogeles sintetizados se estudia utilizando diferentes tipos de moléculas (colorantes y fármacos) como principios activos (PA). Los colorantes se emplearán como moléculas modelo, a fin de realizar un seguimiento cuantitativo por espectroscopia visible; y a su vez una evaluación cualitativa que permita una rápida y efectiva visualización del proceso con el objetivo de estudiar el comportamiento general del sistema. Los fármacos seleccionados, son utilizados en tratamientos oculares y comúnmente empleados para caracterizar el desempeño de nuevos hidrogeles como reservorio.

Principios activos modelos, colorantes

Entre el grupo de colorantes empleados en este trabajo como moléculas modelo se encuentran la rodamina 6G como clorhidrato, el azul de metileno y el rosa de bengala.

- Rodamina 6G

La rodamina 6G es un heterociclo que pertenece a la familia de los xantenos. En la Figura I.5.1 se muestra la estructura química del clorhidrato de rodamina 6G (R6G), su fórmula empírica es $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$. Es un polvo de color púrpura oscuro, con un peso molecular de 479,02 g/mol, y una densidad de 1,26 g/cm³.

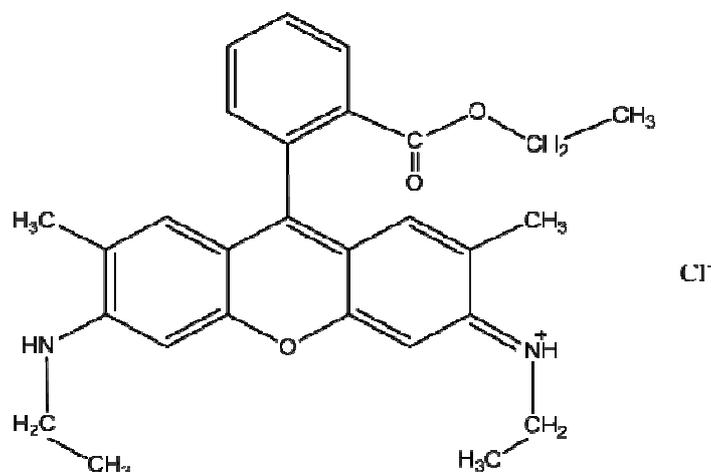


Figura I.5.1. Estructura química del clorhidrato de rodamina (R6G).

Esta molécula es ampliamente usada como molécula modelo debido a su gran solubilidad en agua (20 g/l a 25 °C), su estabilidad química, su fácil detección por espectroscopia UV-visible (absorción a 348 y 526 nm), y su similitud estructural y química con varios fármacos. En particular la parte catiónica de la molécula es similar a las de drogas lipofílicas pequeñas y por tal razón se usa comúnmente como droga modelo en estudios de liberación de las mismas (Jalón E.G y col., 2001).

- Azul de metileno

El azul de metileno (AM), cuyo nombre científico es cloruro de metiltionina, es un heterocíclico aromático de la familia de las fenotiacinas, con fórmula molecular $C_{16}H_{18}ClN_3S$. Su estructura química se presenta en la Figura I.5.2. Es un polvo cristalino de color verde oscuro, con peso molecular de 319,85 g/mol, presenta una solubilidad de 43,60 mg/l, una densidad de 1,757 g/cm³ y un punto de fusión de 100 °C.

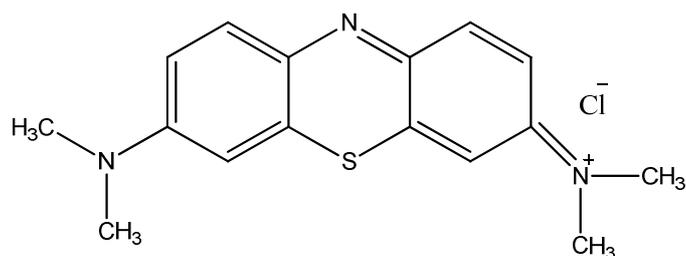


Figura I.5.2. Estructura química del azul de metileno (AM).

Su aplicación es variada, en medicina ha sido muy utilizado para tinciones biológicas, en el diagnóstico de enfermedades como por ejemplo el carcinoma, y como antiséptico y cicatrizante interno en procedimientos quirúrgicos (Meric B. y col., 2002). Debido a su actividad como fotosensibilizador también ha mostrado una aplicación prometedora en la terapia fotodinámica para el tratamiento anticáncer.

- Rosa de bengala.

El colorante rosa de bengala (RB) es un heterociclo de la familia de los xantenos, su estructura química se muestra en la Figura I.5.3, y su fórmula empírica es $C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$. Es un polvo de color rojo, con un peso molecular de 1017,65 g/mol, presenta una solubilidad mayor a 362 g/l (20°C).

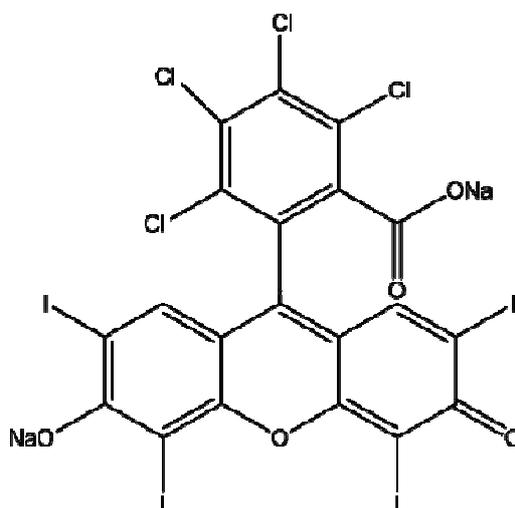


Figura I.5.3. Estructura química del colorante rosa de bengala (RB).

El colorante rosa de bengala es un muy utilizado en oftalmología como sustancia de diagnóstico de queratoconjuntivitis sicca, y prueba complementaria en el diagnóstico

de otras causas de ojo seco (Kanski J.J, 2006); o en ensayos bioquímicos para el diagnóstico serológico de Brucelosis o fiebre de Malta.

Principios activos de uso terapéutico, fármacos

Los principios activos que se ensayan en este trabajo son la dexametasona-21 fosfato, el timolol maleato y el ibuprofeno.

- Timolol Maleato.

El timolol maleato (TM) es un agonista adrenérgico (β -bloqueante), y se utiliza en pacientes con glaucoma crónico de ángulo abierto, glaucoma afáquico, o en pacientes con presión intraocular elevada. Este fármaco actúa reduciendo la presión intraocular al disminuir la producción del humor acuoso.

La estructura química del timolol maleato se muestra en la Figura I.5.4, su denominación química es (Z)-2-butenodioato de (S)-1-[(1,1-dimetiletil)amino]-3-[(4-[4-morfolinil-1,2,5-tiadiazol-3-il)oxi]-2-propanol] (1:1) (sal) y su fórmula empírica es $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$. Es un polvo cristalino blanco, con peso molecular de 432,49 g/mol, presenta un pKa de 9,21 y es soluble en agua (Kamal S.R. y col., 2010).

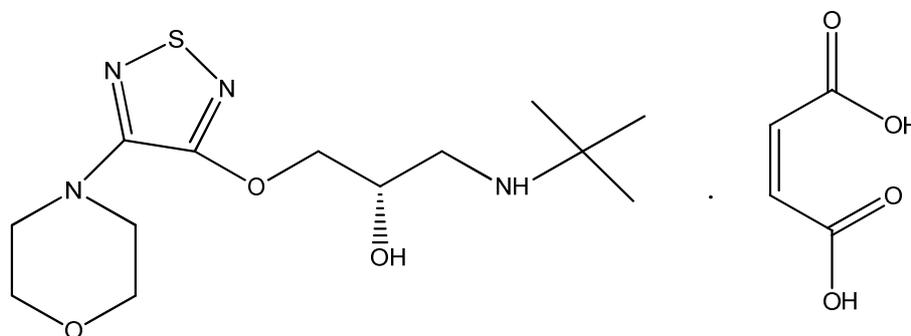


Figura I.5.4. Estructura química del timolol maleato (TM).

Se aplica por vía tópica como colirio: 1 gota de solución 0,5% sobre la conjuntiva 1 o 2 veces al día en adultos, o 1 gota de solución 0,25% 2 veces al día. Una alternativa al colirio es el Timoptic XE® que se aplica 1 mg/g de peso 1 vez por día, y es una solución que gelifica in situ, su desventaja es que produce visión borrosa durante un cierto tiempo después de su instilación (Duvall B.S., 2006)

Este fármaco es también comúnmente usado para estudiar el comportamiento de diversos sistemas, (como implantes, películas, lentes de contacto, geles, etc.), propuestos para la liberación controlada de fármacos (Kamal S.R. y col., 2010; Li C.C.

y col., 2007). En el trabajo de Hiratani y Alvarez Lorenzo, los autores indican que la carga óptima del timolol maleato es a pH entre 5,5 y 7,5 (Hiratani H. y Alvarez-Lorenzo C., 2002).

- Dexametasona-21 fosfato

La dexametasona-21 fosfato (DXP) es un corticosteroide, ampliamente usado para la reducción de inflamaciones, ya que presenta una acción no específica y una alta efectividad. En las terapias oftalmológicas se emplea para el tratamiento de inflamaciones oculares como queratitis conjuntivitis, blefaritis, uveítis, neuritis óptica, quemaduras químicas, e infiltrados corneales entre otras patologías oculares (Duvall B.S., 2006). También, en combinación con antibióticos, es muy usado para disminuir las inflamaciones posteriores a la cirugía refractiva o de cataratas (Duvall B.S., 2006).

La DXP es un esteroide, cuya estructura química se muestra en la Figura I.5.5, su denominación química es la sal disódica de (11 β ,16 α) 9-fluoro-11,17-dihidroxi-21-(fosfonooxi)-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona y su fórmula empírica es C₂₂H₂₈FNa₂O₈P. Este fármaco tiene un peso molecular de 516,41 g/mol y presenta una solubilidad en agua de 500 mg/ml (a 25°C).

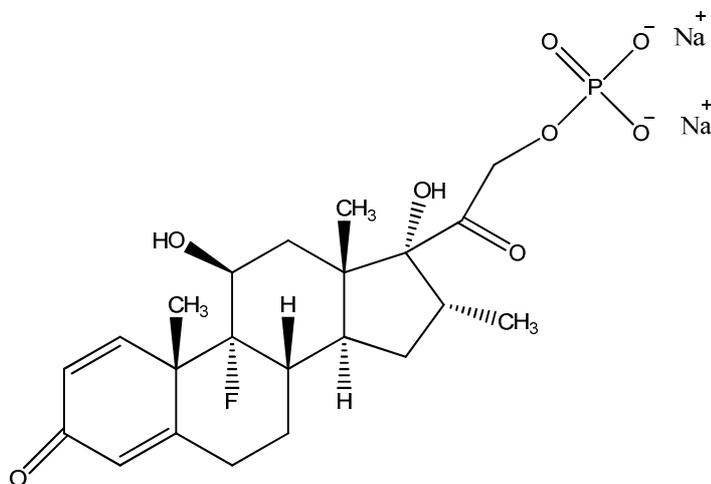


Figura I.5.5. Estructura química de la dexametasona-21 fosfato (DXP).

Para su aplicación por vía tópica se encuentra disponible como: solución al 0,1 % en fosfato de sodio, suspensión al 0,1 % (Maxidex®), ungüento oftálmico al 0,05% (AK-Dex®, Baldex®, Decadron®, Maxidex®), o también para su administración por vía oral o intravenosa (Duvall B.S., 2006).

La DXP es uno de los corticosteroides de aplicación tópica más efectivos en la disminución de las inflamaciones, pero a su vez es él más propenso a elevar la presión

intraocular. Se ha reportado que una continua aplicación de una solución de dexametasona al 0.1% por un periodo de tiempo, que puede variar entre 3 semanas a 1 año, puede generar glaucoma acompañado de daño en el nervio óptico, defectos en la agudeza visual y pérdida de visión periférica, adelgazamiento corneal y escleral, y catarata subcapsular posterior (Urban R.C y Cotlier E., 1986).

La dexametasona-21 fosfato ha sido también empleada para el estudio de la efectividad de hidrogeles y el desempeño de los mismos como sistemas de liberación controlada (Kim J. y Chauhan A., 2008), con buenos resultados; y por Karlgard y col. (Karlgard C.C.S. y col., 2003), sin embargo en este caso no se obtuvieron buenos resultado con la carga de este fármaco.

- Ibuprofeno

El ibuprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) de bajo peso molecular (206,29 g/mol), su estructura química se presenta en la Figura I.5.6. Su denominación química es ácido (*RS*)-2-(4-isobutilfenil)propiónico y su fórmula empírica es $C_{13}H_{18}O_2$. Su solubilidad en agua es baja, menor a 1 mg/ml (25°C).

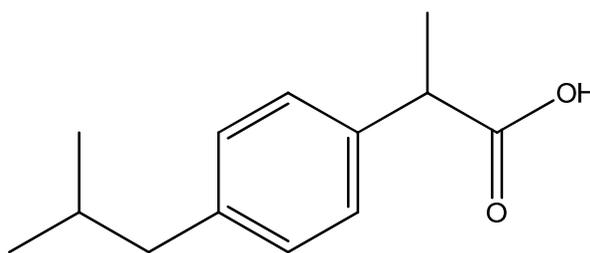


Figura I.5.6. Estructura química del ibuprofeno (IBP).

El ibuprofeno es uno de los AINEs más comunes prescritos para uso oftálmico en dosis orales. Estos fármacos han demostrado ser útiles en el tratamiento de coriorretinopatía serosa central idiopática y edema macular cistoideo. Los AINE son mayormente utilizados para aliviar el dolor medio a moderado después de la cirugía ocular. La aplicación tópica de los AINE ha sido aprobada para la reducción de inflamaciones postoperatorias, aliviar la picazón en la conjuntivitis alérgica, y la prevención de miosis pupilar durante la cirugía (Duvall B.S., 2006).

El ibuprofeno ha sido empleado por Andrade-Vivero y col., 2007, con buenos resultados para el estudio de la efectividad de hidrogeles de HEMA/4-vinilpiridina y HEMA/N-(3-aminopropil)metacrilamida como biomateriales para su empleo como lentes de contacto terapéuticas (Andrade-Vivero P. y col., 2007).

1.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo consiste en el desarrollo de sistemas poliméricos que permitan mejorar la efectividad de los tratamientos terapéuticos oculares a través de la liberación localizada y controlada de fármacos, empleando como vehículo un lente de contacto de hidrogel.

La hipótesis de trabajo se basa en la posibilidad de aumentar el tiempo de residencia de los fármacos en contacto con los tejidos oculares y modular la velocidad de liberación de los mismos empleando como sistema de transporte y administración hidrogeles poliméricos sensibles a las condiciones del entorno. Para ello se propone la posibilidad de obtener hidrogeles poliméricos que presenten buenas propiedades fisicoquímicas y sean pH-responsivos en el rango de tolerancia del pH ocular a partir de copolímeros de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) y 2-(diisopropilamino)etil metacrilato (DPA).

En este trabajo se pretende sintetizar y caracterizar las propiedades generales y específicas de estos hidrogeles. Dentro de la caracterización general se estudiarán las propiedades superficiales, térmicas y espectrales; y su relación con los cambios morfológicos y estructurales que se producen durante la transición de fase reversible que se lleva a cabo en medios con diferentes valores de pH. Como caracterización específica para su potencial aplicación se estudiarán las propiedades ópticas, la humectabilidad, el contenido acuoso, y la densidad a fin de determinar si las mismas son compatibles con su uso como lente de contacto terapéutica.

Por otra parte se ensayará la incorporación de principios activos y fármacos con el objetivo de estudiar como influye la naturaleza, tamaño y solubilidad del principio activo en su incorporación a la matriz. Se analizarán las interacciones que puedan tener lugar entre el hidrogel y el principio activo a fin de entender las modificaciones que sobre las propiedades de la película se generen, y la relación entre éstas y el mecanismo de liberación. Finalmente se estudiará la liberación de los principios activos y fármacos incorporados bajo diferentes condiciones experimentales (pH y composición de la solución) y se determinarán los mecanismos y cinéticas de liberación para cada principio activo estudiado. A partir de estos resultados se evaluarán las capacidades para controlar, en tiempo y espacio, la liberación de los principios activos.

I.3. BIBLIOGRAFIA

- Alvarez-Lorenzo C., H. Hiratani, A. Concheiro, Contact lenses for drug delivery, *American Journal of Drug Delivery* 4 (2006) 131–151.
- Amalvy JI, Wanless EJ, Li Y, Michailidou V, Armes SP, Duccini Y. Synthesis and characterization of novel pHresponsive microgels based on tertiary amine methacrylates. *Langmuir*, 2004; 20: 8992-8999.
- Andrade-Vivero P, Fernandez-Gabriel E, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Improving the loading and release of NSAIDs from pHEMA Hydrogels by copolymerization with functionalized monomers. *J Pharm Sci* 2007; 96:802–13.
- Aquavella JV. New aspects of contact lenses in ophthalmology *Adv Ophthalmol* 1976; 32:2-34.
- Arthur BW, Hay GJ, Wasan SM, Willis WE. Ultrastructural effects of topical timolol on the rabbit cornea—outcome alone and in conjunction with a gas permeable contact-lens. *Arch. Ophthalmol.* 1983; 101: 1607– 1610.
- Baeyens V. Gurny R. Chemical and physical parameters of tears relevant for the design of ocular drug delivery formulations. *Pharmaceutics Acta Helvetiae*, 1997; 72: 191-202
- Bajpai AK, Shukla SK, Bhanu S, Kankane S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 2008; 33: 1088–1118.
- Bartlett J.D., Jaanus S.D. *Clinical Ocular Pharmacology*. Primera edición, Elsevier Inc, 2008.
- Bawa P, Pillay V, Choonara YE, du Toit LC. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. *Biomedical Materials* 2009; 4: 1-15.
- Braga MEM, , Pato MTV, Silva HSRC, Ferreira EI, Gil MH, Duarte CMM, de Sousa HC. Supercritical solvent impregnation of ophthalmic drugs on chitosan derivatives, *Journal of Supercritical Fluids*, 2008; 44: 245–257.
- Brannon-Peppas L, Peppas NA. Design and Fabrication of Polyester-Fiber and Matrix Composites for Totally Absorbable Biomaterials. *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, 1997; pag. 34-46.
- Bütün V, Armes SP, Billingham NC. Synthesis and aqueous solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers. *Polymer* 2001;42:5993-6008.
- Chien YW. *Novel Drug Delivery Systems*, en la serie “Drugs and the Pharmaceutical Sciences” Editor J. Swarbrick. Marcel Dekker. New York, 1992.
- Cohen RA, Gebhardt BM, Insler MS. Comparison of contact lens delivery and topical instillation of 4% lidocaine in the normal cornea and limbal conjunctiva. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 1996; 37: 332-332.
- Coles WH, Jaros PA. Dynamics of ocular surface pH. *British Journal of phthelmology* 1984;68: 549-552.
- Creech JL, Chauhan A, Radke CJ. Dispersive mixing in the posterior tear film under a soft contact lens. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2001; 40: 3015–3026.
- Davies NM. Biopharmaceutical considerations in topical ocular drug delivery. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2000; 27: 558-62 8.
- Deshpande SG, Shirolkar S. Sustained release ophthalmic formulations of pilocarpine. *J. Pharm. Pharmacol.* 1989; 41:197–200.
- Díez Peña Eva. Desarrollo y caracterización de hidrogeles poliméricos con aplicación en la liberación controlada de fármacos, Tesis doctoral, Universidad complutense de Madrid, Facultad de farmacia y tecnología farmaceutica, Madrid 2002.
- Duvall BS, Kershner RM. *Ophthalmic medications and pharmacology*. Segunda edición., SLACK incorporated, 2006.
- Ende MTA, Peppas NA. Transport of ionizable drugs and proteins in crosslinked poly(acrylic acid) and poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels.2. Diffusion and release studies. *J. Controlled Release*, 1997; 48: 47–56.

- Faccia PA, Amalvy JI. Synthesis, characterization and swelling behavior of new pH-sensitive hydrogels derived from copolymers of 2-hydroxyethyl methacrylate and 2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate. *J. Appl. Polym. Sci.* 2013; 127: 1974–1980.
- Fatt I (1993). Sir John Fredrick William Herschel: The man and his time. *Optician.* 1993; 206: 26-27.
- Felt O, Einmahl S, Gurny R. Polymeric systems for ophthalmic drug delivery. In: Dumitriu S, editor. *Polymeric biomaterials.* New York: Marcel Dekker Inc., 2002: 377-421.
- Folkman J, Long DM. The use of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy. *J. Surg. Res.* 1964; 4: 139-142.
- Gasset A, Kaufman HE. Therapeutic uses of hydrophilic contact lenses. *Am. J. Ophthalmol.* 1970; 69: 252-9.
- Goldberg, EP, Nakajima A. *Biomedical Polymers,* Academic Press, Inc., New York, 1980; pag. 113-137.
- GuerreroVargas JJ. *Óptometría clínica.* primera edición, Universidad Santo Tomás, Colombia, 2006; capítulo 1.
- Hehl EM, Beck R, Luthard K. Improved penetration of aminoglycosides and fluoroquinolones into the aqueous humour of patients by means of Acuvue contact lenses. *Eur J Clin Pharmacol.* 1999; 55: 317-23.
- Heyrman TP, McDermott ML, Ubels JL. Drug uptake and release by a hydrogel intraocular-lens and the human crystalline lens. *J. Cataract. Refract. Surg.* 1989; 15: 169-75.
- Hillman JS. Management of acute glaucoma with pilocarpine-soaked hydrophilic lens. *Br. J. Ophthalmol.* 1974; 58: 674–679.
- Hiratani H, Alvarez-Lorenzo C. Timolol uptake and release by imprinted soft contact lenses made of N,N-diethylacrylamide and methacrylic acid. *Journal of Controlled Release,* 2002; 83: 223–230.
- Hosoya K, Lee VHL, Kim K. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2005; 60: 227–240.
- Hughes PM, Olejnik O, Chang-Lin JE. Topical and systemic drug delivery to the posterior segments. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005; 57: 2010-32.
- Hull DS, Edelhauser HF, Hyndiuk RA. Ocular penetration of prednisolone and hydrophilic contact-lens. *Arch. Ophthalmol.* 1974; 92: 413-38.
- Jain MR. Drug delivery through soft contact-lenses. *Br. J. Ophthalmol.* 1988; 72: 150-4.
- Jalón EG, Blanco-Príeto MJ, Ygartua P, Santoyo S. PLGA microparticles: possible vehicles for topical drug delivery. *Int. J. Pharm.* 2001; 226: 181–184.
- Kamal SR. Timolol maleate a gold standard drug in glaucoma used as ocular films and inserts: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research,* 2010; 3, Article 005.
- Kanski JJ. *Oftalmología.* 5ta edición Elsevier, España 2006.
- Karlgard CCS, Wong NS, Jones LW. In vitro uptake and release studies of ocular pharmaceutical agents by silicon-containing and p-HEMA hydrogel contact lens materials. *Int. J. Pharm.* 2003; 257: 141-51.
- Katzung Bertram G. *Farmacología básica y clínica,* traducción de la 9na edición en inglés, Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. 2005; capítulos 1 y 3.
- Kaufman HE, Uotila MH, Gasset AR. The medical uses of soft contact lenses. *Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.* 1971; 75: 361-73.
- Keister JC, Cooper ER, Missel PJ. Limits on optimizing ocular drug delivery. *J. Pharm. Sci.* 1991; 80: 50.
- Kim J. y Chauhan A, Dexamethasone transport and ocular delivery from poly(hydroxyethyl methacrylate) gels. *International Journal of Pharmaceutics,* 2008; 353: 205–222.
- Kost J, Langer R. *Hydrogels in Medicine and Pharmacy- Properties and Applications,* Peppas N.A, ed., vol III, CRC Press, Inc., Florida, 1987; pag. 95-108.
- Krejci L, Brettschneider I, Praus R. Hydrophilic gel contact lenses as a new drug delivery system in ophthalmology and as a therapeutic bandage lenses. *Act. Univ. Carol. Med.* 1975; 21: 387-96.

- Lang JC. Ocular drug delivery conventional ocular formulations. *Adv. Drug. Deliv.* 1995; 16:39–43.
- Li CC, Abrahamson M, Kapoor Y, Chauhan A. Timolol transport from microemulsions trapped in HEMA gels. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007; 315: 297–306.
- Li CC, Chauhan A. Modeling ophthalmic drug delivery by soaked contact lenses. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006; 45: 3718-34.
- Lin HR, Sung KC. Carbopol/pluronic phase change solutions for ophthalmic drug delivery. *J. Control. Rel.* 2000; 69:379–88.
- Lindahl, K.J, DePaolis MD, Aquavella JV, Temnycky GO, Erdey RA. Application of hydrophilic disposable contact lenses as therapeutic bandages. *CLAO J.* 1991; 17: 241–243.
- Mainardes RM, Urban MCC, Cinto PO. Colloidal carriers for ophthalmic drug delivery. *Curr. Drug Targets*, 2005; 6: 363-71.
- Mely R. Therapeutic and cosmetic indications of Lotrafilcon: a silicone hydrogel extended-wear lenses. *Ophthalmologica* 2004; 218: 33-8.
- Meric B, Kerman K, Ozkan D, Kara P, Erensoy S, Akarca US, Mascini M, Ozsoz M. Electrochemical DNA biosensor for the detection of TT and Hepatitis B virus from PCR amplified real samples by using methylene blue. *Talanta*, 2002; 56: 837 – 846.
- Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear. *Arch. Ophthalmol.* 1965; 73:233.
- Momose T, Ito N, Kanai A. Adsorption of levocabastine eye drops by soft contact lenses and its effects in rabbit eyes. *CLAO J.* 1997; 23: 96-9.
- Moses RA, Hart WM. *Adler Fisiología del ojo. Aplicación clínica*, 8va Ed., Editorial Medica Panamericana S.A., Bs. As. Argentina, 1988; Cap. 2.
- Nom MS. Tear fluid in normals, contact lens wearers, and pathological cases. *Acta Ophthalmol.* 1988; 66: 485-489.
- Ostroha, J, Pong M, Lowman A, Dan N. Controlling the collapse/swelling transition in charged hydrogels. *Biomaterials*, 2004; 25: 4345-4353.
- París R, Quijada-Garrido I. Temperature- and pH-responsive behaviour of poly(2-(2-methoxyethoxy)ethyl methacrylate-co-N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) hydrogels. *Eur. Polym. Jnl.* 2010; 46:2156-2163.
- Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000; 50: 27.
- Pinilla-Lozano I, Polo-Llorens V., Larrosa-Poves J.M., y col. Medium-water-content contact lenses ciprofloxacin saturation: differences between exposure times [in Spanish]. *Rev Esp Contact* 1998 [online]. Disponible enURL: <http://www.oftalmo.com/sec/98-tomo-2/02.htm>
- Ratner BD. *Comprehensive Polymer Science – The Synthesis, Characterisation, Reactions & Applications of Polymers*, Aggarwal SK., ed., vol 7, Pergamon Press, Oxford, 1989; pag. 201-247.
- Robinson JR. Ocular drug delivery mechanism of corneal drug transport and mucoadhesive delivery systems. *STP Pharma Sci* 1989; 5: 839-46.
- Ruben, M., Watkins, R. Pilocarpine dispensation for the soft hydrophilic contact lens. *Br. J. Ophthalmol.* 1975; 59: 455– 458.
- Salz JJ, Reader AL, Schwartz LJ. Treatment of corneal abrasions with soft contact-lenses and topical diclofenac. *J. Refract. Corneal. Surg.* 1994; 10: 640-6.
- Sasaki H, Yamamura K, Nishida K, Nakamura J, Ichikawa M. Delivery of the drugs to the eye by topical application, *Progress in retinal and eye reserches.* 1996; 15: 583-620.
- Sato T, Uchida R, Tanigawa H, Uno K, Murakami A. Application of polymer gels containing side-chain phosphate groups to drug-delivery contact lenses. *Journal of Applied Polymer Science*, 2005; 98: 731–735.
- Schenker HI, Silver LH. Long-term intraocular pressure-lowering efficacy and safety of timolol maleate gel-forming solution 0.5% compared with Timoptic XE 0.5% in a 12-month study. *Am. J. Ophthalmol.* 2000; 130: 145-50.

- Sedlacek J. Possibilities of application of eye drugs with the aid of gel-contact lenses. *Cs. Oftal.* 1965; 21: 509–512.
- Silberberg A. *Molecular Basis of Polymer Networks*, Baumgartner A and Picot C. E., eds., Springer-Verlag, Berlin, 1989; pag. 147-151.
- Silbert JA. A review of therapeutic agents and contact lens wear. *J. Am. Optom. Assoc.* 1996; 67: 165-72.
- Singh CP, Shah DO. Surface chemical aspects of ocular drug delivery systems. In: Reddy IK, editor. *Ocular therapeutics and drug delivery*. Lancaster (PA): Technomic Publishing Co., 1999: 31-49.
- Sintzel MB, Bernatchez SF, Tabatabay C. Biomaterials in ophthalmic drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1996; 42: 358-74.
- Smolen VF, Vemuri R, Miya TS, Williams EJ. Contact lens efficient, corneal loading, drug delivery system for anti-glaucoma drugs. *Drug Dev. Commun.* 1975; 1: 479–94.
- Tomic SL, Micic MM, Filipovic JM, Suljovrujic E.H. Swelling and drug release behavior of poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) copolymeric hydrogels obtained by gamma irradiation. *Radiation physics and chemistry*, 2007; 76: 801-810.
- Uchgbu IF, Schätzlein AG. *Polymers in drug delivery*, CRC press Tylor y Francis group, London Nueva York, 2006, capítulo 1.
- Urban RC, Cotlier E. Corticosteroid-induced cataracts. *Surv. Ophthalmol.* 1986; 31: 102–110.
- Van Hearingen NJ. Clinical biochemistry of tears. *Surv. Ophtalmol.* 1981; 26: 84-96.
- Wichterle O, Lím D. Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature*, 1960; 185: 117 – 118.

II. SÍNTESIS Y PREPARACIÓN DE HIDROGELES DE p(HEMA-co-DPA)

II.1. INTRODUCCIÓN

Un hidrogel es un material con una estructura tridimensional formada por largas cadenas poliméricas, compuestas por uno o más monómeros, que se encuentran entrecruzadas entre sí de forma física o química (Figura II.1.1). Los hidrogeles obtenidos por entrecruzamiento químico son aquellos en los que la red está formada por uniones químicas covalentes. Este tipo de enlace es muy fuerte y su ruptura conduce a la degradación del gel. En este caso, el entramado molecular de la red o la malla estará determinado por la distancia entre los puntos o nudos de unión covalentes en el polímero (Peppas N.A. y Lowman A.M., 1999). Además, en este caso el ingreso de líquido aumenta el tamaño del entramado del hidrogel, pero sin separar las cadenas del polímero, tal como se muestra en el esquema de la Figura II.1.1:

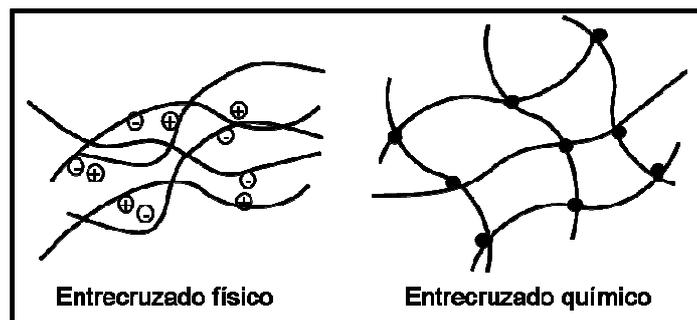


Figura II.1.1. Esquemas de un hidrogel con entrecruzamiento físico, y un hidrogel con entrecruzamiento químico.

Los hidrogeles por entrecruzamiento físico poseen una red tridimensional formada por interacciones secundarias no covalentes, del tipo puente de hidrógeno, electrostáticas o de Van der Waals. Estas son uniones más débiles y poco estables, que generan materiales con menor resistencia mecánica. En este caso, el entramado es de origen físico, puesto que las cadenas se enredan unas con otras en una maraña tridimensional que puede albergar y retener moléculas de líquido, aunque este proceso no es permanente. A diferencia del caso anterior, el ingreso de líquido puede desenmarañar y separar las cadenas del polímero. Este tipo de entrecruzamiento se puede generar por cambios en el pH, temperatura o fuerza iónica del medio donde se encuentra el hidrogel.

Los materiales empleados para la síntesis de hidrogeles comprenden un gran grupo de materiales diversos y versátiles. Estos pueden ser sintetizados a partir de una multitud de precursores, y de una gran variedad de formas, a fin de ajustar sus propiedades a la aplicación determinada. Su origen puede ser natural (animal o vegetal) en casos como el dextrano, la amilasa, la gelatina, la fibrina, la celulosa, el quitosano, el colágeno; también pueden ser de origen sintético tales como el poli(2-hidroxietil metacrilato), el alcohol polivinílico, la poli(N-vinil pirrolidona), la poli(acrilamida), el poli(etilen glicol), el ácido poliacrílico, o el ácido poli(metacrílico) (Ratner B. D. y Hoffman A. S., 1979). Hoy en día los materiales sintéticos se usan con mayor frecuencia en los sistemas de liberación controlada debido a su gran versatilidad y reproducibilidad (Gehrke S.H. y Lee P.I., 1990), a pesar del bajo costo que a veces presentan los productos naturales.

Los hidrogeles poliméricos son comúnmente sintetizados por polimerización de uno o varios monómeros en presencia de pequeñas cantidades de un agente entrecruzante. El agente entrecruzante es generalmente otro monómero con al menos dos grupos funcionales polimerizables. En este trabajo se utilizó como agente entrecruzante un monómeros bifuncional, el etilenglicoldimetacrilato (EGDMA), que es un éster con dos extremos terminales de metacrilato. En este monómero la polimerización puede originarse en los dos dobles enlaces C=C presentes en cada extremo (Figura II.1.2). De este modo, se incorpora a las largas cadenas poliméricas de forma aleatoria, y dando lugar a su entrecruzamiento químico, y consecuentemente a la estructura tridimensional que caracteriza a los hidrogeles.

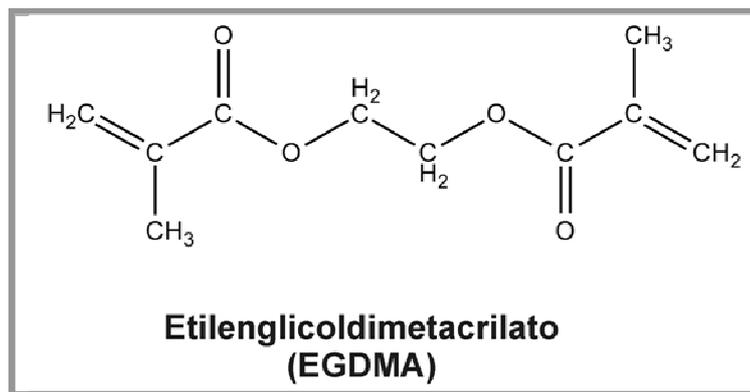


Figura II.1.2. Estructura molecular del monómero bifuncional empleado como agente entrecruzante.

De acuerdo con el número de monómeros diferentes que se utilicen, estos pueden ser homopolímeros, cuando están formados por un único monómero; o copolímeros cuando están formados por dos o más. En el primer caso se encuentran por ejemplo los siguientes polímeros poli(3-hidroxipropil) metacrilato (PHPMA), poli(gliceril metacrilato), (PGMA), poli(N-vinil-2-pirrolidona) (PNVP), poli(acrilamida) (PAM), poli(etilen glicol) (PEG), poli(vinil alcohol) (PVA) y poli(2-hidroxietil metacrilato) (pHEMA) (Ratner B. D. y Hoffman A. S., 1979). En el segundo caso, el copolímero debe tener al menos una especie hidrofílica para favorecer el hinchamiento en agua. Algunos ejemplos de este tipo de hidrogel son el p(NVP-co-HEMA), p(HEMA-co-MMA) y p(HEMA-co-AA) (Korsmeyer R. W. y Peppas N. A., 1997).

Para la obtención de hidrogeles con propiedades que permitan controlar la liberación de fármacos se decidió combinar las propiedades del DPA y del HEMA a partir de la síntesis de su copolímero, empleando diferentes proporciones de ambos.

En los copolímeros ambos monómeros se encuentran en la misma cadena y presentan uniones químicas covalentes entre ellos. Dependiendo de las características de los monómeros y de las condiciones de síntesis, estos pueden estar secuenciados de diferentes formas a lo largo de las cadenas principales del polímero. Se pueden diferenciar tres arreglos de copolímeros, esquematizados en la Figura II.1.3, copolímeros en bloque, alternantes y al azar (Young R.J. y Lovell P.A., 1991; Hiemenz P.C., 1984; Allcock H.R., 1990).



Figura II.1.3. Tipos de copolímeros, según el arreglo de los monómeros en la cadena principal del polímero.

La combinación de las propiedades de ambos monómeros se encuentra muy relacionada con el arreglo que posean los mismos en la cadena. Si bien no se dispone de datos de relaciones de reactividad en la copolimerización con HEMA y DPA, en función del método de polimerización empleado y a la similitud química de ambos monómeros (Odián G., 1981) se espera que los copolímeros obtenidos en este trabajo sean al azar.

Método de síntesis de los hidrogeles.

Existen dos tipos de polimerización por los cuales se pueden obtener los hidrogeles poliméricos: la polimerización en cadena y la polimerización en etapas (Allcock H.R. y Lampe F.W., 1990; Nicholson J.W., 1997; Carraher C.E., 1996). En la polimerización en cadena, el monómero se va adicionando al centro radical de la cadena en crecimiento, mientras que en la polimerización en etapas los monómeros, con sustituyentes funcionales, reaccionan entre sí mediante una reacción de condensación (generalmente con pérdida de una molécula pequeña), para formar dímeros, trímeros, tetrámeros, etc. En este último caso la longitud de la cadena va creciendo por la asociación entre meros. La elección de una u otra dependerá del tipo de monómero empleado para la síntesis y de las propiedades finales requeridas. Particularmente, los monómeros que se usaron en este trabajo pertenecen a la familia de los monómeros acrílicos, los cuales se caracterizan por ser susceptibles de polimerizarse en cadena. En este tipo de polimerización los monómeros se adicionan a las cadenas en crecimiento por conversión de sus dobles enlaces en enlaces saturados, de acuerdo a la siguiente reacción:



donde Y representa cualquier grupo sustituyente. Ésta polimerización involucra tres etapas: iniciación, propagación y terminación, las cuales se describen brevemente a continuación (Odian G., 1981).

- Iniciación.

La iniciación involucra dos reacciones. Primero la formación de una especie reactiva R^\bullet , que puede ser un radical libre, un catión o un anión, siendo en nuestro caso una especie radical la reactiva. La especie radical generalmente se produce por ruptura homolítica de un compuesto denominado iniciador (Esquema II.1.2).

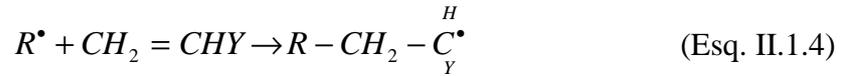


donde k_d es la constante de velocidad para la disociación del iniciador. La segunda reacción involucra la adición de este radical con la primera molécula del monómero para producir la especie de iniciación del crecimiento en cadena M_1^\bullet , (Esquema II.1.3).



donde M representa la molécula de monómero y k_i es la constante de velocidad para el paso de iniciación. En este caso el iniciador reacciona con el enlace insaturado del

monómero (tipo vinílico), abriendo el doble enlace y dando lugar a un nuevo radical (Esquema II.1.4).



- Propagación

La propagación consiste en sucesivas adiciones de monómeros a la cadena en crecimiento. Cada adición genera un nuevo radical, el cual tiene la misma naturaleza que el anterior. Las sucesivas adiciones pueden representarse por:



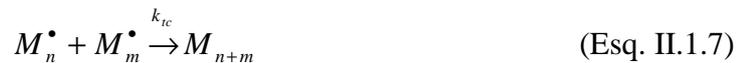
En términos generales



Donde k_p es la constante de propagación.

- Terminación

La terminación se produce mediante la aniquilación de los radicales libres por reacciones bimoleculares entre especies radicalarias. En este caso, dos radicales reaccionan entre sí y la reacción termina por *combinación*, como se esquematiza a continuación:



Otra forma de terminación, más inusual, es por *desproporción* en la cual un hidrógeno que esta en posición beta respecto al centro radical es transferido a otro centro radical. Esto da como resultado la formación de dos moléculas poliméricas una saturada y otra insaturada.

En este tipo de polimerización, la concentración de monómero va disminuyendo a lo largo del curso de la reacción a medida que el peso molecular se incrementa, generando cadenas con alto peso molecular desde el comienzo de la reacción. El porcentaje de conversión va aumentando durante la misma.

La velocidad de polimerización está dada por la velocidad a la cual el monómero desaparece. La ecuación general para la velocidad de polimerización por adición está dada por:

$$R_p = k_p [M] \left(\frac{R_i}{2k_t} \right)^{1/2} \quad (\text{Ec. II.1.1})$$

La reacción de iniciación de la polimerización se puede dar por varias vías, dos de las más comunes son: la fotoiniciación o termoiniciación. En el caso de la iniciación térmica la muestra es sometida a la acción del calor, en presencia de un compuesto termosensible, el cual sufre una ruptura homolítica generando la formación de radicales libres. Por otra parte, la iniciación fotoquímica ocurre cuando se irradia una molécula fotosensible con luz ultravioleta o visible. En ese caso la molécula absorbe un fotón de luz y pasa por un estado electrónico excitado M^* , para luego descomponerse por ruptura homolítica, y dar origen a la formación de dos radicales libres:



El método elegido para este trabajo, es la polimerización fotoiniciada o fotopolimerización, empleando como fuente de luz una lámpara de luz UV, y como compuesto fotosensible el óxido de 2,4,6-trimetilbenzoil-difenilfosfina (Darocur TPO), Figura II.1.4:

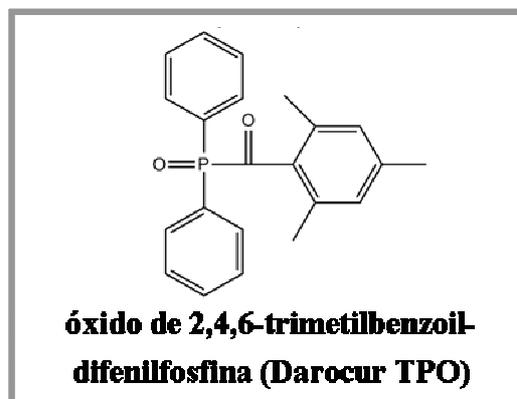


Figura II.1.4. Estructura molecular del iniciador empleado.

La velocidad de iniciación fotoquímica está dada por:

$$R_i = 2\phi I_a \quad (\text{Ec. II.1.2})$$

donde I_a es la intensidad de la luz absorbida y ϕ es el número de cadenas de propagación iniciadas por fotón de luz absorbido (referido como un quantum de energía por iniciador). El valor 2 hace referencia a que por molécula de iniciador se generan dos radicales (en homólisis). El máximo valor de ϕ es 1 y describe la eficiencia de los radicales en iniciar la polimerización. La intensidad de luz absorbida se puede expresar como:

$$I_a = \varepsilon I_o [A] b \quad (\text{Ec II.1.3})$$

Donde I_o es la intensidad de luz incidente, $[A]$ es la concentración de la especie fotoexcitada A , ε es la absorción molar de A a una longitud de onda determinada, y b es el espesor del sistema de reacción a ser irradiado. En principio se asume que la luz absorbida no depende del espesor del molde de polimerización. Sin embargo, se debe tener en cuenta que para la mayoría de las polimerizaciones, la luz absorbida no es despreciable, por lo que I_o y I_a varían en función del espesor. En estas condiciones y a partir de la ley de Lambert-Beer, se puede expresar la intensidad de luz absorbida por el sistema de reacción como:

$$I_a = I_o [1 - e^{-\varepsilon [A] b}] \quad (\text{Ec. II.1.4})$$

Donde b es ahora el espesor del molde de reacción. Entonces la velocidad de polimerización puede ser analizada por combinación de las ecuaciones II.1.1 y II.1.4 por:

$$R_p = k_p [M] \left(\frac{\phi I_o [1 - e^{-\varepsilon [A] b}]}{k_t} \right)^{1/2} \quad (\text{Ec. II.1.5})$$

El valor de I_a se puede obtener midiendo directamente la intensidad de luz absorbida en el sistema de polimerización empleando como técnica la actinometría química (sección II.2.2.3.).

El uso de la irradiación con luz UV es un campo de interés creciente, y presenta algunas ventajas con respecto al método térmico, como son la relación costo-beneficio, el mínimo espacio requerido y un reducido consumo de energía (Ward J.H. y Peppas N.A., 2001; Decker C., 1996). Además tiene como ventajas prácticas que la producción de radicales y la polimerización pueden ser espacialmente dirigidas, es decir, confinadas a una región en particular, asimismo se pueden activar o desactivar simplemente encendiendo o apagando la fuente de luz (O'dian G., 1981). Adicionalmente la velocidad de iniciación puede ser controlada mediante una combinación de la fuente de radicales, la intensidad de la luz y la temperatura. La principal desventaja para la polimerización es que la penetración a través del espesor del material es relativamente baja, limitando de esta forma su aplicación a la síntesis de compuestos del tipo superficiales como recubrimientos, pinturas, lentes de contacto, etc. En nuestro caso esta desventaja no representa una limitación, ya que los espesores de los polímeros que se sintetizaron tienen valores pequeños, cercanos a 18 μm .

Finalmente, todas las reacciones de síntesis llevadas a cabo en este trabajo se realizaron mediante polimerización radical fotoiniciada. La síntesis de hidrogeles

poliméricos se realizó por copolimerización de HEMA/DPA, y homopolimerización de DPA y HEMA en presencia de un agente entrecruzante y un fotoiniciador empleando el método de síntesis en masa.

Es interesante aclarar que los métodos empleados en este trabajo son similares a los utilizados para la fabricación de los hidrogeles poliméricos destinados a emplearse como lentes de contacto. Estos suelen obtenerse por polimerización por adición, ya sea por iniciación térmica o lumínica, de mezclas de dos o más monómeros, a los que se le añade un agente entrecruzador, un iniciador de radicales libres y, ocasionalmente, colorantes y/o absorbentes de rayos ultravioleta. La polimerización se efectúa empleando dos tipos diferentes de moldes. Si el molde usado es tubular el polímero resultante tiene forma cilíndrica, que luego se corta en tacos de tamaño apropiado para después fabricar las lentes por torneado mecánico. Si la polimerización tiene lugar en un molde formado por dos partes que encajan entre sí dejando una cavidad central con forma lenticular, el producto de la polimerización es una lente de contacto acabada con forma curva, con diámetros entre 13,5 a 14,5 y espesores entre 9 y 350 μm (IACLE, 2000). Moldes de este tipo se usan en la fabricación de las lentes de hidrogel desechables. En este trabajo se sintetizaron películas con una forma plana, pero se mantuvieron las dimensiones de diámetro y espesor dentro de los valores que poseen las lentes de contacto, teniendo en cuenta que la relación entre el espesor y el diámetro (o tamaño) del sistema, son parámetros de forma que influyen en la velocidad y el mecanismo de liberación del sistema (Ritger P.L. y Peppas N.A., 1987-b).

II.2. PARTE EXPERIMENTAL

En esta sección se detallarán los pasos realizados para llevar a cabo la síntesis de los homo y copolímeros. En primer lugar se especifican los materiales y se describen las características del molde y de la lámpara UV empleados para la foto-polimerización. A continuación se describe el procedimiento de síntesis y la técnica espectroscópica utilizada para el seguimiento de la reacción y por último se detalla el acondicionamiento de los polímeros obtenidos para su ulterior caracterización.

II.2.1. Reactivos empleados para la síntesis de los copolímeros

Como ya se ha discutido, la síntesis de las películas poliméricas se realizó por fotopolimerización radicalaria. Los monómeros que se utilizaron para la síntesis del copolímero son el 2-(diisopropilamino)etil metacrilato (DPA) y el 2-hidroxietil metacrilato (HEMA). Como agente entrecruzador se usó un monómero bifuncional, el etilenglicoldimetacrilato (EGDMA) y como iniciador el óxido de 2,4,6-trimetilbenzoil-difenilfosfina (Darocur TPO, 97%). Las estructuras químicas de los reactivos se muestran en la Figura II.1.2.4.

El proceso de polimerización radicalario es termodinámicamente espontáneo y por tal razón los monómeros están estabilizados con sustancias que capturan radicales libres (agentes estabilizantes o inhibidores de polimerización), a modo de evitar la polimerización durante el transporte y el almacenamiento. Sin embargo, durante la polimerización, la presencia de estos compuestos puede retardar el comienzo de la polimerización y consumir iniciador. Por tal razón, los monómeros empleados en esta tesis han sido purificados como se indica a continuación.

II.2.1.1. Purificación de los monómeros mediante extracción por cromatografía en columna

Para la extracción del agente estabilizante presente en el monómero, se empleó la técnica de cromatografía de adsorción en columna. Esta técnica consiste en separar mezclas de compuestos mediante la elución de dicha mezcla en un sistema bifásico equilibrado, compuesto por una fase móvil líquida y otra fase estacionaria sólida.

Para esto, se empleó una columna vertical de vidrio de 10 ml, con un tapón de algodón en su parte inferior para retener la fase sólida. Para la purificación del HEMA se utilizó alúmina básica activada como adsorbente en forma de polvo marca *Acros organics*, con un tamaño de partículas comprendido entre 50 y 200 μm , CAS: 1344-28-1. Para la purificación del DPA se utilizó una columna DHR-4 Lote #800218014 específica para este monómero. La velocidad de elución fue de aproximadamente 0,5 ml/30 seg. Los monómeros purificados se reservaron en freezer a -20 °C por un tiempo máximo de 7 días, tras el cual fueron descartados.

Para corroborar la purificación se registraron los espectros de RMN y FTIR de las muestras purificadas. Los resultados se presentan en el apéndice (Figura VI.1.1. y Figura VI.1.2.)

- Control de la purificación de monómeros por Resonancia Magnética Nuclear de ^1H ($^1\text{H-NMR}$)

Los espectros $^1\text{H-NMR}$ de los monómeros purificados y sin purificar fueron obtenidos en cloroformo deuterado (CDCl_3) a una concentración de 5 a 10 mg/ml utilizando un equipo Varian Mercury Plus 200 (200 MHz), empleando tubos de 5 mm a 25 °C. Las condiciones de adquisición fueron: tiempo de adquisición 4,094 s; frecuencia 200,04 MHz; pulso 45°; tamaño de ventana espectral 2000,4 Hz. Se acumuló un total de 32 barridos por espectro, y se tomó como referencia la señal de TMS (tetrametil silano).

- Control de la purificación de monómeros por FTIR.

Los espectros FTIR de los monómeros purificados y sin purificar se registraron en el modo de transmisión utilizando un espectrofotómetro FTIR Nicolet 380, Thermo Scientific, USA. Aproximadamente 1 μl de muestra se depositó sobre una pastilla de KBr. El espectro se registró entre 4000 y 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} , con una adquisición de 64 barridos por muestra. Los espectros fueron procesados usando el software EZ Omnic.

II.2.2. Molde empleado para la polimerización

La polimerización se realizó en masa o “bulk”. Como molde de polimerización se utilizaron dos placas de vidrio separadas por un espaciador de teflón (Figura II.2.2.1).

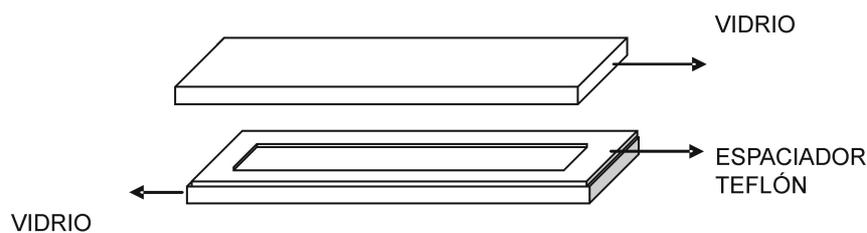


Figura II.2.2.1. Esquema del molde de polimerización.

Las placas de vidrio empleadas eran de 4,00 x 16,00 cm con un espesor de 2 mm. Para determinar la intensidad de radiación UV que llega al medio de reacción se midió la transmitancia del vidrio con espectrofotometría UV para el espectro de emisión de la lámpara (Figura VI.1.3, en apéndice) La transmitancia del vidrio empleado es de un 88 % a 350 nm, valor que corresponde al pico máximo de irradiación de la lámpara. Esta determinación se realizó utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Fluorat®-02-Panorama (Lumex, Rusia) en conjunto con un accesorio externo Photometric Light-Gide

Device HOBBY. El espectro completo (de 310 a 450 nm) se muestra en el apéndice en la Figura II.2.3.1.

En cuanto a la elección del espesor del espaciador, se tuvieron en cuenta los siguientes factores:

- El rango de espesores empleados para lentes de contacto blandas comerciales.
- La relación entre el espesor del sistema de polimerización, la profundidad de penetración del haz incidente; y la intensidad de luz absorbida por el iniciador.

En el primer caso se debe tener en cuenta que el valor de espesor central del lente de contacto varía según el fabricante, material y poder dióptrico del mismo. En general, para los lentes blandos (de hidrogel), los rangos de espesores utilizados se encuentran entre 9 y 350 μm 0,35 y 0,009 mm (IACLE, 2000).

En el segundo caso en la foto-polimerización, la intensidad de luz varía a lo largo del espesor del molde de reacción, debido a que la absorción aumenta. Como ya se indicó en la sección II.1.2., a partir de la ecuación de intensidad y aplicando la ley de Lambert-Beer se puede obtener la relación entre la intensidad de luz absorbida y el espesor del molde de reacción a partir de la Ecuación II.2.2.1:

$$I_a = I_o \left[1 - e^{-\varepsilon [A] b} \right] \quad (\text{Ec. II.2.2.1})$$

Donde b es el espesor del molde de reacción, I_a e I_o son la intensidad de luz absorbida e incidente, respectivamente, $[A]$ es la concentración del iniciador, y ε su coeficiente de absorción molar. Como la velocidad de polimerización es proporcional a la intensidad de luz absorbida, se puede estimar, para una concentración de iniciador dada, el máximo espesor máximo del sistema de reacción que puede ser polimerizado, para valores mayores a éste, R_p tenderá a cero [Odián G, 1981]. El valor máximo de espesor será el valor de b para el cual:

$$e^{-\varepsilon [A] b} = 0 \quad (\text{Ec. II.2.2.2})$$

Si se grafica $e^{-\varepsilon [A] b}$ para diferentes valores de b se puede obtener el rango de espesores adecuados para la polimerización. En la Figura II.2.2.2. se muestra el resultado de dicho gráfico para una concentración de iniciador de 1 % p/v y un valor de ε de 304,85 $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ a 350 nm (el valor de ε se obtuvo de la pendiente del gráfico de absorbancia UV versus concentración para diferentes concentraciones de iniciador, Figura VI.1.1.4 en apéndice). De la Figura II.2.2.2, se puede concluir que para valores de b mayores a 0,09 cm, el término $e^{-\varepsilon [A] b}$ tiende a cero, y en consecuencia la velocidad de polimerización será

baja o casi nula, sin embargo para espesores comprendidos entre 0,01 y 0,02 mm este término presenta valores cercanos a 0,5.

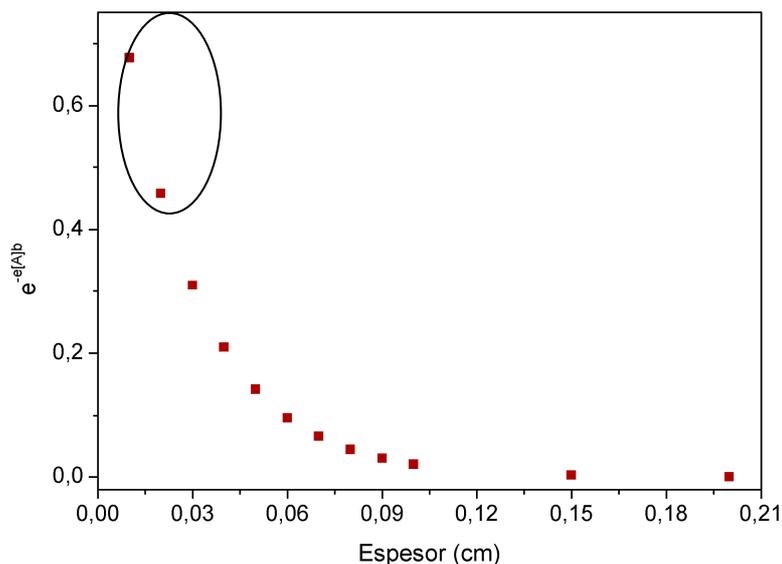


Figura II.2.2.2. Relación entre el espesor del espaciador del sistema de reacción y el valor del término $e^{-e[A]b}$ perteneciente a la ecuación de polimerización, para una longitud de onda de 350 nm.

Finalmente, teniendo en cuenta los dos factores antes mencionados, se seleccionó un espesor de 150 μm .

II.2.3. Lámpara UV empleada para la fotoiniciación

Para dar comienzo a la polimerización se empleó una fuente de luz UV junto con un iniciador químico fotosensible. En la Figura II.2.3.1 se muestra el espectro de emisión de la lámpara UV, Rayonet RPR-3500, utilizada en este trabajo.

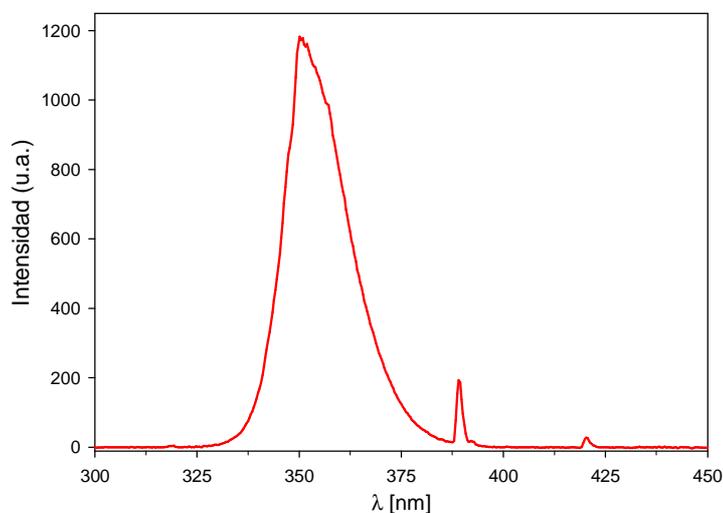


Figura II.2.3.1. Distribución espectral de la densidad de irradiación para lámparas UV Rayonet RPR-3500 (cortesía del Grupo de Fotoquímica de Pteridinas, INIFTA)

La lámpara se montó en la parte superior del interior de un *rack* y la muestra se colocó debajo de la misma. La intensidad de la luz emitida por la lámpara RPR-3500 empleada para la polimerización, se determinó directamente en el sistema de polimerización empleando la técnica de *actinometría química*. Esta técnica permite determinar la velocidad de incidencia de fotones para un sistema con geometría específica y en un dominio espectral bien definido (Braun AM, 1991.).

Para la técnica de actinometría química se emplea una sustancia cuya energía cuántica de reacción (energía radiante necesaria para transformar una cierta cantidad de reactivo en reactante) se conoce para una determinada longitud de onda. En este trabajo se utilizó el ferrioxalato de potasio ($K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3H_2O$), que es uno de los actinómetros más prácticos utilizados para evaluar las intensidades de radiación comprendidas entre 200 y 500 nm. En presencia de radiación UV éste sufre la reducción del hierro férrico a ferroso, mediante la siguiente reacción fotoquímica:



La velocidad de los fotones incidentes (P_0) está definida como el número total de fotones entrando a la solución por unidad de tiempo y unidad de volumen, y puede calcularse para una lámpara policromática por medio de la ecuación II.2.3.1 (Carlos Luciano, 2009):

$$P_0 = \frac{\left(\frac{d[Fe^{+2}]}{dt} \right)}{\sum_i p_i (1 - 10^{-A_i}) \Phi_{Ac,i}} \quad (\text{Ec. II.2.3.1})$$

El subíndice i se refiere a pequeños intervalos finitos de longitud de onda, la suma de todos los intervalos abarca la región de λ entre 200 a 480 nm, $d[Fe^{+2}]/dt$ es la velocidad de formación del Fe^{+2} (calculada a partir de la pendiente del gráfico $[Fe^{+2}]$ vs. tiempo), p_i es la función de probabilidad de la emisión fotónica de la lámpara, A_i es la absorbancia media de la solución y $\Phi_{Ac,i}$ es el rendimiento cuántico global del ferrioxalato de potasio en el intervalo i de longitudes de ondas.

Si la absorbancia de la solución de ferrioxalato de potasio, para un camino óptico de 1 mm es mayor que 2 entre 200 y 480 nm el término $(1 - 10^{-A_i})$ dentro de la sumatoria de la ecuación II.2.3.1 se reduce a 1 en todo el intervalo de longitudes de onda estudiado (Carlos Luciano, 2009; Braun AM, 1991). De este forma queda que:

$$P_0 = \frac{\left(\frac{d[Fe^{+2}]}{dt} \right)}{\Phi_{AC,i}} \quad (\text{Ec. II.2.3.2})$$

Los cálculos fueron realizados asumiendo que el rendimiento cuántico del ferrioxalato de potasio es prácticamente constante, con un valor de 1,24 (para el intervalo de 200 a 360 nm) (Braun AM, 1991). Para asegurar que la absorbancia de la solución actinométrica sea mayor a 2 se empleó una solución de 0,092 M de ferrioxalato de potasio cuyo pH se ajustó a un valor de 4,0 con buffer acético/acetato (la preparación se presenta en el apéndice, sección VI.2.2) y un camino óptico de 0,2 cm. La cantidad de iones ferrosos formados durante un determinado período de exposición se determinó empleando la técnica de espectrofotometría de absorción UV-visible. Se midió la absorbancia, a 510 nm, del complejo formado entre los iones ferrosos y la o-fenantrolina (Figura II.2.3.2).

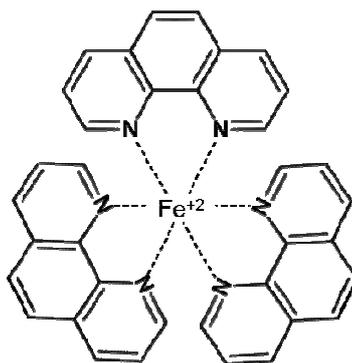


Figura II.2.3.2. Estructura del complejo formado entre los iones ferrosos y la o-fenantrolina.

A continuación se describe detalladamente los pasos seguidos para determinar la intensidad de radiación que ingresa al sistema de polimerización:

- 1- Se preparó la solución de ferrioxalato de potasio a partir de una mezcla 1:3 de una solución de cloruro férrico ($FeCl_3$), y oxalato de potasio ($K_2C_2O_4$). Esta preparación se ilustra en detalle en el apéndice.
- 2- Se colocaron 20 ml de la solución de ferrioxalato de potasio en el molde de polimerización. Para este ensayo se empleó un molde con un espesor de 0,2 cm.
- 3- Se encendió la lámpara RPR-3500.
- 4- Se tomaron muestras de la solución cada 30 segundos.

- 5- Cada muestra se puso en contacto una solución de o-fenantrolina ($1,15 \times 10^{-3}$ M) y se midió la absorbancia de la solución a 510 nm.
- 6- La solución se irradió durante un máximo de 2 minutos para lograr un consumo del ferrioxalato de potasio que no superara el 10 % (Braun AM, 1991).
- 7- La concentración de iones ferrosos formados durante la fotólisis del ferrioxalato se determinó con una curva de calibración y aplicando la ley de Lambert-Beer (el detalle se presenta en el apéndice, sección VI.2.1).
- 8- Las medidas se realizaron por duplicado.

Posteriormente se graficaron los valores correspondientes a la formación de Fe^{+2} en función del tiempo. Luego con el dato de la velocidad de conversión (moles de Fe^{+2} por segundo), y el valor del rendimiento cuántico de la reacción, se calculó la intensidad de luz requerida para esa reacción, la cual corresponde a la intensidad de luz que emite la lámpara en unidades de $\text{Einstein} \cdot \text{s}^{-1}$.

II. 2.4. Procedimiento de polimerización

Las películas se sintetizaron con una relación HEMA/DPA de 100/0, 90/10, 70/30 y 0/100; y con dos porcentajes de entrecruzador, 1 y 3 % p/p. En todos los casos la concentración de iniciador fue del 1 % p/v. En la Tabla 2.4.1 se muestran las proporciones de los reactivos utilizados para la polimerización.

Tabla II.2.4.1. Porcentajes nominales de los reactivos utilizados para las síntesis de películas de p(HEMA-co-DPA).

Nombre	HEMA %(p/p)	DPA %(p/p)	EGDMA %(p/p)	TPO %(p/v)
HD100/0-0	100	0	0	1
HD100/0-1	100	0	1	1
HD100/0-3	100	0	3	1
HD90/10-1	90	10	1	1
HD90/10-3	90	10	3	1
HD70/30-1	70	30	1	1
HD70/30-3	70	30	3	1
HD0/100-0	0	100	0	1
HD0/100-1	0	100	1	1
HD0/100-3	0	100	3	1

Para designar a cada muestra se utilizará la siguiente nomenclatura: HDX/Y-Z, siendo HD las iniciales de los monómeros HEMA y DPA, X el porcentaje de HEMA, Y el porcentaje de DPA, y Z el porcentaje de entrecruzador. Alternativamente, para los homopolímeros también se utilizará la nomenclatura pHEMA-Z o pDPA-Z.

La mezcla de polimerización se realizó en un frasco color caramelo (para protegerla de la acción de la luz). Los reactivos se colocaron en el siguiente orden:

- 1- Iniciador.
- 2- HEMA.
- 3- DPA.
- 4- EGDMA.

Los tres monómeros líquidos fueron adicionados utilizando una pipeta automática P1000 o una pipeta de doble aforo. En todos los casos se controlaron las cantidades adicionadas mediante una balanza.

El frasco se tapó con un tapón de goma al cual se le incorporaron dos cánulas: una para la salida de aire; y otra para la entrada de nitrógeno. La mezcla de polimerización se burbujeó durante 20 minutos con nitrógeno bajo agitación constante. Luego con una jeringa de vidrio se depositaron 0,8 ml de la mezcla en el interior de la cavidad formada por el espaciador de teflón (Figura II 2.4.1). Una vez sellado el molde se irradió con luz UV.

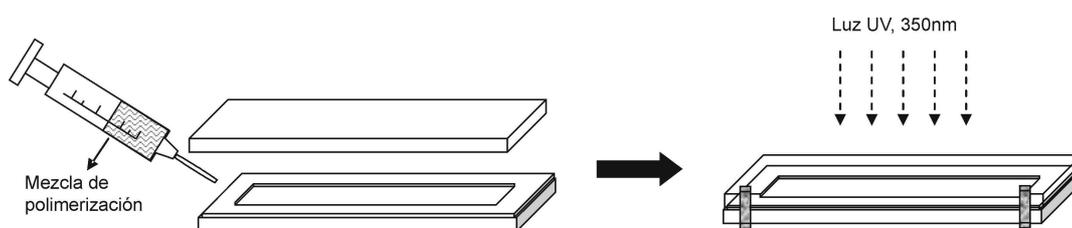


Figura II.2.4.1. Esquema del proceso de foto-polimerización

II.2.4.1. Seguimiento de la polimerización radicalaria fotoiniciada mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

Durante la polimerización por adición, la velocidad de reacción se puede determinar a partir de la desaparición del doble enlace C=C en función del tiempo. A diferentes tiempos de reacción se apagó la lámpara para detener la polimerización (Odián G., 1981) y se cuantificó la presencia de dicho enlace en la muestra. Para ello las muestras fueron analizadas mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

empleando la técnica de monoreflectancia total atenuada (monoATR). Las características del accesorio ATR universal de mono reflexión empleado son: cristal de ZnSe, número de reflexiones = 1 con una profundidad de penetración de 2,4 μm . Los espectros fueron colectados con un espectrofotómetro FTIR Nicolet 380 entre 4000 y 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 30 barridos por espectro.

Para cada espectro se determinó el cociente $A = X/Y$, siendo Y el área de la señal comprendida entre 3045 y 2650 cm^{-1} correspondiente a las contribuciones de los estiramientos de los grupos CH (banda representativa de toda la muestra); y X es el área de la señal comprendida entre 1660 y 1585 cm^{-1} correspondiente al doble enlace C=C. Para determinar los tiempos de polimerización se graficaron los cocientes entre el valor de A a tiempo t y el valor de A a tiempo cero (A_t/A_0) en función del tiempo.

II.2.5. Preparación de los copolímeros y homopolímeros sintetizados

II.2.5.1. Purificación de los hidrogeles.

Luego de la polimerización se colocaron las películas en agua destilada (pH 6,50), y se renovó, cada 24 a 48 horas, la solución por agua destilada “fresca” con el objetivo de eliminar mediante sucesivos lavados subproductos y restos de reactivos que pudieran haber quedado luego de la polimerización. Para seguir la evolución del lavado se registró, en la solución de descarte, la absorbancia UV en el intervalo de 190 a 300 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Fluorat-02 (Lumex, Rusia). El recambio de la solución se realizó hasta no observar cambios en el espectro de absorción UV de la misma.

La conversión final de la reacción de polimerización se determinó por gravimetría, calculando la diferencia de peso entre la película sin lavar (P_i) y la película lavada y secada en estufa a 50 $^{\circ}\text{C}$ (P_f).

$$\text{Conversión \%} = \left(1 - \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \right) * 100 \quad (\text{Ec. II.2.5.1.1})$$

II.2.5.2. Corte y almacenado de las películas de los copolímeros y homopolímeros

Las películas lavadas y con un espesor de $180 \pm 30 \mu\text{m}$ se cortaron en piezas circulares de 13 mm de diámetro empleando un sacabocados. Luego se secaron en caja seca a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 h y finalmente se almacenaron en un desecador con silica gel.

Para los ensayos de ángulo de contacto y transmisión se cortaron películas rectangulares y se secaron entre dos placas de vidrio para obtener películas planas.

II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

II.3.1. Determinación de la intensidad de la lámpara UV

Como ya se explicó en la sección II.2.3, la determinación de la intensidad de la lámpara se realizó empleando la técnica de actinometría química, y como reactivo se empleó el ferrioxalato de potasio. En la Figura II.3.1.1 se muestra la concentración de iones ferrosos formados durante la fotólisis del ferrioxalato de potasio. A partir de la velocidad de formación de Fe^{+2} (en moles de Fe^{+2} por segundo) y del valor del rendimiento cuántico de la reacción, para el intervalo de longitud de onda de la lámpara, que es 1,24, se calculó a partir de la Ecuación II.2.3.2 la intensidad de luz requerida para esa reacción, la cual corresponde a la intensidad de luz que emite la lámpara en unidades de $\text{Einstein}\cdot\text{s}^{-1}$.

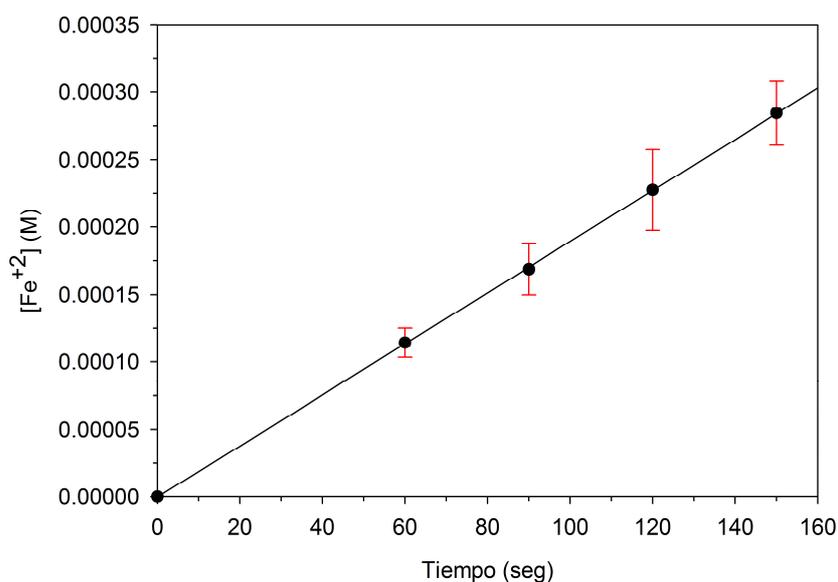


Figura II.3.1.1. Concentración de Fe^{+2} obtenido durante la actinometría empleando la lámpara RPR-3500 y una solución 0,098M de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, para el molde de polimerización mostrado en la Figura II.2.2.1, con un espesor de 0,2 cm.

Finalmente se obtuvo un valor de intensidad de emisión de la lámpara de $1,62 \times 10^{-6}$ Eins. $s^{-1} \cdot l^{-1}$ para el sistema de polimerización empleado, y en el rango de longitud de ondas comprendido entre 200 y 360 nm. Este valor es similar a los obtenidos por otros autores para lámparas con las mismas características y el mismo fabricante (<http://www.rayonet.org/graphscharts.htm>)

II.3.2. Tiempo de polimerización

En la Figura II.3.2.1 se presentan los espectros de absorbancia IR a distintos tiempos de reacción para la polimerización del homopolímero del HEMA. A medida que la polimerización avanza, la intensidad del pico a 1636 cm^{-1} disminuye como consecuencia de la disminución de los dobles enlaces C=C.

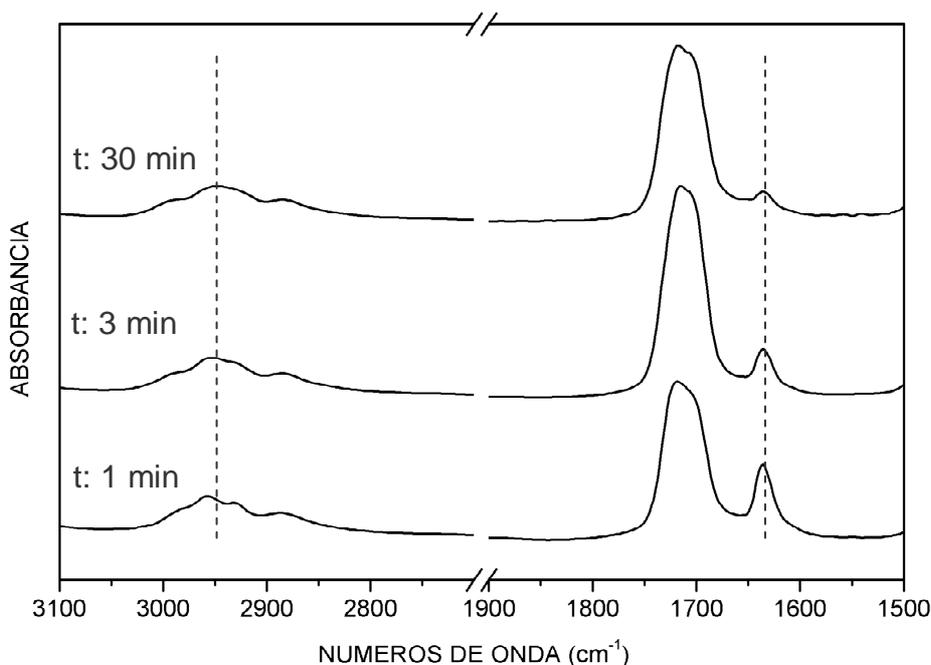


Figura II.3.2.1. Espectros de absorbancia IR a distintos tiempo de reacción para la polimerización del homopolímero del HEMA.

En la Figura II.3.2.2 se muestran la evolución de la absorbancia integrada y normalizada en función del tiempo de polimerización para el homopolímero de HEMA (HD100/0) y el copolímero HD70/30-1, con 1 % p/p de entrecruzador.

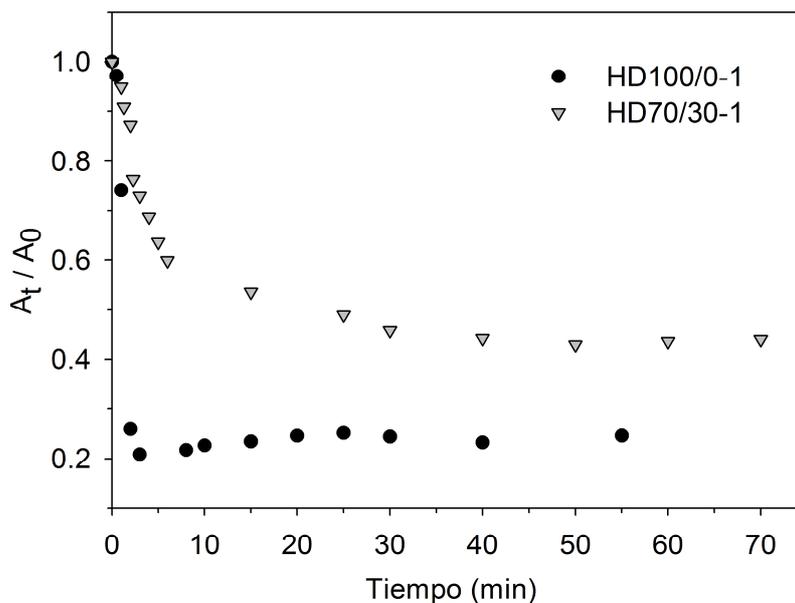


Figura II.3.2.2. Evolución de la absorbancia integrada y normalizada en función del tiempo de polimerización para las muestras de HD100/0-1 y HD70/30-1.

La velocidad de polimerización en el homopolímero es más rápida que en el copolímero, siendo 4 y 50 minutos para HD100/0-1 y HD70/30-1 respectivamente. Por tal razón, el tiempo mínimo de polimerización se estandarizó para todas las muestras en 55 minutos.

II.3.3. Preparación de películas de p(HEMA-co-DPA) para caracterización

La presencia de compuestos residuales de muy bajo peso molecular atrapados en el interior del polímero es una de las principales causas de inflamación y eventualmente rechazo de implantes de biomateriales (Ratner B.D. y Hoffman A.S., 1976; Peppas N.A., 1987). Es por ello que un requerimiento necesario para que un material pueda ser empleado en aplicaciones biomédicas es que sea químicamente inerte, y no tenga impurezas o compuestos que puedan causar reacciones de hipersensibilidad o toxicidad al liberarse al medio.

Si bien, en este trabajo no se realizan pruebas con tejidos vivos, de todas formas se lleva a cabo el proceso de lavado para evitar interferencia en las experiencias de caracterización y especialmente en los ensayos de liberación. Por otra parte, se analiza la posibilidad de acondicionar las muestras para trabajos futuros de citotoxicidad.

En la Figura II.3.3.1 se muestran los espectros UV obtenidos luego de varios días de lavado para las muestras HD100/0-1, HD90/10-1 y HD70/30-1.

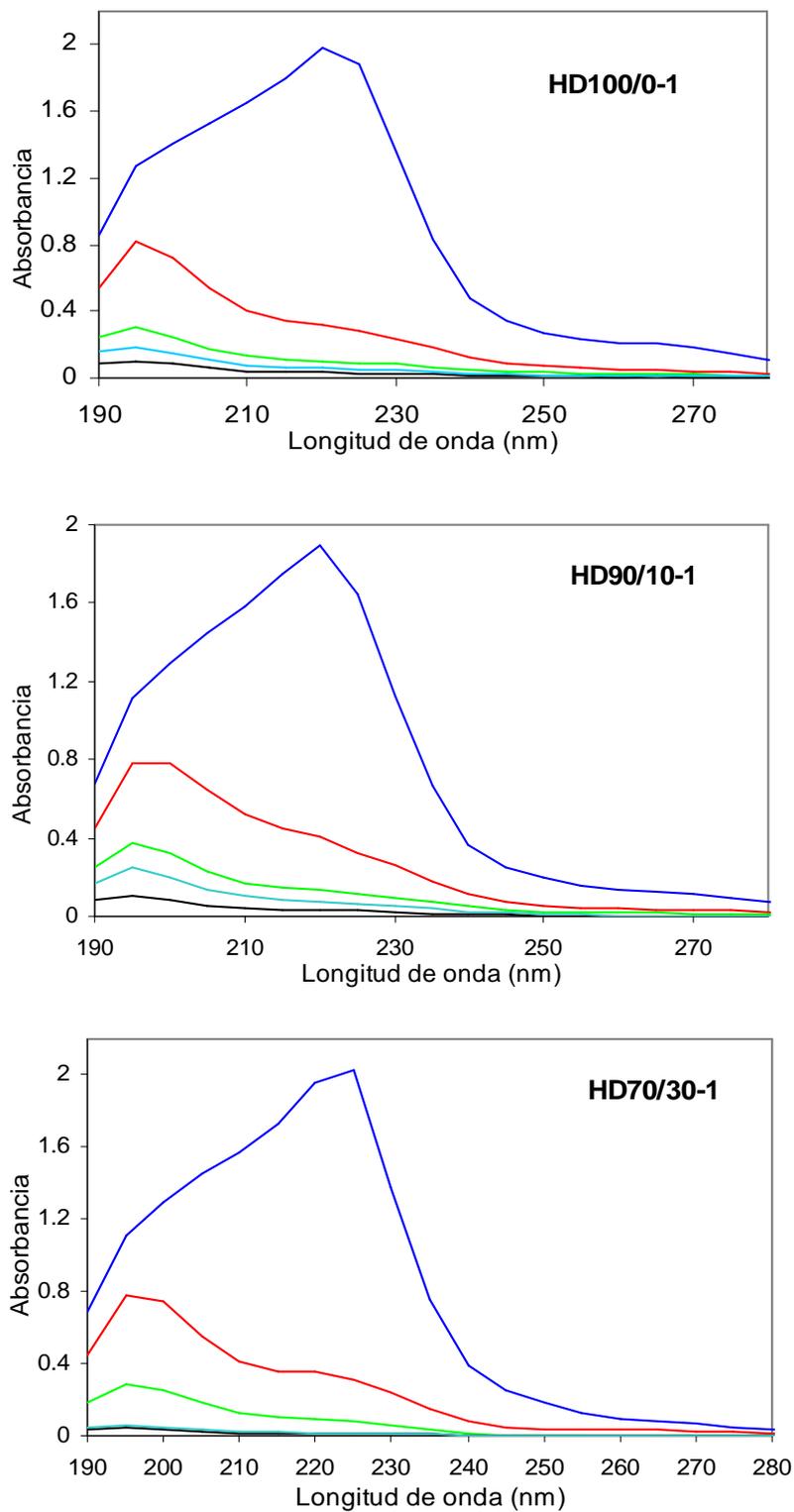


Figura II.3.3.1. Espectros de absorbancia UV de la solución de lavado a diferentes días: 1 (azul), 2 (rojo), 3 (verde), 5 (celeste) y 7 (negro) para las películas HD100/0-1, HD 90/10-1, y HD70/30-

1.

En todos los casos se observa como la absorción UV disminuye con los ciclos de lavado. En los espectros de absorción obtenidos en todas las muestras luego del séptimo día solo se presenta una banda de baja intensidad a 195 nm, con valores de absorbancia entre 0,05 y 0,10. Dado que en los días posteriores no se observaron cambios se estandarizó el lavado de las películas en un total de 7 días.

Los valores de conversión total para los copolímeros y homopolímeros obtenidos por gravimetría se presentan en la Tabla II.3.3.1.

Tabla II.3.3.1. Valores de conversión finales obtenidos por gravimetría.

	Entrecruzador (% p/p)	Conversión (%)
HD100/0	1	79
	3	81
HD90/10	1	76
	3	78
HD70/30	1	67
	3	71
HD0/100	1	63
	3	65

En la Figura II.3.3.2 se muestra una imagen fotográfica de las películas obtenidas. En todos los copolímeros las películas mostraron una apariencia transparente y homogénea, y una buena resistencia mecánica a la manipulación. A su vez fue posible obtener películas circulares con dimensiones similares a las de las lentes de contacto.



Figura II.3.3.2. Imágenes fotográficas de las películas obtenidas para el copolímero HD70/30-1: película entera (izquierda) y película cortada con un diámetro de 13,0 mm (derecha).

II.4. CONCLUSIONES

En esta sección se discutió como se sintetizaron los hidrogeles de pHEMA, pDPA y p(HEMA-co-DPA) mediante polimerización radicalaria fotoiniciada. Las películas de los copolímeros y homopolímero de HEMA obtenidos resultaron ser macroscópicamente homogéneas y resistentes a la manipulación y con una apariencia transparente compatibles con la aplicación potencial como lente de contacto.

II.5. BIBLIOGRAFÍA

- Allcock H.R., Lampe F.W. Contemporary Polymer Chemistry, 2nd Ed, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, 1990; pag. 420-442.
- Am Ende M.T., Peppas N.A. J. Controlled Release, 1997; 48: 47-56.
- Braun A.M., Maurette M.T., Oliveros E. Photochemical Technology. Ed. Willey, 1991; Cap. 2.
- Brazel C.S., Peppas N.A. Polymer, 1999; 40: 3383-3398.
- Carlos L. Tesis: Estudio de la eficacia de degradación de contaminantes empleando tecnologías de oxidación avanzada: Procesos Fenton y foto-Fenton, UNLP-Facultad de Ciencias Exactas, Departamento de Química, 2009; pag. 62 - 64.
- Carraher C.E. Jr. Polymer Chemistry—An Introduction, 4th ed, Marcel Dekker, Inc., New York, 1996; pag. 345-347.
- Decker, C. Photoinitiated crosslinking polymerization. Prog. Polym. Sci. 1996; 21: 593-650.
- Gehrke S.H., Lee P.I. Hydrogels for Drug Delivery - Specialized Drug Delivery Systems, Manufacturing and Production Technology. New York, 1990.
- Hiemenz P.C. Polymer Chemistry— The Basic Concepts, Marcel Dekker, Inc., New York, 1984; pag. 1-72.
- <http://www.rayonet.org/graphscharts.htm>, 8 Agosto, 2010.
- IACLE Contact Lens Course, Primera Edición. Módulo 2: Introducción a las lentes de contacto. Sydney, Australia, 2000.
- Korsmeyer R.W., Peppas N.A. J. Controlled Release, 1984; 1: 89-98.
- Nicholson J.W. The Chemistry of Polymers, 2nd Ed., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1997; pag. 27-44.
- Odian G. Principles of polimerización. Segunda edición, Ed John Wiley y Sons, 1981; Cap. 3.
- Peppas N.A., Lowman A.M. Hydrogels. Encyclopedia of controlled drug delivery. Brown University, Providence, Rhode Island, John Wiley & Sons, Inc. 1999; 1: 397-418.
- Peppas N.A., Moynihan H.J. Hydrogels in Medicine and Pharmacy- Polymers, ed., vol II, CRC Press, Inc., Florida, 1987; pag. 49-64.

- Ratner B.D., Hoffman A.S. Hydrogels for Medical and Related Applications. Andrade, J. D., ed., American Chemical Society, Washington D.C. 1976; pag. 1 - 29.
- Ritger P.L., Peppas N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of control release*, 1987; 5:37-42.
- Ward J.H., Peppas N.A. Preparation of *controlled release* systems by free-radical UV polymerizations in the presence of a drug. *J. Controlled Release*, 2001; 71:183-192.
- Young R.J., Lovell P.A. *Introduction to Polymers*. 2nd Ed., Chapman & Hall, London, 1991; pag. 241-306.

III. CARACTERIZACIÓN DE LOS HIDROGELES

La caracterización de las propiedades fisicoquímicas de los materiales es fundamental para evaluar su aplicación. En esta sección se realizará una caracterización general de los polímeros empleando las técnicas de espectroscopia UV-Visible y espectroscopia infrarroja. También se analizarán las propiedades térmicas como la temperatura de transición vítrea y la estabilidad térmica empleando las técnicas de análisis térmico diferencial (DTA), análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido modulada en temperatura (MDSC) y las características que definen las propiedades de los hidrogeles, tales como el contenido acuoso determinado por gravimetría, el estado del agua en el interior de la matriz por MDSC y las características morfológicas empleando microscopia electrónica de barrido (SEM).

Particularmente se realizará una caracterización de las propiedades específicas para su aplicación como lente de contacto, como ser: la transparencia, evaluada por espectroscopia visible; el índice de refracción, determinado por refractometría; la humectabilidad superficial, analizada con la técnica de ángulo de contacto y la densidad, determinada mediante picnometría. Con respecto a la transmisibilidad al oxígeno y la estabilidad dimensional, propiedades importantes para esta aplicación, se han obtenido resultados preliminares que no son discutidos en esta oportunidad y serán motivo de trabajos futuros.

III.1. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

En esta sección se discutirá la caracterización espectral de las películas poliméricas sintetizadas, empleando la espectroscopia infrarroja de transmisión por transformada de Fourier y la espectroscopia UV-visible.

III.1.1. PARTE EXPERIMENTAL

III.1.1.1. Espectroscopia infrarroja de transmisión por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros infrarrojos fueron obtenidos en el modo de transmisión utilizando un espectrofotómetro FTIR Nicolet 380, Thermo Scientific, USA.

Para ello, se prepararon pastillas a partir del polvo compuesto por una parte de muestra y tres partes de KBr espectroscópico. El armado de la pastilla consiste en

colocar la mezcla pulverizada de muestra y KBr en un soporte (pastillero) y mediante una prensa aplicar la presión necesaria para compactar el polvo y formar así la pastilla.

Cada espectro se adquirió con 64 barridos entre 4000 y 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Los espectros fueron procesados usando el programa EZ Omnic.

Los espectros fueron normalizados empleando la banda a 749 cm^{-1} asignada al modo vibracional *rocking* del grupo metilo (γCH_3). Esta banda se encuentra presente en los monómeros precursores HEMA y DPA, considerándose despreciable la contribución del entrecruzador EGDMA por haberse adicionado en pequeñas proporciones (1 y 3 % p/p).

Para analizar las películas de p(HEMA-co-DPA) conteniendo el principio activo incorporado las muestras se prepararon como se indicó anteriormente, pero utilizando películas cargadas con el principio activo según se explica en la sección IV.2.1. Los resultados de esta parte del trabajo se presentan en la sección IV.2.2.

III.1.1.2. Espectroscopia UV-visible

El espectro de absorción UV-visible se obtuvo utilizando un espectrofluorómetro UV-Visible Fluorat®-02-Panorama, Lumex, Rusia en el modo de transmisión. Para este ensayo se emplearon películas rectangulares de 5,0 x 15,0 mm (de aproximadamente 180 μm de espesor) en estado seco y en estado hidratado. Para hidratar las películas se colocaron durante 24 horas a temperatura ambiente en solución buffer BF a diferentes valores de pH (6,50; 7,40 y 8,40).

Las películas secas se colocaron directamente en el portacelda del equipo, mientras que las películas hidratadas se depositaron sobre el centro de un vidrio rectangular de cuarzo habiéndoles previamente quitado el agua superficial.

El espectro de transmisión en la región UV se obtuvo con un paso de 0,5 nm en el rango de longitud de ondas de 190 a 350 nm en un tiempo total de 80 s. Las medidas se registraron por duplicado y cada espectro se normalizó según el espesor.

Por otro lado, se obtuvo la absorción en la región del espectro visible de las películas luego de incorporarle el principio activo. Los resultados se discuten en la sección IV.2.2.

III.1.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1.2.1. Espectroscopia infrarroja de transmisión por transformada de Fourier (FTIR)

En esta sección se discutirán en una primera parte los espectros FTIR obtenidos para los homopolímeros de HEMA y DPA asignando las bandas características más relevantes. También se analizarán los cambios espectrales que se producen al variar el contenido de entrecruzador. En una segunda parte se discutirán los espectros obtenidos de los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y se analizará la interacción entre sus componentes y las variaciones espectrales cuando se modifica la proporción relativa de cada uno de los monómeros y el grado de entrecruzamiento.

Espectro IR del pHEMA sin entrecruzador

Si bien el espectro IR del pHEMA ha sido estudiado en forma detallada por Faria y Kulbida (Faria M.D.G y col., 1991; Kulbida A. y col., 1995) en este trabajo se incluyen las asignaciones a fin de facilitar las correspondientes a los copolímeros. En la Figura III.1.2.1.1 se muestra el espectro FTIR del homopolímero de HEMA donde se distinguen cuatro regiones principales. La región de 3800 a 3060 cm^{-1} donde se observa una banda ancha e intensa asignada la vibración de estiramiento del grupo O-H; la región comprendida entre 1800 y 1600 cm^{-1} donde se encuentran presentes las bandas asignadas al estiramiento del grupo C=O; la región de estiramiento del C-H entre los 3000 y los 2800 cm^{-1} , y por último la región de la huella digital comprendida entre 1500 y 400 cm^{-1} . Las dos primeras regiones mencionadas se discutirán con más detalle más adelante, mientras que a continuación se discutirán las dos últimas regiones.

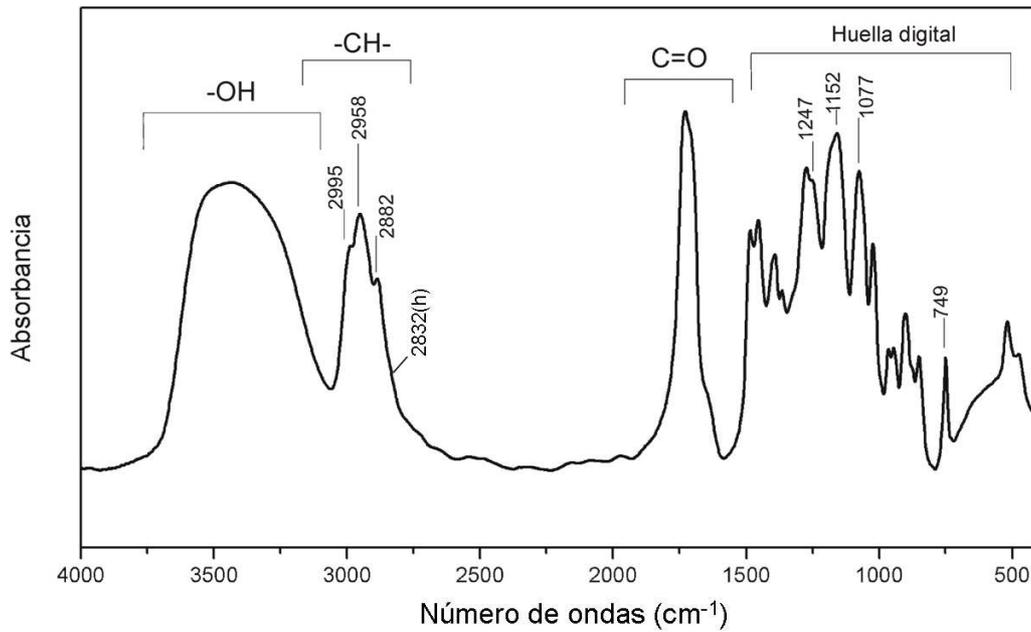


Figura III.1.2.1.1. Espectro FTIR del pHEMA. Se resaltan las bandas y las regiones más características.

En la región correspondiente a los estiramientos C-H se pueden apreciar varias bandas que se asignan a las vibraciones de los grupos CH_2 a 2958 cm^{-1} (estiramiento asimétrico) y a 2832 (h) cm^{-1} (estiramiento simétrico); y las bandas a 2995 cm^{-1} y 2882 cm^{-1} se asignan a los estiramientos asimétrico y simétrico respectivamente del grupo metilo del metacrilato. Por otro lado en la región de la huella digital se distinguen las bandas asignadas al estiramiento C-O a 1247 cm^{-1} , a la flexión *twisting* del OH a 1152 cm^{-1} , al estiramiento C-O del grupo alcohólico a 1077 cm^{-1} , y la banda a 749 cm^{-1} se asigna al *rocking* del grupo metilo (γCH_3). El resto de las bandas asignadas a los movimientos de deformación angular, *wagging*, *twisting* del CH_3 , CH_2 y del estiramiento C-C se encuentran detalladas en la Tabla III.1.2.1.1 (Faria M.D.G y col., 1991; Kulbida A. y col., 1995).

Tabla III.1.2.1.1. Asignaciones de bandas del espectro infrarrojo del pHEMA (Faria M.D.G. y col., 1991; Kulbida A. y col., 1995), donde ν es la vibración de estiramiento, s (simétrica) y as (asimétrica); δ , deformación angular; γ , flexión *rocking*; ω , flexión *wagging*; y τ , flexión *twisting*.

Número de ondas cm^{-1}	Asignación
3431	ν (OH)
2995	ν (CH ₃)as ,
2958	ν (CH ₂)as
2882	ν (CH ₃)s
2832 (h)	ν (CH ₂)s
1742	ν (C=O) libre
1695 (h)	ν (C=O) H-enlazado
1489	δ (CH ₂)
1453	δ (CH ₂), δ (CH ₃)as
1390	δ (CH ₃)s
1366	ω (CH ₂)
1279	ω (CH ₂), δ (CH)
1247	ν (C-O)
1152	γ (CH ₃), τ (OH)
1077	ν (O-C), alcohol
1023	ν (C-O), éster
966 – 800	ν (C-C), γ (CH ₃), γ (CH ₂)
749	γ CH ₃

La presencia de los grupos hidroxilo y carbonilo pendientes a los lados de las cadenas del pHEMA le brindan al polímero la posibilidad de formar puentes de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares del tipo C=O \cdots OH y OH \cdots OH (Morita S. y col., 2009). La formación de estos enlaces da origen a vibraciones moleculares que ocurren a diferentes frecuencias (números de ondas) según el tipo de enlace. Para separar las diferentes contribuciones de los grupos O-H y C=O según su estado libre o enlazado, se aplicó la técnica de la derivada segunda a las regiones comprendidas entre 3800 y 3060 cm^{-1} y entre 1800 y 1600 cm^{-1} . En la Figura III.1.2.1.2 se muestra en detalle las regiones correspondientes a estas dos zonas y el resultado del cálculo de la segunda derivada.

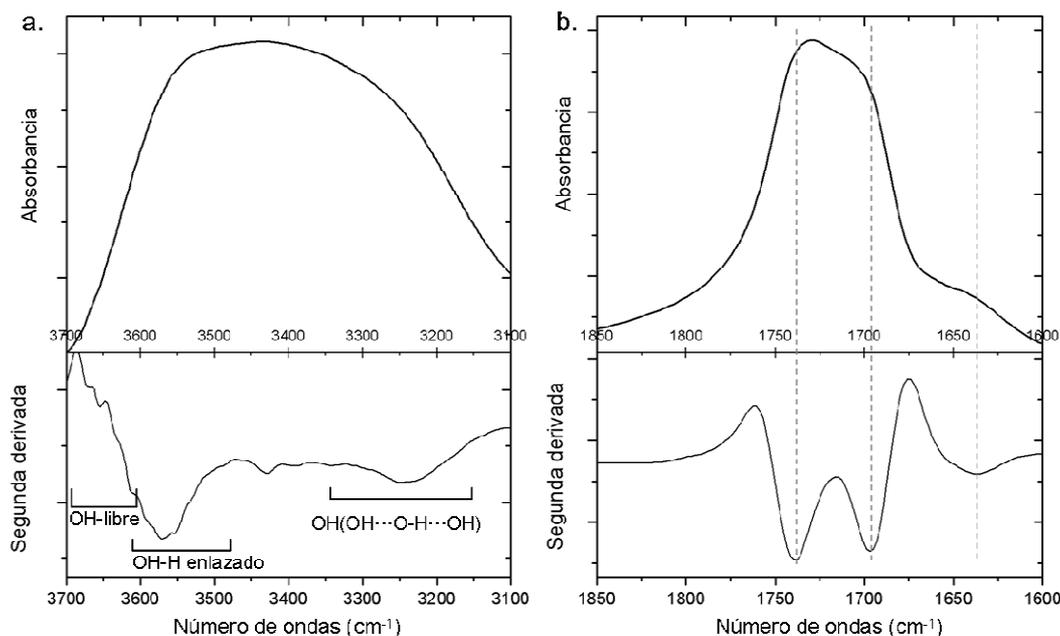


Figura III.1.2.1.2 Espectro de infrarrojo del pHEMA sin entrecruzador, y representación de la segunda derivada para el rango entre 3700 y 3000 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo O-H (a) y entre 1800 y 1500 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo C=O (b).

Se puede observar que la banda en la región de 3700 a 3050 cm^{-1} (Figura III.1.2.1.2.a), con un máximo en 3431 cm^{-1} y asignada a la vibración de estiramiento O-H, es ancha y presenta una forma asimétrica. Esto es evidencia de la formación de puentes de hidrógeno del grupo hidroxilo presente en el grupo funcional del pHEMA. Estas características también han sido observadas en la misma región espectral para otros sistemas y consideradas como evidencia de la formación de puentes de hidrógeno, como por ejemplo en agua (Bertie J.E. y Lan Z.D, 1996), en alcoholes (Kristiansson O., 1999) y en polímeros (Li D. y Brisson J., 1998). A partir de la segunda derivada se puede observar que la mencionada banda es el resultado de la contribución de varias bandas, y que corresponden a la vibración de estiramiento de los grupos OH, libre y enlazado por puentes de hidrógeno. Otros autores han determinado que el grupo OH puede formar, además, uniones puente de hidrógeno del tipo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}$, dímero $\text{OH}\cdots\text{OH}$ y/o agregados de grupos OH ($\text{OH}\cdots\text{O}-\text{H}\cdots\text{OH}$) y que cada enlace posee una energía de vibración diferente (Kristiansson O., 1999). A mayor número de ondas, la zona comprendida entre 3700 y 3600 cm^{-1} , se puede asignar a las vibraciones del estiramiento del hidroxilo en su estado libre ($[\nu \text{ OH}]$ libre) [Morita S y col., 2004]. Entre los 3600 y 3050 cm^{-1} se encuentran las vibraciones de estiramiento del $\text{OH}\cdots\text{H}$ -enlazado. Dentro de esta región podemos asignar la banda presente a mayor número de

ondas, con un máximo a 3572 cm^{-1} , al estiramiento O-H del tipo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}$, a menor número de ondas (3533 cm^{-1}) se observa una contribución asignada al estiramiento O-H del tipo $\text{OH}\cdots\text{HO}$ (dímero). La banda menos intensa y ancha que aparece a menor número de ondas, a los 3240 cm^{-1} , ha sido asignada a la formación de agregados $\text{OH}(\text{OH}\cdots\text{O}-\text{H}\cdots\text{OH})$ (Kristiansson O., 1999).

Si bien la aplicación de la segunda derivada en este caso no permite concluir exactamente el número de componentes presentes, debido a la multiplicidad de señales esperables por la formación de puentes de hidrógeno de diferentes tipos y por la presencia de restos de agua, la misma permite verificar la existencia de varias contribuciones.

Por otro lado, en la región del $\text{C}=\text{O}$ (Figura III.1.2.1.2.b) se observa una banda ancha centrada en 1716 cm^{-1} con un máximo y dos hombros. A partir del cálculo de la derivada segunda se observa que esta banda es la superposición de dos bandas principales a 1742 cm^{-1} y a 1695 cm^{-1} (h). La banda que aparece a mayor número de onda se asigna a la contribución del $\text{C}=\text{O}$ libre, mientras que el hombro a 1695 cm^{-1} se asigna a la contribución del $\text{C}=\text{O}$ enlazado por puentes de hidrógeno, del tipo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}$ (Morita S. y col., 2009). Otros polímeros de la familia de los hidroxiacrilatos, en cuyo grupo pendiente se encuentra el grupo funcional $-\text{OH}$, presentan el mismo hombro ubicado a menor número de ondas con respecto a la banda de estiramiento $\text{C}=\text{O}$; mientras que otros polímeros acrílicos que no poseen el grupo hidroxilo en su estructura, como ser el poli(metilmacrilato), poli(N-butilmacrilato) y poli(2-metoxietilacrilato) no presentan evidencia de la banda asignada al tipo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}$ enlazado (Morita S. y col., 2009).

En relación al hombro que aparece a 1640 cm^{-1} se ha encontrado en otras publicaciones que se asigna a la flexión del enlace O-H del agua (Bertie J.E. y Lan Z.D., 1996). Un hombro similar, y a igual número de ondas, aparece en el espectro de otros polímeros hidrofílicos (Morita S. y col., 2009). Podemos suponer entonces que la muestra presenta un mínimo contenido de humedad o agua residual. Como se verá en la sección III.3.2.3, esta suposición fue confirmada mediante la técnica de análisis termogravimétrico (TGA).

Espectros IR del pHEMA con diferentes porcentajes de entrecruzador

En la Figura III.1.2.1.3 se comparan las zonas del espectro de 3700 a 3000 cm^{-1} y de 1850 a 1550 cm^{-1} para las muestras de pHEMA con 0, 1 y 3 % p/p de

entrecruzador. Se puede observar que al incorporar el entrecruzador se producen cambios en ambas regiones del espectro.

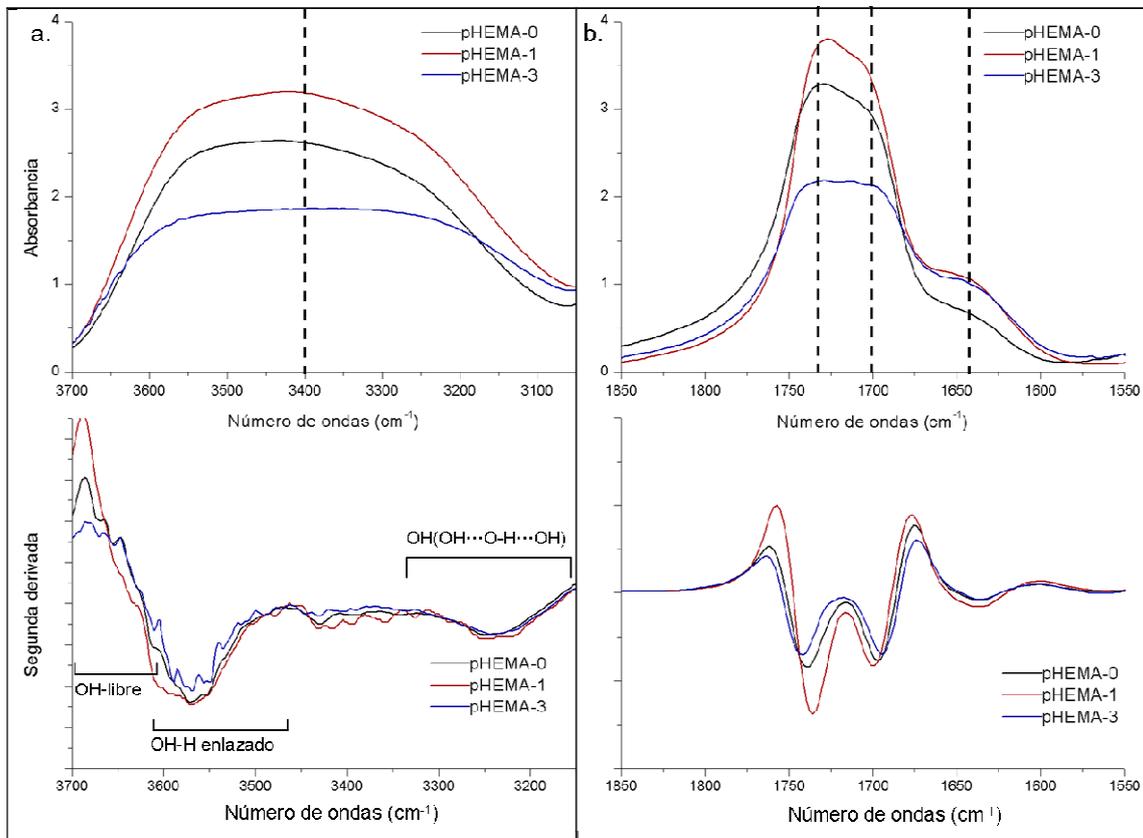


Figura III.1.2.1.3. Comparación entre los espectros infrarrojo y entre sus segundas derivadas para las muestras: pHEMA-0, pHEMA-1 y pHEMA-3 en el rango de 3700 a 3000 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo O-H (a) y de 1800 a 1500 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo C=O (b).

Con el agregado de un 1 % p/p de entrecruzador la banda del grupo carbonilo se torna más angosta e intensa debido al aumento de una mayor proporción del C=O libre (banda a 1738 cm^{-1}) en relación al C=O...H-enlazado (1699 cm^{-1}). Al incorporar un 3 % p/p de entrecruzador se observa un mayor aumento en la cantidad de grupos C=O...H-enlazados (1693 cm^{-1}) en relación al aumento de grupos C=O libre (banda a 1742 cm^{-1}), lo que se traduce en una banda más ancha y simétrica. El mismo fenómeno se observa en el espectro correspondiente a la región del estiramiento del O-H, debido a la disminución del OH libre (bandas a 3672 y a 3655 cm^{-1}) y al aumento del HO...H-enlazado y del tipo C=O...HO. Con 1 % p/p de entrecruzador se observa un aumento en la absorción en la zona comprendida entre 3440 y 3310 cm^{-1} , zona que se asigna a la

formación de enlaces tipo $\text{OH}\cdots\text{OH}$. El incremento en la proximidad de los grupos laterales por aumento del grado de entrecruzamiento de la red tridimensional favorece la formación de puentes de hidrógeno tanto del tipo $\text{OH}\cdots\text{OH}$ como del tipo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{HO}$, aumentando de esta forma la resistencia mecánica del polímero.

Espectro IR del pDPA sin entrecruzador

El espectro FTIR para el homopolímero de DPA junto con su segunda derivada se muestra en la Figura III.1.2.1.4.

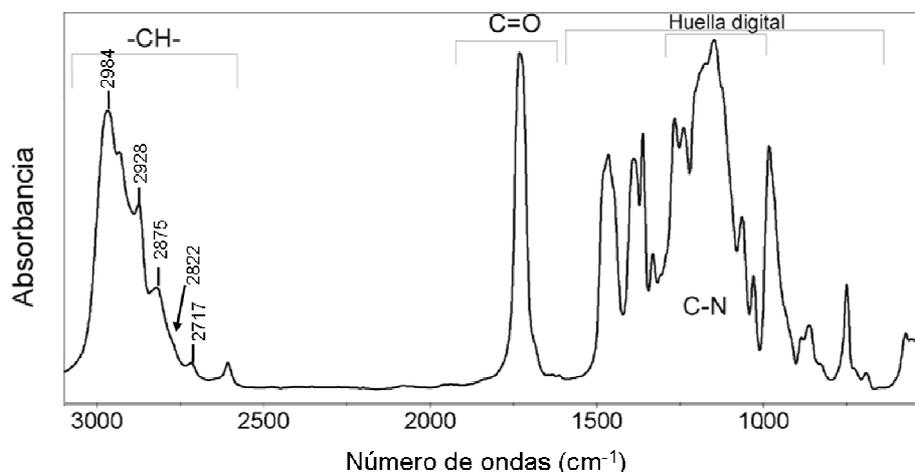


Figura III.1.2.1.4. Espectro FTIR del homopolímero de DPA.

En este espectro se aprecian tres regiones, la región de estiramiento del grupo C-H, la región de estiramiento del grupo C=O y la correspondiente a la región denominada “huella digital”. Se puede observar en la región de estiramiento C-H varias señales. La banda intensa a 2984 cm^{-1} se asigna a la vibración de estiramiento asimétrico de los grupos CH_3 (incluyendo la contribución de los grupos isopropilo), la señal a 2928 cm^{-1} a la vibración de estiramiento asimétrico de los grupos CH_2 , aquella a 2875 cm^{-1} a las vibraciones del estiramiento simétrico de los grupos CH_3 y las bandas a 2822 (h) y 2717 cm^{-1} a la vibraciones de estiramiento antisimétrico y simétrico respectivamente del grupo $-\text{CH}_2-$ cercano al átomo de nitrógeno. La banda C-H terciario del grupo isopropilo es generalmente débil, aparece cerca de 2890 cm^{-1} y generalmente queda enmascarada por las absorciones intensas de los otros grupos CH (Silverstein R.M., 2002).

La vibración de estiramiento del C=O libre aparece como una única banda intensa y simétrica a 1730 cm^{-1} . En la región de $1500\text{ a }600\text{ cm}^{-1}$ aparecen bandas

características de las deformaciones angulares de los grupos CH_3 y CH_2 y del estiramiento CN. Las señales a 1478 (h), 1466 , 1449 (h), 1389 , 1362 y 1332 cm^{-1} corresponden a las deformaciones (antisimétrica y simétrica) de los grupos $-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}_2$ y a los grupos gem-dimetilo del isopropilo ($-\text{HC}(\text{CH}_3)_2$) (Silverstein R.M., 2002). El estiramiento C-N está acoplado con los movimientos del esqueleto y aparece generalmente entre 1380 y 1265 cm^{-1} , por lo que la banda débil a 1311 cm^{-1} es asignada a este grupo (Eliotta J. y col., 2003). Las señales a 1266 , 1239 y 1148 cm^{-1} se asignan a movimientos de *twisting* y *wagging* de los grupos CH_2 . Las bandas a 1064 y 1029 cm^{-1} se asignan a bandas de movimientos complejos (osciladores acoplados) que involucran al grupo C-O del éster. También se observa una banda característica a 983 cm^{-1} (que no se observa en el pHEMA) y aumenta de intensidad en los espectros de los copolímeros. La banda a 862 cm^{-1} puede asignarse a estiramientos C-C y la correspondiente a 749 cm^{-1} al *rocking* de los grupos CH_3 .

Espectros IR de los copolímeros de p(HEMA-co-DPA)

Para el caso de los copolímeros las regiones con los principales cambios en los espectros FTIR de películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de EGDMA se muestran en la Figura III.1.2.1.5.

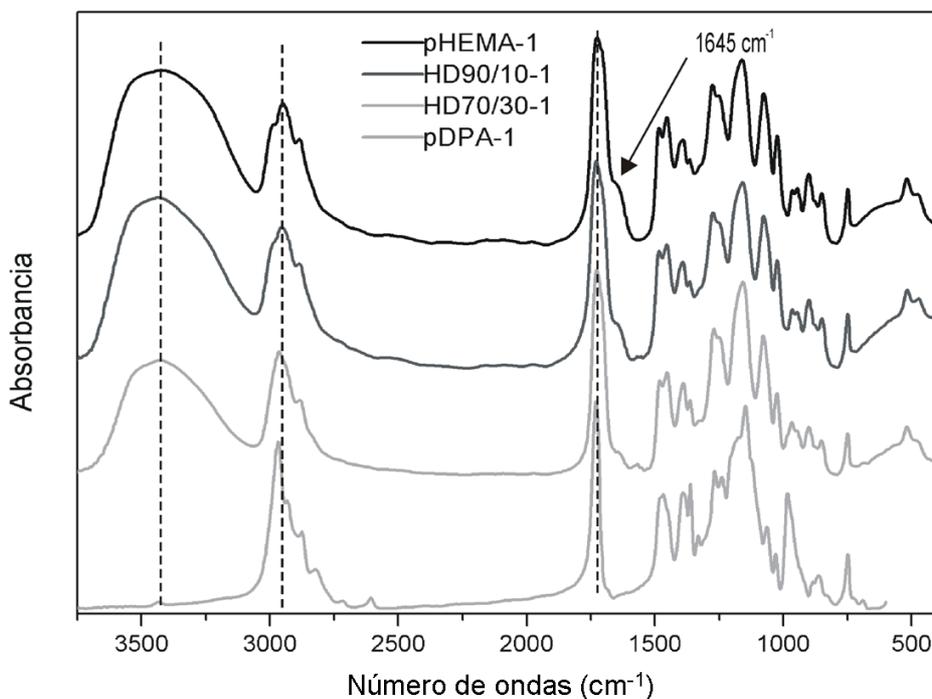


Figura III.1.2.1.5. Espectros FTIR normalizados de p(HEMA-co-DPA) con diferente relación HEMA/DPA y con 1 % p/p de EGDMA.

Los principales cambios se observan en la zona de estiramiento O-H, C-H y en la zona del carbonilo. En la Figura III.1.2.1.6 y III.1.2.1.7 se amplían las zonas mencionadas y se grafica el cálculo de la segunda derivada.

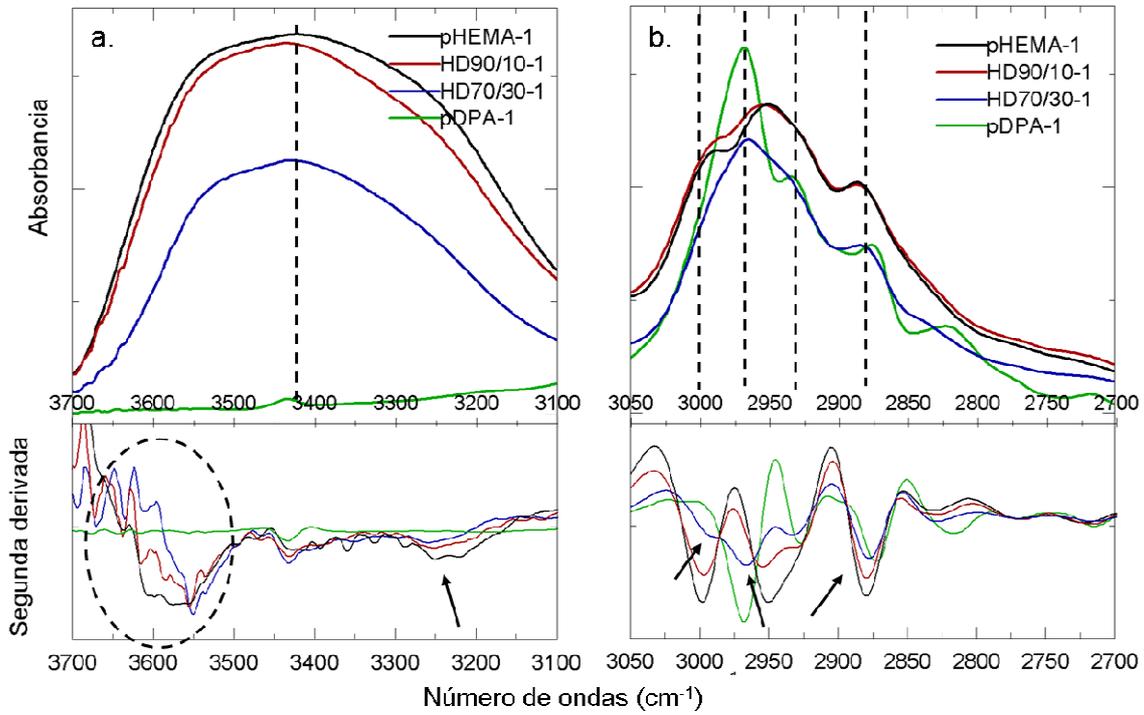


Figura III.1.2.1.6. Espectros FTIR y segundas derivadas para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador ampliada para las regiones: a) 3700 a 3100 y b) 3050 a 2800.

Al pasar del pHEMA (HD100/0-1) al copolímero de p(HEMA-co-DPA) en la región de estiramiento del OH (Figura III.1.2.1.6.a) se observa una disminución en la intensidad de la banda centrada a 3430 cm^{-1} como consecuencia de la reducción de la concentración de grupos OH en el copolímero en relación al pHEMA. Además hay una disminución del hombro ubicado entre 3300 a 3200 cm^{-1} . En el gráfico de la segunda derivada se puede observar que la señal comprendida entre 3300 y 3150 cm^{-1} disminuye y presenta un corrimiento a mayor número de ondas. Esta señal fue asignada a los grupos OH que forman puentes de hidrógeno del tipo $\text{OH}\cdots\text{OH}$ entre varios grupos hidroxilos (agregados). En este caso al incorporar el mero del DPA en la cadena del polímero, de forma aleatoria (ver sección III.2.2.1) la posibilidad de formación de agregados entre grupos OH del mero del HEMA disminuye.

Con la incorporación de DPA se producen modificaciones en el entorno químico de los grupos OH como consecuencia de las modificaciones generadas en los enlaces y

la proximidad de los grupos. Si bien esta zona es compleja, debido a los múltiples acoplamientos y a la gran variedad de entornos químicos del OH, se puede indicar que con el incremento del DPA disminuyen las bandas correspondientes a los OH enlazados y aumentan las bandas correspondientes al OH libre.

En la región de estiramiento de los grupos C-H se observa en los copolímeros que con el aumento del DPA aparece la contribución de las bandas a 2967 cm^{-1} y a 2934 cm^{-1} asignadas a las vibraciones del estiramiento $-\text{CH}_3$ y al estiramiento asimétrico del grupo $-\text{CH}_2-$ respectivamente. También se aprecia una disminución de la intensidad de las bandas asignadas a los estiramientos de los grupos $-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_3$ del pHEMA.

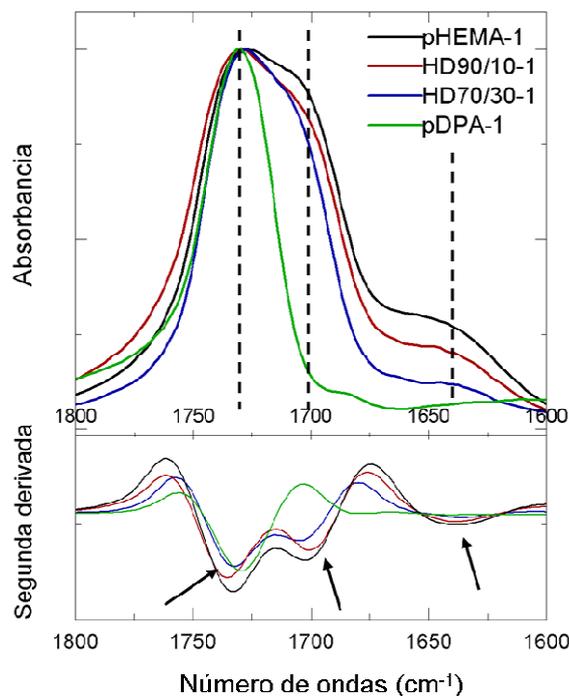


Figura III.1.2.1.7. Espectros FTIR y segundas derivadas para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador, ampliada para las regiones: a) 1800 a 1500 y b) 1500 a 800 cm^{-1} .

En la región del espectro entre 1800 y 1500 cm^{-1} (Figura III.1.2.1.7) se observa tanto en los homopolímeros como en los copolímeros la banda asignada al estiramiento del grupo carbonilo. A medida que se incorpora DPA el máximo se corre ligeramente a menor número de ondas. También se observa que la banda asignada al grupo $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}$ -enlazado disminuye su intensidad en relación a la del $\text{C}=\text{O}$ libre, y su máximo se corre ligeramente con el agregado de 30 % p/p de DPA. Esto ocurre como consecuencia de la disminución del número de grupos OH con capacidad de formar puentes de hidrogeno

con los grupos carbonilos. Se puede apreciar que en el pDPA el hombro adyacente al estiramiento del carbonilo no se encuentra presente, a diferencia de las aminas secundarias o primarias, las aminas terciarias, como es el caso de este grupo, no poseen átomos de H que puedan formar puentes de hidrógeno intermoleculares.

Podemos ver además la presencia de un hombro a 1639 cm^{-1} que aparece tanto en el espectro del pHEMA como en el de los copolímeros, pero que disminuye su intensidad con el agregado de DPA; y que no se observa en el espectro del pDPA. Este hombro puede deberse al estiramiento O-H del agua residual que permanece atrapada en el interior del polímero luego del proceso de secado (Morita S. y col., 2009). Este hombro aumenta su intensidad con el aumento del contenido de entrecruzador. Tanto la presencia de moléculas de agua, como la tendencia observada en estos casos también se aprecia en los resultados obtenidos con el análisis termogravimétrico (TGA) presentado en la sección III.2.2.3.

Para las muestras con 3 % p/p de entrecruzador se observan cambios similares a los discutidos con 1 % p/p de entrecruzador, y los resultados se muestran en la Figura VI.2.1.1 ubicada en el apéndice.

III.1.2.2. Espectroscopia UV

En la Figura III.1.2.2.1 se muestran los espectros de absorbancia para el UV cercano en el rango de 210 a 300 nm para las diferentes películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con diferentes contenidos de entrecruzador. Se puede observar que el espectro de absorbancia varía con la composición del polímero. Estos cambios pueden verse claramente, a pesar de que la misma adquiere valores fuera de la escala recomendable de medida. Sin embargo, se debe aclarar que se realizaron varios intentos de reducir el espesor de las muestras pero no fueron exitosos debido al sistema de polimerización empleado.

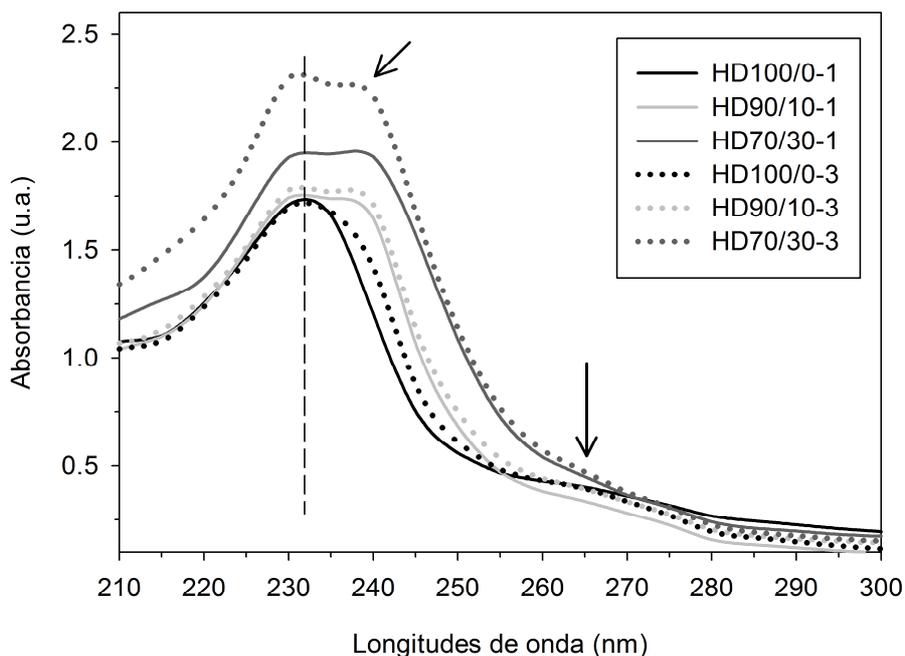


Figura III.1.2.2.1. Espectros de absorción UV de las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Se puede observar en el espectro de pHEMA (HD100/0) una banda definida a 232 nm y un hombro a aproximadamente a 265 nm, que está de acuerdo cualitativamente a lo reportado en la bibliografía (Handbook of Organic Compounds, 2000), aunque las bandas mencionadas se encuentran reportadas a 237 y 284 nm respectivamente.

Si bien se realizó una búsqueda exhaustiva, se han encontrado muy pocos estudios de espectroscopia electrónica en polímeros derivados de acrilatos o metacrilatos. Por ejemplo Ohara (Ohara K., 1971) ha estudiado el espectro UV del polimetilacrilato (PMA) y del poli-(+)-2-metilbutilacrilato (PMBA). En el caso del PMA estudia los polímeros isotáctico y atáctico y encuentra una banda central de absorción a 212 -213 nm con dos hombros a 210 y 215 nm para el isotáctico, y una banda central a 207 nm con dos hombros a 212 y 213 nm para el atáctico. Dichas bandas las asigna a transiciones $n \rightarrow \pi^*$ al comparar los resultados con el monómero análogo isobutirato de metilo. Si bien estas transiciones son de bajos valores de coeficientes de extinción molar, Ohara encuentra que en el polímero los valores son más altos, y lo atribuye a una perturbación de los estados electrónicos, como consecuencia de los efectos estéricos entre los sucesivos grupos carbonilos en la cadena polimérica (Ohara K., 1971).

En el caso del poli-(+)-2-metilbutil acrilato encuentra en el espectro en solución de *n*-heptano una banda a 220 nm, y sin estructura fina. Empleando solventes de diferentes polaridades concluye que la misma se debe a transiciones $n \rightarrow \pi^*$, ya que cuando se reduce la polaridad del medio dicha banda sufre un corrimiento hacia el azul (Ohara K., 1971). Este resultado le permite diferenciar esas transiciones de otras, como por ejemplo las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, que son más intensas y no se afectan por la polaridad del solvente. En base a lo discutido podemos entonces asignar la banda observada en el espectro del pHEMA en la región de los 232 nm a una transición electrónica del tipo $n \rightarrow \pi^*$ de los electrones no enlazantes del oxígeno. Por otra parte, el hombro observado a mayor longitud de onda en el espectro UV del pHEMA, y centrado a 265 nm, hasta nuestro conocimiento, no ha sido discutido y/o asignado.

Al incorporar DPA la banda a 232 nm se ensancha y se aprecia la aparición de una banda a mayor λ por la contribución del grupo carbonilo de este mero, el cual absorbe a mayor longitud de onda debido al menor efecto auxocrómico del grupo amino respecto al grupo OH del HEMA. Esto sucede a causa de que el N del DPA presenta un solo par de electrones y el O del HO del HEMA dos pares (Noller C.R., 1961). La banda observada es entonces la suma de las dos contribuciones. Cuando se incrementa el grado de entrecruzamiento, para una dada composición, la banda a 232 nm se hace más intensa probablemente por pérdida de simetría, lo que hace que la transición $n \rightarrow \pi^*$ de los grupos C=O sea “menos prohibida” por las reglas de selección. Este aumento de intensidad podría deberse también a una pequeña contribución de los grupos C=O del entrecruzador EGDMA, que tiene dos grupos carbonilos en su estructura. El efecto combinado del aumento de DPA y contenido de entrecruzador se hace bien notable en el espectro UV de la muestra HD70/30-3 donde la absorbancia presenta valores muy elevados.

En la Figura III.1.2.2.2 se observan espectros UV seleccionados de películas hidratadas a diferentes valores de pH.

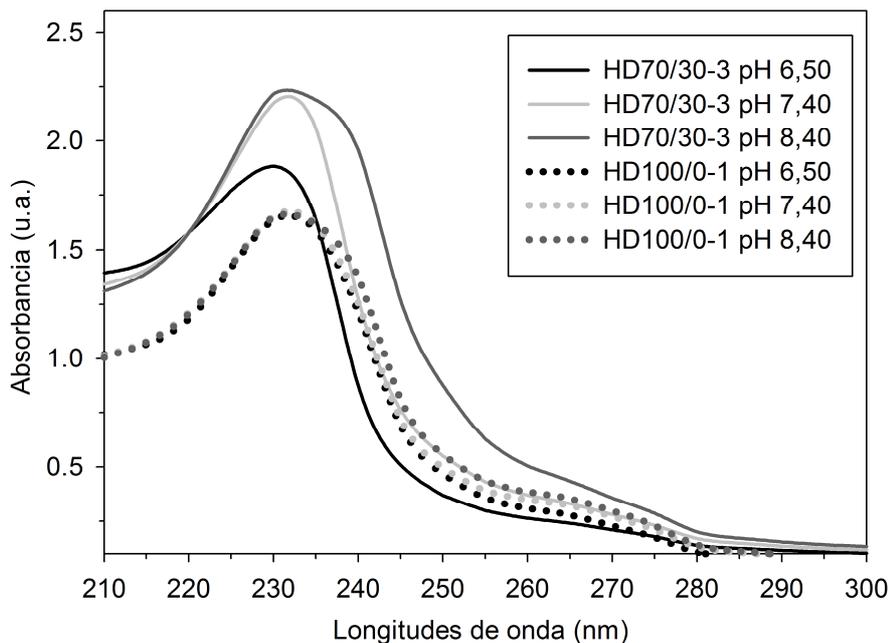


Figura III.1.2.2.2. Espectros de absorción UV de las películas HD70/30-3 y HD100/0-3, hidratadas a pH 6,50, 7,40 y 8,40.

En el caso de pHEMA con 3 % p/p de entrecruzador (HD100/0-3), al reducir el pH de 8,40 a 6,50 prácticamente no se observa corrimiento del máximo de absorción. Por otro lado, en la película con 30 % p/p de DPA y 3 % de entrecruzador se observa que al reducir el pH hay un corrimiento hacia el azul que se debe asociar a la protonación del grupo amino del DPA, sin embargo ese desplazamiento no se puede explicar simplemente teniendo en cuenta una disminución del efecto auxocrómico, ya que en el caso de operar este efecto, debería desplazarse hacia el rojo y por lo tanto aumentar el ancho de la banda. Por tal razón, deben existir otros efectos cooperativos (interacciones entre cadenas) que modifican la estructura electrónica del grupo carbonilo de una manera más compleja.

III.1.3. CONCLUSIONES

En el homopolímero de pHEMA se asignaron bandas correspondientes a los grupos característicos y otras resultantes de las interacciones intermoleculares. A su vez se pudo detectar la modificación de dichas bandas al variar el grado de entrecruzamiento.

La asignación de bandas en el homopolímero, pDPA, demandó un análisis con más detenimiento, debido a que el análisis espectroscópico vibracional del mismo no había sido reportado previamente.

En los copolímeros, la espectroscopia infrarrojo permitió mediante un análisis de corrimientos de bandas, determinar la presencia de interacciones entre los diferentes meros de la cadena.

Por medio de la asignación de bandas se pudo inferir la presencia de agua residual que permanece atrapada en el interior del polímero luego del proceso de secado. El cambio en las intensidades de las bandas con la composición HEMA/DPA y el grado de entrecruzamiento se condice con los resultados obtenidos con el análisis termogravimétrico (TGA).

Los espectros UV del pHEMA coinciden cualitativamente con los obtenidos en la bibliografía, la banda a menor longitud de onda se asigna a la transición $n \rightarrow \pi^*$ del carbonilo de este mero. Con la incorporación del DPA al copolímero se observa la contribución del grupo carbonilo de este mero a menor longitud de onda, y con el aumento del entrecruzador la intensidad de dicha banda aumenta.

Al variar el pH se observan modificaciones en el espectro electrónico, producto de la modificación de la densidad electrónica que se genera al modificarse el estado iónico por la protonación de la amina terciaria del DPA.

III.2. PROPIEDADES TÉRMICAS

El efecto de la temperatura sobre los polímeros es relativamente complejo y de una importancia fundamental en las propiedades físicas de los mismos. En esta sección se estudian las propiedades térmicas de los polímeros, como son la temperatura de transición vítrea, la estabilidad térmica y las temperaturas de degradación a fin de caracterizar los sistemas en estado seco (xerogeles).

Por otra parte, dado que la interacción con el agua es la principal característica que da lugar a las propiedades de los hidrogeles, también se contempla el estudio de la organización y las interacciones entre el agua, presente en su interior, y la matriz.

Para el análisis de la temperatura de transición vítrea de los xerogeles e hidrogeles, y de la organización del agua en el interior se utiliza la técnica de calorimetría diferencial de barrido modulada en temperatura (MDSC), y para el análisis de la temperatura de descomposición se utilizan las técnicas de análisis termogravimetría (TGA) y análisis térmico diferencial (DTA).

III.2.1. PARTE EXPERIMENTAL

III.2.1.1. Calorimetría diferencial de barrido modulada en temperatura (MDSC)

Las técnicas de calorimetría diferencial de barrido permiten estudiar el comportamiento térmico de los materiales, y en particular la técnica modulada permite la separación de los fenómenos reversibles y cinéticos (no reversibles) facilitando la interpretación y la determinación de la T_g en los hidrogeles.

La temperatura de transición vítrea (T_g) de los sistemas estudiados se determinó empleando un equipo TA Instrument Q 200 con módulo MDSC. El compartimento de muestra se purgó con nitrógeno a una velocidad de flujo de 30 ml.min⁻¹, y como referencia se utilizó una cápsula vacía y sellada de aluminio. La velocidad de calentamiento y enfriamiento fue de 2,5 °C.min⁻¹, modulada con una curva sinusoidal, con una amplitud de 1 °C y un período de 60 s. El rango de temperatura barrida fue desde -30 °C hasta 200 °C. Las cápsulas se prepararon con aproximadamente 5,00 mg de muestra previamente secada y triturada. La temperatura de transición vítrea fue determinada empleando la señal reversible de la curva de calentamiento (RHF) y tomando el punto de inflexión medio del cambio en la capacidad calorífica, empleando el software TA Instrument Analyzer.

Por otro lado se analizó el estado el agua en el interior de la matriz. Para esto las cápsulas se prepararon con aproximadamente 6,00 mg de película hidratada (en BF a diferentes valores de pH). Las muestras fueron enfriadas a una velocidad de $20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$, se mantuvieron a esa temperatura durante 3 minutos, y luego se calentaron a una velocidad de $2,5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. La curva se moduló de la misma forma que en la experiencia anterior. El tratamiento de estos datos se explica en la sección III.3.2.2 y los resultados se analizaron empleando el mismo software que en el caso anterior.

III.2.1.2. Análisis termogravimétrico y térmico diferencial (TGA-DTA)

Los equipos modernos de DTG permiten medir en simultáneo el cambio de peso de la muestra (curvas de TGA o análisis termo-gravimétrico) y las diferencias de temperaturas entre la muestra y la referencia (análisis térmico diferencial, DTA).

Los análisis termogravimétrico y térmico diferencial (TGA-DTA) fueron realizados utilizando un equipo DTG-60, Shimadzu Scientific Instruments, USA.

Aproximadamente 5,00 mg de muestra, seca y pulverizada, se colocó y selló dentro de una cápsula de aluminio, la cual fue perforada antes de la medida para permitir la salida de gases y de los productos de descomposición. Las muestras se calentaron a una velocidad de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ desde 35 hasta $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ en condiciones de atmósfera inerte, con una velocidad de flujo de nitrógeno de $50\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Los resultados fueron analizados empleando el software TA60 versión 2.11.

III.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.2.2.1. Determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g)

Las propiedades fisicoquímicas de los polímeros amorfos se caracterizan por tener un comportamiento dependiente de la temperatura. Cuando la temperatura aumenta o disminuye con respecto a un valor crítico, se producen cambios en el sistema polimérico que determinan las propiedades del mismo. Este valor crítico de temperatura (o rango de temperatura) se denomina temperatura de transición vítrea (T_g), y es característica de cada material. La transición que ocurre alrededor de la temperatura de transición vítrea de un polímero, presenta las características de una transición termodinámica de segundo orden (Schneider H.A., 1997). Por debajo de dicha temperatura el polímero se comporta como un sólido rígido, mientras que por arriba de

la T_g lo hace como un sólido elástico o “gomoso”. De esta forma, las propiedades como el coeficiente de expansión, la permeabilidad, el módulo de elasticidad, el índice de refracción y la dureza entre otras, tendrán un valor por debajo y otro por arriba de la temperatura mencionada. Los cambios que acontecen durante este cambio de fase se interpretan en términos de procesos de relajación intermolecular. Es decir que, cuando la temperatura es menor que la T_g , el polímero se encuentra rígido y el movimiento de sus segmentos está prácticamente congelado, por lo que solo posee movimientos moleculares localizados en los que están implicados grupos pequeños de átomos. Cuando la temperatura se incrementa por arriba de la T_g , se produce un aumento en el volumen libre en el interior del polímero, que da a lugar a los movimientos moleculares cooperativos entre segmentos de las cadenas principales del polímero.

Dado que la temperatura de transición vítrea depende de la fracción de volumen libre en el estado amorfo, se verá afectada por: el tamaño, posición, rigidez y simetría de los grupos sustituyentes; la flexibilidad y longitud de las cadenas laterales; la flexibilidad y longitud de la cadena principal; las interacciones intramoleculares entre los grupos funcionales; las ramificaciones de la cadena principal; y el entrecruzamiento de las cadenas del polímero.

Existen diferentes técnicas experimentales para determinar el valor de la T_g , como por ejemplo la dilatometría, el análisis termomecánico (TMA), análisis dieléctrico (DEA), análisis mecánico dinámico (DMA), calorimetría diferencial de barrido (DSC), y mediante cambios en el índice de refracción (Privalko V.P. y Mater J, 1998; Menard K.P., 1999; Bilyeu B. y col., 2001; Lucas E.F. y col., 2001; Mano J.F. y Mater J., 2003). La técnica más ampliamente utilizada por su accesibilidad y sencillez es la DSC, esta técnica permite medir el cambio en la capacidad calorífica del sistema que se produce durante la transición vítrea, al someter al polímero a una rampa de temperatura controlada. Una variante de esta técnica es la calorimetría diferencial de barrido modulada en temperatura (MTDSC o MDSC). Esta técnica consiste en aplicar, sobre un programa de calentamiento lineal típico de un DSC, una perturbación sinusoidal como la que se esquematiza en la Figura III.2.2.1.1. Como se observa, la temperatura oscila alrededor de una temperatura promedio, sin segmentos de enfriamiento, donde la temperatura se incrementa con los cambios en la rampa de velocidad.

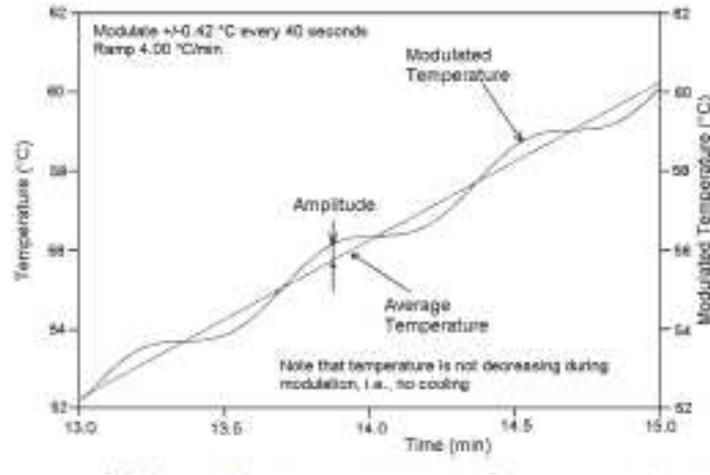


Figura III.2.2.1.1. Modulación de la temperatura alrededor de una velocidad de calentamiento promedio (para la modulación del calor únicamente). Tomado de Menczel J.D., 2009.

En este caso el flujo de calor total es equivalente al obtenido con el DSC. Sin embargo, la ventaja que presenta el MDSC es que la modulación de la temperatura permite separar el flujo de calor total en: el flujo de calor reversible, y el flujo de calor no-reversible. El primer caso, es el flujo de calor correspondiente a los procesos que son reversibles durante el calentamiento modulado. Estos procesos se deben a las transiciones térmicas capaces de responder directamente a los cambios generados durante la rampa de calentamiento, como son la transición vítrea y la fusión de las regiones cristalinas de polímeros semicristalinos (Menczel J.D., 2009). Los procesos que generan un flujo de calor no reversible son: la entalpía de relajación (ó pico de histéresis) que ocurre en la transición vítrea, la evaporación, la descomposición, el curado, la oxidación y otras reacciones químicas. En estos casos la cinética del proceso no responde a los cambios en la rampa de calentamiento. Se debe aclarar que el denominar a un proceso como no-reversible durante el empleo del MDSC, no significa necesariamente que el proceso sea termodinámicamente no-reversible. Por ejemplo, la evaporación es una transición de fase reversible, pero aparece en la señal de flujo de calor de no inversión, ya que la pérdida de masa causa un acontecimiento de no reversibilidad (Menczel J.D., 2009). Otra ventaja, que posee el MDSC es que mejora la calidad de los datos, y por ende aumenta su aplicabilidad (Menczel J.D., 2009).

En este caso el flujo de calor total (THF) es el valor correspondiente al promedio de la señal modulada del flujo de calor; y el flujo de calor reversible (RHF) se calcula

multiplicando la capacidad calorífica reversible ($C_{p,rev}$) por el promedio de la rampa de velocidad (URF) como se muestra en la Ec. III.3.2.1.1.

$$RHF = -C_{p,rev} \times URF \quad (\text{Ec. III.2.2.1.1})$$

Donde la capacidad calorífica reversible esta dada por:

$$C_{p,rev} = K \times \frac{\text{Amplitud} \cdot \text{del} \cdot \text{flujo} \cdot \text{de} \cdot \text{calor}}{\text{Amplitud} \cdot \text{de} \cdot \text{la} \cdot \text{velocidad} \cdot \text{de} \cdot \text{calentamiento}} \quad (\text{Ec. III.2.2.1.2})$$

donde, K ($C_{p,rev}$) es la constante de calibración para la capacidad calorífica reversible. El flujo de calor no reversible (NHF) se obtiene de la diferencia entre el flujo total y el flujo reversible (Ec. III.3.2.1.3):

$$NHF = TFH - RHF \quad (\text{Ec. III.2.2.1.3})$$

En esta sección se discuten los resultados de las temperaturas de transición vítreas obtenidas para los copolímeros y homopolímeros empleando MDSC. En especial se discute en detalle sobre el valor de la temperatura de transición vítrea obtenido para el pDPA debido que no se ha hallado ningún dato bibliográfico; y también se analiza la variación de la T_g con el grado de entrecruzamiento. Adicionalmente se evalúa la compatibilidad del sistema formado por más de un monómero, como es el caso de los copolímeros, y se estudiará la influencia de la composición en el valor de la T_g . Esta última parte se basa en que la existencia de una sola T_g en los copolímeros, es un indicador de compatibilidad termodinámica (Luengo Rico G., 1993) y por ende de una distribución homogénea de las unidades monoméricas. En otras palabras, existe un criterio de miscibilidad que establece que si los monómeros son compatibles entre sí, se observará una única T_g e intermedia entre los valores correspondientes a los homopolímeros. Si, por el contrario, se observan dos T_g coincidentes con los de los componentes puros o bien, dos valores intermedios entre ellos, el sistema se considera inmisible o parcialmente inmisible respectivamente (Luengo Rico G., 1993). De acuerdo al número y valor de transiciones vítreas que se presenten, se obtiene información sobre la miscibilidad de ambos monómeros; mientras que la dependencia de la T_g con la composición, aporta información sobre las interacciones entre las cadenas; dado que ambos factores modifican la T_g del copolímero.

Como se menciona anteriormente, la transición vítrea no es un punto sino una región durante la cual se produce un aumento en la capacidad calorífica del sistema (Brostow W. y col., 2008), como se muestra en la Figura III.2.2.1.2. Generalmente la

temperatura vítrea se informa como el valor correspondiente al punto medio de la curva de inflexión determinado por (Menczel J.D., 2009):

$$T_g = \frac{(T_{onset} + T_{offset})}{2} \quad (\text{Ec. III.2.2.1.4.})$$

Donde T_{onset} y T_{offset} son la temperatura inicial y final del proceso. A su vez la transición vítrea esta caracterizado por dos parámetros, la variación en la capacidad calorífica específica (ΔC_p) y el rango de temperatura ΔW . El valor de ΔC_p esta asociado con los cambios de entropía que se producen en el sistema durante la T_g , por lo que nos permite obtener información sobre las interacciones moleculares. Por ejemplo, cuando los compuestos sean miscibles, el valor de ΔC_p presentará una dependencia lineal con la composición de la mezcla. Por otra parte, ΔW refleja el número de relajaciones responsables de la transición, cuanto mayor sea el número de tipos diferentes de interacciones, mayor será su valor. Esto se explica debido a que dominios con diferentes tipos de interacciones, dan origen a varios procesos de relajación con diferentes velocidades, de esta forma se genera un ensanchamiento de la transición vítrea del sistema (Navarro Cassu S., 1997).

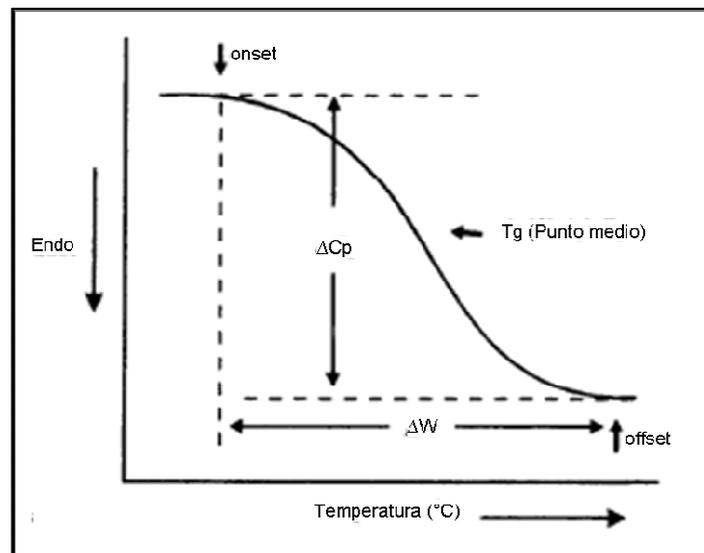


Figura III.2.2.1.2. Determinación del ancho de la transición vítrea (ΔW) y el cambio en la capacidad calorífica (ΔC_p) durante la transición de fase alrededor de la temperatura de transición vítrea. Tomado de Navarro Cassu S., 1997.

Determinación de la temperatura de transición vítrea en los xerogeles

Las curvas de MDSC (flujo de calor reversible, *RHF*) para el homopolímero pDPA sin entrecruzador, y con 1 y 3 % p/p del mismo se muestran en la Figura III.2.2.1.3.

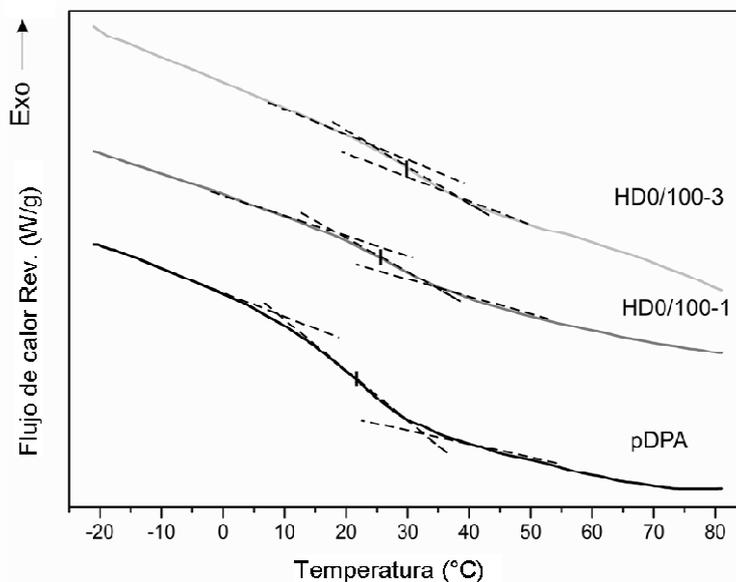


Figura III.2.2.1.3. Curvas *RHF* MDSC para las muestras: pDPA, HD0/100-1 y HD0/100-3 (*RHF* = reversing heat flow).

La curva *RHF* para el homopolímero pDPA sin entrecruzador muestra una T_g de 22,5 °C. Este valor está relacionado con la flexibilidad de la cadena principal (formada por $-\text{CH}_2-$); la presencia de los grupos isopropilo, que aumentan el volumen libre del polímero favoreciendo el movimiento entre los segmentos de la cadena; y por el hecho de que el pDPA no posee la capacidad de formar enlaces intermoleculares del tipo puente de hidrógeno, como ya se vio por FTIR en la sección III.1.2.1.

El valor de T_g es mayor al obtenido para compuestos similares como son el poli((N,N-dietilamino)etil metacrilato) (pDEAEMA) con una T_g de -5,0 °C (Pardini F.M., 2012); y el poli((N,N-dimetilamino)etil metacrilato) (pDMAEMA) con una T_g de 19 °C (Fitzgerald P.A. y col., 2008). Sin embargo, no es posible hacer una correlación teniendo en cuenta la longitud del grupo pendiente, ya que los grupos sustituyentes del grupo amino en el DPA no son lineales. Por esta razón el valor observado para el pDPA no sigue una secuencia con pDMAEMA y PDEAEMA.

Tabla III.2.2.1.1. Valores de temperatura, capacidad calorífica y ancho para la transición vítrea de las muestras de pDPA con diferentes porcentajes de entrecruzador.

Muestra	T_g (°C)	ΔW (°C)	ΔC_p (J/g.°C)
DPA-0	22,5	15,31	0,1409
DPA-1	26,9	13,29	0,0739
DPA-3	30,0	12,89	0,0842

La T_g del pDPA se desplaza a mayores temperaturas con la adición de EGDMA, (Tabla III.2.2.1.1) como consecuencia de una restricción en el movimiento de las cadenas del polímero (Menczel J.D. y col., 2009). Si se analiza el efecto sobre el ΔC_p y el ΔW a lo largo del proceso de transición vítrea (Tabla III.2.2.1.1) se puede ver que a medida que el entrecruzador aumenta, disminuye el valor de los mismos. Esto es esperable dado que el aumento de entrecruzador disminuye los grados de libertad del sistema. El cambio de entropía que se produce durante la T_g , se ve limitado por el aumento en la restricción del movimiento de los segmentos de las cadenas principales, producto de un mayor entrecruzamiento entre los mismos.

A continuación, en la Figura III.2.1.2.4, se muestran las curvas de MDSC para el homopolímero de pHEMA y los copolímeros HEMA/DPA con 1 % p/p de entrecruzador. La T_g para el homopolímero de pHEMA se observa a 122,5 °C, Russell y col., reportaron un valor de T_g menor, 105,5 °C, para el homopolímero de HEMA. La diferencia con respecto al valor obtenido en este trabajo es consecuencia del entrecruzamiento de cadenas (Russell G.A. y col., 1980).

Como se esperaba, de acuerdo a las leyes de aditividad, la T_g para los copolímeros disminuye cuando se incrementa el contenido de DPA, dado que este compuesto posee un valor de T_g menor que el del pHEMA. La T_g disminuye desde 122,5 °C (HD100/0-1) a 116,0 °C para un 10% p/p, y a 106,0 °C para un 30 % p/p de DPA.

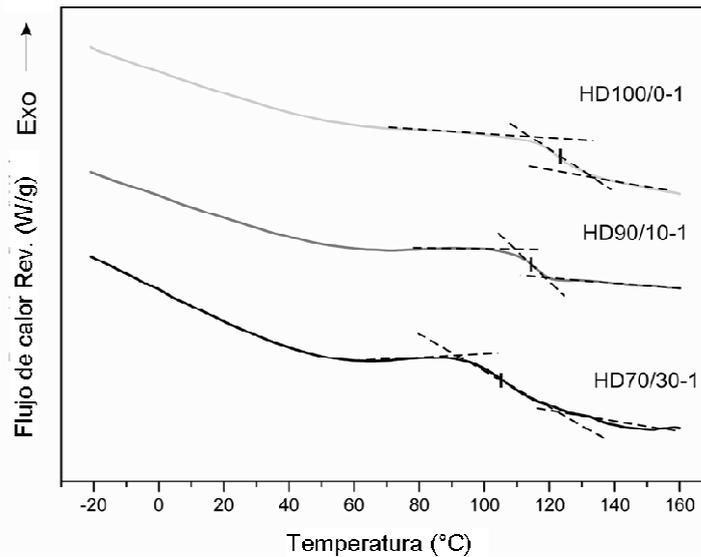


Figura III.2.2.1.4. Curvas *RHF* MDSC: a) HD70/30-1, HD90/10-1 y HD100/0-1 (*RHF* = reversing heat flow).

En la Tabla III.2.2.1.2 se recolectan los valores de T_g y se presentan los valores de ΔC_p y de ΔW para los copolímeros y el homopolímero de pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Si se compara la temperatura de transición vítrea de los copolímeros cuando se incrementa el entrecruzador de 1 a 3 % p/p se observa que en todos los casos aumenta, al igual que para el pDPA.

Tabla III.2.2.1.2. Valores de temperatura, capacidad calorífica y ancho para la transición vítrea de los copolímeros de HEMA/DPA con diferentes porcentajes de entrecruzador.

Muestra	T_g (°C)	ΔC_p (J/g.°C)	ΔW (°C)
HD70/30-1	106,0	23,89	0,2180
HD90/10-1	116,0	19,81	0,1564
HD100/0-1	122,5	13,38	0,1301
HD70/30-3	107,09	23,09	0,6001
HD90/10-3	115,04	20,62	0,2169
HD100/0-3	128,05	15,22	0,1802

Los valores de ΔC_p para los copolímeros son mayores que los correspondientes a los homopolímeros, indicando cambios en los grados de libertad más importantes en la transición vítrea para los copolímeros. Esto puede explicarse por que el grupo pendiente del DPA, presenta un mayor volumen y un empaquetamiento menos denso, lo

cual genera un incremento en los grados de libertad debido a la aditividad de volúmenes, y como resultante el valor de ΔC_p aumenta. El aumento en el volumen libre del polímero en estado rígido también afecta la T_g disminuyendo su valor al aumentar el contenido de DPA en el copolímero. Si se analiza la variación de la T_g y el ΔC_p para los diferentes copolímeros se puede observar que al aumentar la T_g el valor de ΔC_p disminuye. Sin embargo como se discutirá más adelante, la adición de DPA no disminuye significativamente la T_g .

El ΔW también aumenta, a medida que aumenta el contenido de DPA en el copolímero. Esto es consecuencia de la presencia de diferentes interacciones entre los monómeros, lo que genera una heterogeneidad en los entornos químicos en la muestra. Esto es característico de una polimerización al azar que presenta un número infinito de entornos con composiciones y densidades de interacciones diferentes. Esto ha sido denominado como *micro-heterogeneidad* de acuerdo a Navarro (Navarro Cassu S., 1997). De todas maneras esta heterogeneidad es lo suficientemente pequeña, como para generar una transición vítrea adicional, por lo tanto puede ser considerado como un copolímero al azar.

La dependencia de la T_g con la composición se debe a muchos factores, como las interacciones entre ambos monómeros, el arreglo conformacional del copolímero y la compatibilidad o miscibilidad del sistema (Luengo Rico G., 1993). A continuación se analiza cómo varía la T_g con la composición de los copolímeros. Como se apreció en la Figura III.3.2.1.4, en los copolímeros se observa una única transición de fase, y los valores de temperatura vítrea obtenidos, se encuentran dentro del rango de los valores de T_g correspondientes a cada homopolímero. Este hecho indica que ambos compuestos son miscibles entre sí y que poseen una conformación aleatoria (Luengo Rico G., 1993). En este caso se espera que la T_g varíe de acuerdo a la curva esquematizada en la Figura III.2.2.1.5 para sistemas miscibles, donde el único valor de T_g que se aprecia varía con la concentración. Por el contrario, en el caso de sistemas donde los compuestos sean compatibles, pero no totalmente miscibles, se observarán dos valores de T_g que dependerán de las concentraciones de cada compuesto; mientras que en sistemas incompatibles, y por lo tanto inmiscibles, se observarán dos T_g constantes, que no variarán con la composición de la mezcla y que corresponderán a los valores de T_g de cada compuesto (Brostow W. y col., 2008).

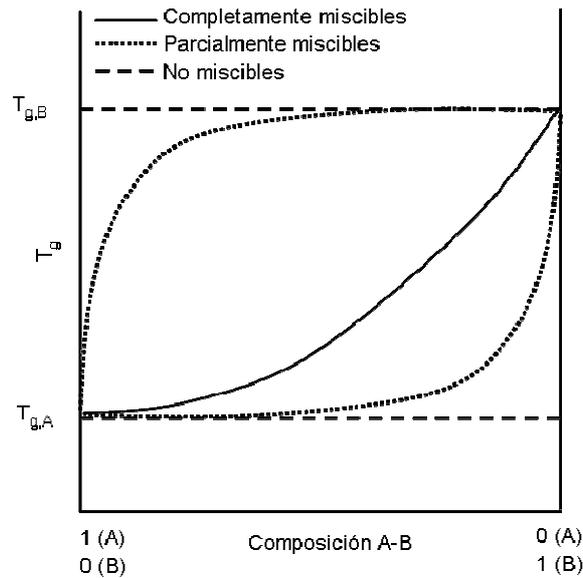


Figura III.2.2.1.5. Representación esquemática de la dependencia de la T_g con la composición en mezclas binarias de polímeros A y B. Tomado de Brostow W.y col., 2008.

Se han propuesto numerosos modelos (Luengo Rico G., 1993) con el objetivo de describir la variación de T_g con la composición de los copolímeros y las mezclas poliméricas. Entre ellos, el más utilizado es el modelo de Fox que deriva de la hipótesis de aditividad de volúmenes libres, y la suposición de continuidad de la entropía de transición. El modelo de Fox establece la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{T_g} = \frac{x_1}{T_{g,1}} + \frac{x_2}{T_{g,2}} \quad (\text{Ec. III.2.2.1.5})$$

Donde el valor de T_g corresponde al valor del copolímero, $T_{g,1}$ y $T_{g,2}$ corresponde a las T_g de los homopolímeros, y x_1 y x_2 , son las fracciones volumétricas de ambos compuestos. Esta ecuación es simétrica con respecto a los dos componentes y permite una predicción basándose en las propiedades solamente de los componentes puros. Su principal aplicación fue en copolímeros, pero luego se extendió al análisis de mezclas poliméricas (Turi E.A, 1997).

Brostow y col. (Brostow W. y col., 2008) sugieren que en el comportamiento ideal de sistemas miscibles, la ecuación de Fox puede resultar suficiente para describir el proceso; pero cuando se incrementa la complejidad del sistema, esta ecuación, basada en las reglas de aditividad, puede no ajustarse adecuadamente a los datos experimentales. Conclusiones similares han sido informadas por otros autores (Schneider H.A, 1997; Rozsa C. y col., 2004). En este caso la complejidad del sistema se da por la presencia del entrecruzador, el cual modifica el volumen libre del polímero con respecto al de los

homopolímeros. En estos casos se requiere el empleo de otras ecuaciones más complejas que permiten una correcta descripción del sistema como es la ecuación de Gordon-Taylor (GT) (Brostow W. y col., 2008):

$$T_g = \frac{x_1 T_{g,1} + k_{GT} x_2 T_{g,2}}{x_1 + k_{GT} x_2} \quad (\text{Ec. III.2.2.1.6})$$

Donde x_1 y x_2 , representan la fracción en masa de los componentes en la fase amorfa, $T_{g,1}$ y $T_{g,2}$ son la temperatura de transición vítrea de la mezcla, del componente 1 y del componente 2 respectivamente. En este caso, el subíndice 2 representa al componente con mayor valor de T_g . El parámetro k_{GT} es un parámetro de interacción, que se determina mediante el ajuste de los datos experimentales, y representa la contribución desigual de los componentes de la mezcla (Brostow W. y col., 2008; Fox T.G., 1956; Gordon M. y Taylor J.S., 1952; Kwei T.K., 1984); y esta dado por la relación entre las densidades (ρ_i) y los coeficientes de expansión ($\Delta\alpha_i = (\alpha_{\text{melt}} - \alpha_{\text{glass}})$) de ambos componentes presentes en la mezcla (Schneider H.A, 1997):

$$k_{GT} = \frac{(\rho_1/\rho_2)}{(\Delta\alpha_2/\Delta\alpha_1)} \quad (\text{Ec. III.2.2.1.7})$$

Esta ecuación fue propuesta para predecir la T_g de copolímeros, con un arreglo al azar, a partir de las T_g de los homopolímeros, suponiendo la aditividad de volúmenes, y considerando que las densidades de los polímeros no son muy diferentes. k_{GT} adopta el valor de uno cuando las diferencias entre los coeficientes de expansión térmica entre el estado gomoso y vítreo son similares para ambos compuestos. En este caso la T_g varía linealmente con la fracción en peso de los componentes.

A continuación se analizan los resultados experimentales utilizando la ecuación de Gordon-Taylor, a fin de evaluar si nos permite predecir la variación de la temperatura de transición vítrea con la composición del copolímero. En la Figura III.2.2.1.6 se muestra la variación de la T_g con la composición y el ajuste obtenido para los casos con diferente porcentaje de entrecruzador.

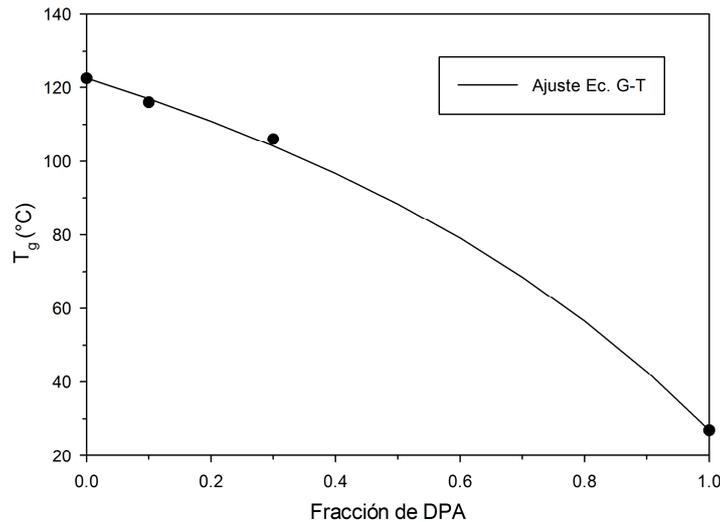


Figura III.2.2.1.6. Variación de la T_g con la composición del copolímero. Ajuste empleando la ecuación de Gordon-Taylor (Ec. III.2.2.1.6).

En la Tabla III.2.2.1.3 se comparan los valores de T_g calculados con esta ecuación con los valores experimentales. Se puede apreciar un acuerdo aceptable entre los valores experimentales y teóricos según Gordon-Taylor. Esto evidencia una buena miscibilidad de los monómeros durante su copolimerización, en el intervalo de composiciones estudiado. El valor de k_{GT} obtenido es de 1,8. Este resultado de $k_{GT} > 1$, indica que hay una fuerte interacción entre los componentes del copolímero (Rozsa C. y col., 2004). Sin embargo esta interacción es menor que para el homopolímero de HEMA, de lo contrario se observaría un valor de T_g mayor, tal como reportó Díez-Peña en su trabajo de tesis para copolímeros de MAA y N-iPAAm. Este autor observó que con pequeñas proporciones de N-iPAAm los copolímeros formaban complejos muy estables debido a interacciones moleculares por puentes de hidrógeno entre los grupos amida y carboxílico, que da lugar a desviaciones de los modelos clásicos en el comportamiento de T_g versus la composición (Díez-Peña E., 2002). Cualquier aspecto que incremente la magnitud de los enlaces intermoleculares, debido a dipolos o enlaces tipo puente de hidrógeno, incrementará la temperatura de transición vítrea T_g , al aumentar las fuerzas de atracción entre las moléculas. Por ejemplo, la mayor polaridad de los grupos laterales actúa en este sentido.

Los valores correspondientes al ajuste de la variación de la T_g con la composición deben ser considerados solo como orientativos debido a que, a pesar de que el acuerdo con los datos experimentales es bueno, el número de puntos empleados para el ajuste es reducido.

Tabla III.2.2.1.3. Temperaturas de transición vítrea experimentales y predichas por la ecuación de Gordon-Taylor (Ec. III.2.2.1.6) en copolímeros HEMA/DPA con 1 % p/p de entrecruzador.

	T_g (experimental)	T_g , Ec. G-T
DPA-1	26,9	26,90
HD70/30-1	106,0	104,12
HD90/10-1	116,0	116,94
HD100/0-1	122,5	122,50

III.2.2.2. Estado de las moléculas de agua en el interior del hidrogel

Las propiedades de los hidrogeles, como por ejemplo las propiedades difusivas del agua, la permeabilidad a los gases y la incorporación de compuestos, se deben en gran medida a la capacidad que tienen de absorber y retener moléculas de agua en el interior de su estructura. Puesto que el agua puede estar unida a los grupos polares del polímero o atrapado en un pequeño espacio dentro del polímero, esas propiedades dependerán tanto del grado de hidratación del hidrogel como del estado del agua en su interior (Kanome S., 1982). Por esto es importante entender como se afecta la movilidad, el comportamiento y la organización de las moléculas de agua en el interior del mismo. En esta sección se lleva a cabo el estudio del estado y la movilidad del agua en el interior de los hidrogeles preparados en este trabajo empleando la técnica de calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC).

Generalmente durante el estudio térmico de los hidrogeles es posible apreciar en las curvas de calentamiento la presencia de una o dos endotermas en la región de fusión del agua, alrededor del cero grado. Este fenómeno ha sido observado durante el estudio de otros hidrogeles como copolímeros de HEMA/VP, MAA/VP, MAA/MA. En esos casos los autores observaron que la máxima temperatura de estas endotermas no coincide en todos los casos con la temperatura de fusión del agua pura, sino que varía dependiendo de la cantidad de agua presente en el hidrogel y de su estado de unión con la matriz del polímero.

Este comportamiento del agua en el interior de los materiales poliméricos puede ser atribuido al efecto de la condensación capilar, el confinamiento de “racimos” de agua por las cadenas del polímero (Cuperus F.P. y col., 1992); o por fuertes interacciones de las moléculas de agua con grupos polares del polímero hidrofílico (Filho GR, y Bueno WA., 1992; Scherer J.R. y col., 1985) ya sea directamente o a

través de otras moléculas. Higuchi e Iijima mostraron que el calor (endotérmico) para la fusión de cristales de agua en PVA es un 9 % mayor que para la cristalización del agua, cuando el contenido acuoso en el PVA excede el 60 %. Basado en varias propiedades termodinámicas del agua absorbida por polímeros hidrofílicos, ellos propusieron que el agua está presente en tres estados en la matriz polimérica hidrofílica: agua enlazada no cristalizable, agua enlazada cristalizable y agua libre. El agua enlazada no cristalizable absorbida por el polímero no cristaliza inclusive cuando las muestras hidratadas son enfriadas por debajo de los $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$. El agua enlazada cristalizable cristaliza a temperaturas menores a los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que el agua libre cristaliza a los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Higuchi A. e Iijima T., 1985).

Por otra parte Ping y col., propusieron que el agua absorbida en los polímeros hidrofílicos desarrolla dos tipos de puentes de hidrógeno. Uno corresponde a las moléculas de agua directamente unidas a los sitios activos del polímero, para formar la primera capa de hidratación (presente en el polímero inclusive con bajos contenidos de agua). El otro tipo de puentes de hidrógeno se establece cuando se forman uniones con moléculas en la segunda capa de hidratación. Ellos plantean que esta diferencia en el tipo de unión de las moléculas de agua a los sitios polares del polímero permite la observación de cambios en el comportamiento del agua absorbida durante la cristalización y que los diferentes estados del agua reflejan el poder de las interacciones entre las moléculas absorbidas y los sitios de unión en los polímeros hidrofílicos (Ping Z.H. y col., 2001).

La remoción de las moléculas de agua de los sitios hidrofílicos requerirá de una fuerza impulsora (potencial químico), la cual no puede ser provista por el medio circundante durante el enfriamiento (Ping Z.H. y col., 2001) y por tal razón no aparecerá en la etapa de fusión.

En síntesis, se puede interpretar la interacción polímero – agua como un fenómeno en el cual se manifiestan claramente dos procesos bien definidos. El primero se caracteriza por una interacción intramolecular fuerte entre las moléculas de agua y el polímero, del tipo dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido o electrostático, que da origen al agua enlazada, no cristalizable. Mientras que el segundo proceso corresponde al agua cristalizable, en el cual se pueden diferenciar dos situaciones. La primera corresponde al agua libre o en masa, donde las moléculas de agua, al no interaccionar con el polímero, poseen puentes de hidrógeno característicos del agua pura y su fusión ocurre a los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La segunda situación no se encuentra bien definida puesto que corresponde al agua

levemente enlazada que es capaz de congelarse, pero no funde a la temperatura del agua pura. Las razones por las cuales sucede esto no se encuentran bien dilucidadas y existen varias teorías al respecto. Una de ellas establece que en un sistema polimérico hidratado algunas moléculas de agua pueden estar levemente asociadas con grupos polares a través de puentes de hidrógeno, pero poseen una mayor energía de enlace de puente de hidrógeno que las moléculas de agua pura y por ende su fusión ocurre a menor temperatura (Tranoudis I. y Efron N., 2004).

En la Figura III.2.2.2.1 se presentan las curvas de flujo de calor total (HF) durante el calentamiento, obtenidas por MDSC, para las películas de p(HEMA-co-DPA) hidratadas a pH ocular promedio (7,40) en BF.

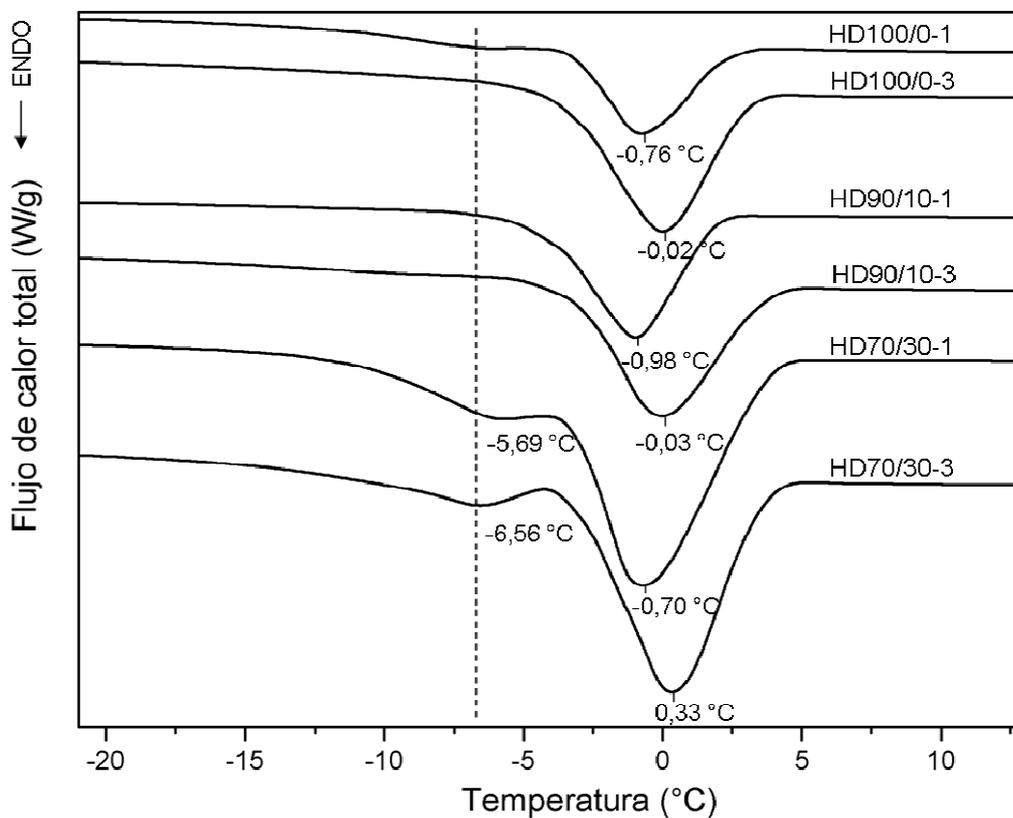


Figura III.2.2.2.1. Curvas de calentamiento obtenidas con MDSC para las muestras de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas a pH 7,40.

Todos los hidrogeles ensayados muestran transiciones de fase en el rango de -10 a 5 °C, y dependiendo de la composición del copolímero se aprecian una o dos endotermas. Estas transiciones de fase corresponden a la fusión del agua cristizable (débilmente unida o libre), con la capacidad de reagruparse durante la fase de

enfriamiento y por ende con la posibilidad de cristalizar. La masa total de agua cristalizable o libre (W_c) en cada muestra fue determinada a partir del siguiente cálculo:

$$W_c = Q / \Delta H(g) \quad (\text{Ec. III.2.2.1})$$

Donde ΔH es la entalpía de fusión del agua ($333,5 \text{ J g}^{-1}$) (Ping Z.H. y col., 2001), y Q el calor absorbido durante el proceso de fusión, cuyo valor se obtuvo a partir del cálculo del área correspondiente al pico endotérmico. Se debe aclarar que el procedimiento para el cálculo del agua cristalizable es aproximado; para un cálculo más preciso se requiere el valor exacto de la entalpía de fusión del agua en las mismas condiciones en que se encuentra en el polímero. Para el cálculo del agua cristalizable se asume que la entalpía de fusión del agua presente en el polímero es la misma que para la fusión del agua pura. Esto no tiene en consideración que en los casos con múltiples endotermas, el calor de fusión empleado para el cálculo, cuando la temperatura de fusión del agua está por debajo del valor del agua pura ($< 0^\circ\text{C}$) es menor. De esta forma se sobrestima el porcentaje relativo de agua enlazada. Para llevar a cabo el cálculo, tampoco se consideran las diferencias en la entalpía de fusión de las diferentes estructuras cristalinas del agua (I, Ic, II y III). Sin embargo, como indica Ping, y col., aún considerando la mayor diferencia entre las energías de fusión (312 J/g para hielo III y 314 J/g para hielo I) el error máximo que se comete en el cálculo de la cantidad de agua cristalizable es solo del 6,6 % (Ping Z.H. y col., 2001).

Para calcular el porcentaje de moléculas de agua que están muy fuertemente unidas a sitios polares específicos por puentes de hidrógeno se debe remarcar que las mismas no podrán segregarse y cristalizar; y de esta forma no contribuirán a la etapa de fusión. Por lo tanto la proporción relativa de este tipo de agua no cristalizable o fuertemente enlazada (W_{nc}) se determinó a partir de la diferencia entre el porcentaje total de agua (W_t) y el porcentaje de agua cristalizable presente en el hidrogel (Ping Z.H. y col., 2001; Tranoudis I. y Efron N., 2004):

$$W_{nc} = W_t - W_c \quad (\text{Ec. III.2.2.2})$$

En la Tabla III.2.2.2.1 se muestran los valores correspondientes a los porcentajes de agua no cristalizable o agua fuertemente enlazada, y de agua cristalizable o libre para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Tabla III.2.2.2.1. Valores de los porcentajes de agua fuertemente enlazada (W_{nc}), agua libre (W_c), y contenido acuoso (CA) para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador a pH 7,40.

HEMA/DPA	CA %	Agua libre (%)	Agua fuertemente enlazado (%)
HD70/30-1	48,23	11,64	88,36
HD90/10-1	36,42	6,00	94,00
HD100/0-1	31,93	5,86	94,14
HD70/30-3	34,72	8,65	91,35
HD90/10-3	32,70	4,47	95,53
HD100/0-3	28,19	2,14	97,86

*El contenido acuoso fue calculado de acuerdo a la ecuación III.3.1.1.

Es conocido que la proporción de agua enlazada está relacionada con la capacidad de los grupos funcionales presentes en el polímero para interaccionar con las moléculas de agua. Tranoudis I. y Efron N., sugirieron que no siempre la presencia de grupos funcionales con mayor capacidad de unión de moléculas de agua, se traduce en una mayor cantidad de agua enlazada en el sistema polímero-agua. Por ejemplo un polímero con un grupo funcional con una capacidad promedio de unión con el agua, como es el HEMA, tienen una mayor proporción de agua enlazada, comparada con aquellos polímeros que contienen grupos funcionales con mayor capacidad de unión con el agua, como es la pirrolidona (Tranoudis I. y Efron N., 2004). Sin embargo, hay poca información en la bibliografía que describa la capacidad de unión entre las moléculas de agua y el polímero, de acuerdo a la naturaleza química del polímero y su microestructura interna.

En este caso se observa que al incorporar DPA en el copolímero la cantidad de agua enlazada, no cristizable, disminuye en relación al hidrogel de pHEMA. Los grupos funcionales con diferente polaridad, como los grupos hidroxilos del HEMA y el grupo amino del DPA, interaccionan con distinta fuerza con las moléculas de agua, y en consecuencia modifican la relación entre la fracción de agua en su estado libre y en su estado enlazado. En este caso el grupo funcional del HEMA posee mayor polaridad que el del DPA, e interacciona más fuerte con las moléculas de agua, haciendo que la proporción de agua enlazada sea mayor cuanto mayor sea su proporción. Debido a que el DPA que es una molécula con baja polaridad, la proporción de agua enlazada o no cristizable disminuye cuando aumenta su contribución en el copolímero.

Si comparamos como afecta el entrecruzador al estado del agua dentro de la matriz podemos decir que con el incremento del porcentaje de entrecruzador tiende a aumentar la cantidad de agua enlazada. Se aprecia que a pesar de que el contenido de agua total disminuye con el incremento de entrecruzador (como se discutirá con más detalle en la sección III.3.2.1), la proporción de agua enlazada aumenta mientras que la cantidad de agua libre disminuye. Un mayor grado de entrecruzamiento genera una matriz más “rígida” (Tranoudis I. y Efron N., 2004) con sitios con tamaños confinados más pequeños, para la formación de puentes de hidrógeno y la retención del agua, pero con un mayor número de sitios hidrofílicos por molécula de agua. Las características polares del entrecruzador podrían favorecer las observaciones mencionadas anteriormente.

Los valores de agua enlazada obtenidos para las muestras de pHEMA (entre 21 y 38 % p/p) se encuentran dentro de los límites obtenidos por otros autores (Tranoudis I. y Efron N., 2004) para otros hidrogeles a base del mismo monómero. Se debe tener en cuenta también que estos datos corresponden a hidrogeles hidratados en solución salina. Como se ha comprobado la modificación del tipo de sal iónica cambia la distribución de agua libre y unida. Por ejemplo, lentes de contacto a base de HEMA tienen mayores niveles de agua enlazada cuando se las coloca en solución de cloruro de sodio que cuando son inmersas en agua destilada (Quinn F.X. y col., 1990). En este caso la sal iónica favorece la formación de agua enlazada por creación de sitios adicionales de unión de agua.

En muchos casos tanto la temperatura de cristalización como la de fusión del agua, se ven afectadas por el entorno en el interior del polímero (Tranoudis I. y Efron N., 2004). Por lo tanto resulta interesante analizar los valores de temperatura de fusión obtenidos para la fracción cristalizable de cada muestra, y su desplazamiento en relación a la temperatura de fusión del agua pura o en masa. Los valores de temperaturas de fusión se muestran en la tabla III.2.2.2.2.

Tabla III.2.2.2.2. Temperaturas máximas (°C) correspondientes los picos endotérmicos observados en la Figura III.3.2.2.1, para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA hidratados en BF a pH 7,40.

	agua ligeramente enlazada	agua libre
	T _f (°C)	T _f (°C)
HD70/30-1	-5,69	-0,70
HD70/30-3	-6,56	0,33
HD90/10-1	...	-0,98
HD90/10-3	...	-0,03
HD100/0-1	...	-0,76
HD100/0-3	...	-0,02

Como se observó anteriormente en las curvas Figura III.2.2.2.1, la temperatura máxima de fusión del agua cristalizable varía según la composición, y en algunos casos aparece una segunda curva endotérmica por debajo de la temperatura de fusión del agua pura. Este último caso se observa en las curvas correspondientes a los copolímeros con 30 % p/p de DPA, donde se aprecian dos endotermas, una alrededor de 0 °C y otra que aparece alrededor de -6,00 °C. De acuerdo a (Tasaka M. y col., 1988) la primera endoterma corresponde a la fusión del agua, mientras que la segunda corresponde a la fusión del agua con un movimiento parcialmente restringido debido a la presencia de uniones débiles. Esta fracción de agua cristalizable es denominada por varios autores como agua intermedia, “*free-bond water*”, o agua enlazada cristalizable (Diéz-Peña, 2002).

La incorporación en cantidades importantes de DPA genera un efecto que se hace evidente con una proporción de 30 % p/p. La adición de este monómero al copolímero modifica la estructura interna generando sitios de unión con capacidad de formar enlaces débiles con las moléculas de agua. Durante la etapa de enfriamiento el agua débilmente unida se congela y da origen al agua enlazada cristalizable, que como posee mayor energía de enlace que los formados entre moléculas de agua pura, funde a temperaturas menores a los 0 °C (Tranoudis I. y Efron N., 2004). Además como ya se discutió anteriormente la proporción de agua enlazada disminuye en las muestras con DPA, esto confirma la formación de enlaces débiles dada la baja polaridad de los meros provenientes del DPA.

Por otra parte si evaluamos como modifica la presencia del entrecruzador a la organización del agua cristalizable, podemos decir que el aumento del porcentaje de entrecruzador, en la composición del polímero, desplaza el valor de la temperatura de fusión hacia valores más positivos. Esto implica que la disminución del volumen interno del hidrogel, o sea la cercanía entre las cadenas poliméricas y los grupos pendientes, favorece el reagrupamiento de las moléculas de agua organizadas en diferentes capas y la formación de cristales con una energía de enlace más cercana a la del agua pura.

En las muestras HD90/10 y pHEMA, donde el porcentaje de DPA es menor o cero, este segundo pico de fusión no aparece. Esto podría significar que no hay agua intermedia o que el efecto del DPA se visualiza con concentraciones cercanas al 30 % p/p. Un comportamiento similar fue observado por Díez-Peña E. en copolímeros de p(MAA-co-N-iPAAm) en los cuales el segundo pico se observaba para proporciones de N-iPAAm mayores al 50 % molar (Díez-Peña E., 2002).

Si se comparan los valores de HD90/10 y pHEMA con diferentes valores de entrecruzador, vemos que el efecto es similar al observado en el copolímero de HD70/30. El incremento en el contenido del entrecruzador aumenta la temperatura de fusión del agua con valores de temperatura máximos cercanos a los del agua pura. Es decir que una red tridimensional más cerrada originada por el aumento en el grado de entrecruzamiento, favorece una organización cristalina de agua con mayor similitud estructural a la del agua pura (Rault J. y col., 1995).

Estado del agua en el interior del hidrogel con la variación del pH

Para investigar la influencia del pH y el contenido acuoso en el estado del agua en el interior del hidrogel, las muestras se hidrataron a pH 6,40, 7,40 y 8,40 y se sometieron a la misma historia térmica que en el estudio anterior. Los resultados obtenidos para los copolímeros HD70/30-1, HD90/10-1 y el homopolímero de pHEMA-1 se muestran en la Figura III.2.2.2.2.

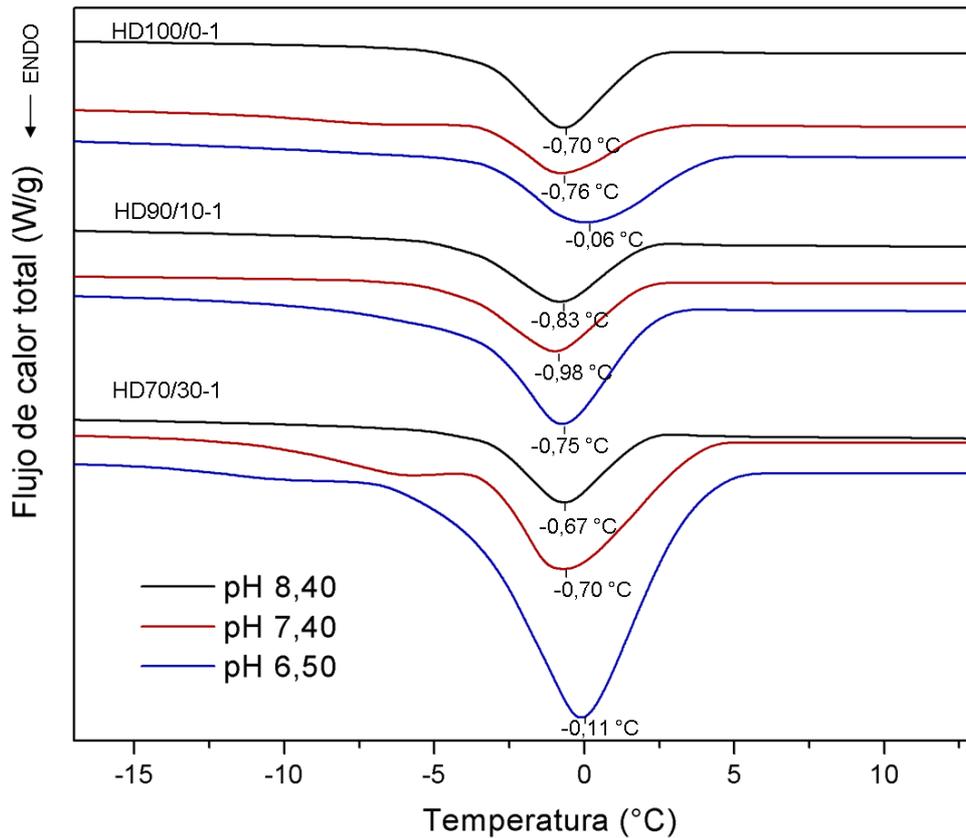


Figura III.2.2.2.2. Curvas de calentamiento obtenidas con el MDSC para las muestras de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 % p/p de entrecruzador, hidratadas a pH 6,40, 7,40 y 8,40.

Dependiendo del pH y la composición del polímero nos encontramos con que se presentan una o dos endotermas cercanas a la temperatura de fusión del agua. Los porcentajes de agua cristalizable y no cristalizable obtenidos en este caso, junto con los valores de contenido acuoso, están recolectados en la Tabla III.2.2.2.3.

Tabla III.2.2.2.3. Valores correspondientes al porcentaje de agua fuertemente enlazada (W_{nc}) y de agua libre (W_c); y porcentaje total de agua o contenido acuoso para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA hidratados en BF a pH 6,50, 7,40 y 8,40.

HME/DPA	pH	CA %	Agua libre (%)	Agua fuertemente enlazada (%)
HD70/30-1	6,50	73,03	11,02	88,98
	7,40	48,23	11,64	88,36
	8,40	18,50	7,43	92,57
HD90/10-1	6,50	48,69	6,38	93,62
	7,40	36,42	6,00	94,00
	8,40	29,62	4,86	95,14
HD100/0-1	6,50	30,96	7,33	92,67
	7,40	31,93	4,47	95,53
	8,40	32,76	19,21	80,79

Diversos autores plantean que para materiales similares, el aumento en el contenido de agua total, no modifica la proporción de agua enlazada, sino que aumenta o disminuye la proporción de agua libre y/o intermedia. Tranoudis I. y Efron N., indican que el agua presente en el hidrogel se distribuye en agua fuertemente unida, débilmente unida y libre, de acuerdo al siguiente esquema (Figura III.2.2.2.5):

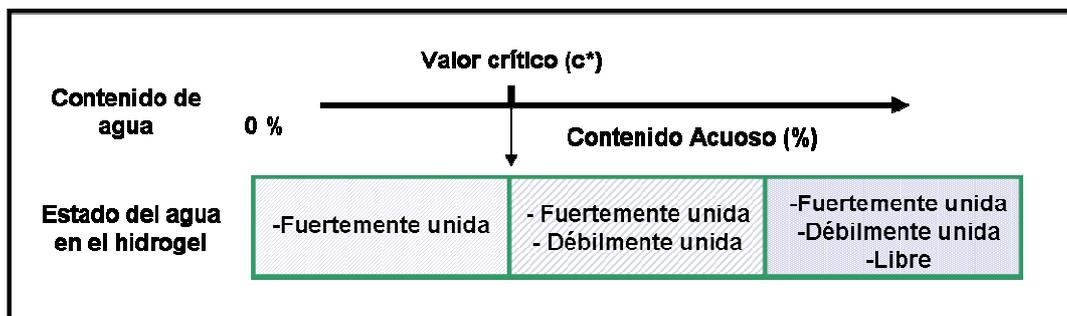


Figura III.2.2.2.3. Esquema de la variación del estado del agua para polímeros con igual composición, y diferente contenido acuoso. Por debajo del valor c^* toda el agua presente en el polímero se encuentra fuertemente unida. Adaptado de Tranoudis I. y Efron N., 2004.

Para hidrogeles derivados del mismo sistema polimérico (composición similar), y con bajo contenido, toda el agua está presente en su forma fuertemente unida, no cristizable, y cuando la concentración de agua sea mayor al valor crítico (c^*), una fracción de agua comenzará a cristalizar debido a su estado levemente unido o libre. En

la medida que el contenido del agua siga aumentando, aumentarán las proporciones de agua débilmente unida y/o libre (Tranoudis I. y Efron N., 2004).

Ping y col. (Ping Z.H. y col., 2001) propusieron que la máxima cantidad de agua no cristalizable, que corresponde al umbral para la formación o presencia de agua libre o intermedia, no varía con el contenido de agua, y es un valor característico del polímero. Por ejemplo, para el PVA este valor es de 25 % p/p de contenido de agua. Este valor refleja la habilidad de los grupos polares para interactuar con las moléculas de agua en la matriz polimérica (Ping Z.H. y col., 2001). Esta habilidad dependerá de la afinidad fisicoquímica de los grupos polares con el agua, las especies libres disponibles en la vecindad de los sitios, así también como la resistencia local elástica de las cadenas al estrés de deformación por el hinchamiento.

Podemos observar en en la Tabla III.2.2.2.3 que el agua libre aumenta cuando el contenido de agua aumenta como proponen Tranoudis I. y Efron N. Sin embargo al comparar los porcentajes de agua libre y fuertemente enlazada para los diferentes copolímeros y pHs, se observa que la porción de agua no cristalizable no permanece estable, sino que varía según la composición y el pH.

Si bien el pKa del HEMA es superior al rango de pH estudiado (6,50 a 8,40) se ve un leve incremento en el contenido acuoso a pH 8,40, reportado también por Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., (Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1991). Este incremento es consecuencia de la ionización del grupo hidroxilo, lo que aumenta la fuerza iónica en el interior del material, y por ende el contenido de agua. En este caso la fracción de agua enlazada no permanece constante como esta planteado en otros trabajos, sino que por el contrario disminuye. Esto se debe a que el cambio en el estado iónico del polímero desfavorece la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo polar hidroxilo y el agua. Para las muestras con DPA, el contenido acuoso aumenta a pH ácido (esto se discutirá en la sección III.3.2.1.). En este caso el porcentaje de agua enlazada tampoco permanece constante, sino que disminuye con el contenido de agua.

Al analizar lo que sucede con el agua cristalizable en las curvas de calentamiento (Figura III.2.2.2.2), se puede observar que para las muestras con mayor porcentaje de DPA, aparece una segunda endoterma al pasar de pH alcalino a ácido a una temperatura inferior a la de la fusión del agua pura. Para pH 6,50 aparece un pico de fusión con un máximo alrededor de los -10,0 °C, y para pH 7,4 este se corre a mayores temperaturas, y presenta un máximo alrededor de los - 6,0 °C. La disminución del punto de fusión del agua cristalizable es debido al incremento en la habilidad de los grupos

pendientes del polímero de unirse con las moléculas de agua, ambos picos corresponden a agua intermedia o débilmente unida. A su vez, el pico de fusión con una temperatura máxima próxima a la del agua pura se vuelve más intenso y angosto a medida que disminuimos el pH. Este efecto también se aprecia en las muestras con 10 % p/p de DPA, probablemente debido a un aumento en la proporción de agua libre y a una mejor organización cristalina permitida por el aumento en el volumen interno que genera la disminución del pH.

Por lo discutido anteriormente se puede decir que en polímeros pH-responsivos no se cumple lo teoría propuesta por algunos autores (Ping Z.H. y col., 2001; Tranoudis I. y Efron N., 2004), la que propone que los hidrogeles con bajo contenido acuoso presentarán la misma cantidad de agua enlazada que el mismo hidrogel con alto contenido acuoso. En este caso, si bien la composición del material es la misma, al hidratar los materiales en medios con distintos valores de pH, el estado iónico de estos materiales se ve modificado (ver sección III.3.2.3) lo que altera la polaridad del medio y por ende la formación de los enlaces entre los grupos funcionales del polímero y las moléculas agua. De esta forma cambian los valores de la concentración crítica de agua para cada polímero y el contenido de agua enlazada aumenta o disminuye según la composición del polímero y el pH del medio.

La correlación entre el estado de agua en el interior del hidrogel y las propiedades de transporte fue estudiado por Pedley y Tighe en copolímeros de estireno y 2-hidroxietil metacrilato. Los autores reportaron que el transporte del oxígeno disuelto a través del copolímero fue despreciable en los hidrogeles que presentaban agua enlazada, en comparación con los que presentaban agua libre o ligeramente enlazada (Pedley D.G., Tighe B.J, 1979). En este sentido los sistemas con 30 % p/p de DPA presentan una ventaja para el transporte de sustancias solubles en agua. Por otra parte, a pHs más ácidos el contenido de agua libre es mayor, por lo que aumenta la proporción de agua que puede participar en los procesos difusionales.

Relación entre la temperatura de transición vítrea y el contenido acuoso del hidrogel

La temperatura de transición vítrea de un polímero en estado hidratado se espera que sea menor a la del polímero en estado seco. Esto se debe a que el agua, en pequeñas cantidades, actúa como plastificante y disminuye la T_g . Como se menciona al comienzo de esta sección, durante la transición vítrea hay un cambio en la capacidad calorífica del

sistema, y en sistemas polímero-agua este cambio se encuentra acompañado de un pico endotérmico como se esquematiza en la Figura III.2.2.2.4:

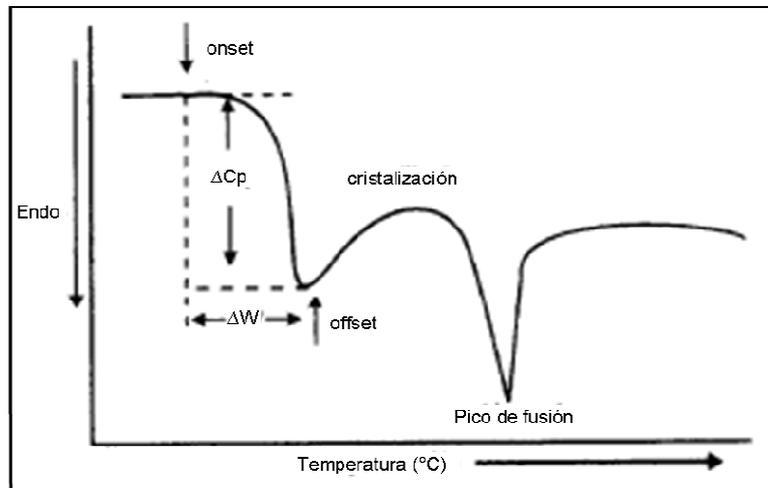


Figura III.2.2.2.4. Determinación del ancho de la transición vítrea (ΔW) y la capacidad calorífica (ΔC_p) en la curva de DSC de una muestra que exhibe cristalización. Adaptado de Navarro Cassu S., 1997.

En algunos casos es difícil delimitar el cambio en ΔC_p puesto que la temperatura de fusión del agua puede estar muy próxima, y hasta inclusive superpuesta con la temperatura de la transición vítrea.

Rault J y col. describen el efecto del agua en la T_g del polímero como un fenómeno que depende del contenido acuoso del polímero de acuerdo a la Figura III.2.2.2.5. Ellos establecen que cuando el contenido acuoso está por debajo de una concentración crítica (c^*), la T_g del sistema polímero-agua disminuye con la concentración de acuerdo a la relación de Fox-Flory, y no se observa cristalización del solvente. Esto se debe a que cuando se enfría el sistema, la transición vítrea se alcanza antes que la temperatura de cristalización, de esta forma el sistema se encuentra congelado antes de que la cristalización pueda ocurrir (Rault y col., 1995). Además, en esta etapa las moléculas de agua se encuentran unidas fuertemente al polímero, lo que a su vez impide su cristalización (Díez-Peña E., 2002). Por otra parte cuando el contenido acuoso está por arriba de c^* , el agua cristaliza y la T_g del sistema polímero-agua del material se vuelve similar a la T_f del hielo, la que se asume varía con c de acuerdo a la ley de Raoult. Durante la cristalización la concentración del solvente en la fase amorfa

disminuye; sin embargo la T_g del sistema se incrementa y sigue la tendencia de la curva de Fox-Flory (Rault y col., 1995).

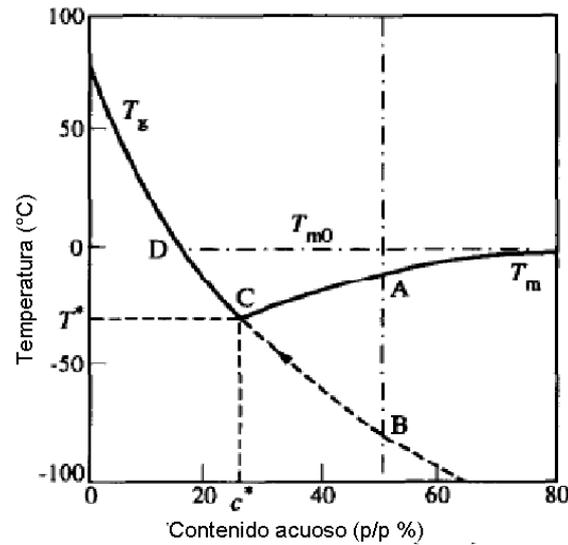


Figura III.2.2.2.5. Fenómeno de regulación de la T_g por cristalización del solvente en sistemas poliméricos. La intersección de la curva de T_g con la curva de T_f define la concentración crítica (c^*) por debajo de la cual el solvente no puede cristalizar. Tomado de Rault y col., 1995.

En los sistemas PVA-agua, Rault y col. 1995, observaron que cuando el porcentaje de agua presente en la matriz era superior a un valor crítico (c^*), la T_g adquiere valores menores a la temperatura de fusión del agua. Podemos ver que en nuestro caso en la Figura III.2.2.2.1 y Figura III.2.2.2.2, que dependiendo de la composición y el pH, se observa un leve cambio en la capacidad calorífica al comparar la línea base antes y después de la fusión del agua. En las muestras de HD90/10-1 y HD100/0-1 (pHEMA con 1 % p/p de entrecruzador) el cambio en la línea base es leve y se aprecia posterior a la fusión del agua. En estos casos no es posible determinar el valor de la T_g del polímero en estado hidratado debido a que se encuentra solapada con el pico endotérmico de la fusión del agua, posiblemente como consecuencia de que en el sistema polímero-agua el contenido acuoso es mucho mayor que la concentración de agua crítica. Comportamientos similares han sido observados por Diéz-Peña (2002) durante el estudio de copolímeros con N-iPAAm.

III.3.2.3. Estabilidad térmica

El análisis termogravimétrico es una técnica experimental donde la masa de una muestra es medida en función de la temperatura o el tiempo, mientras la misma se

somete a un programa de temperatura controlado en una atmósfera controlada. El estudio termogravimétrico aplicado a polímeros permite evaluar la composición, la presencia de compuestos volátiles, la estabilidad térmica y la temperatura de descomposición o de degradación. Por otra parte, la técnica de análisis térmico diferencial (DTA) mide la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia durante el proceso de calentamiento. De esta forma es posible visualizar los cambios térmicos, que estén o no acompañados de una pérdida de masa, por ejemplo el punto de fusión, la cristalización y la temperatura de transición vítrea. Además permite determinar si el o los procesos son exotérmicos o endotérmicos.

La estabilidad térmica es una propiedad que permite definir la temperatura máxima a la cual el material puede ser expuesto, sin que se produzcan modificaciones en la composición del mismo. Particularmente, en este caso nos permite definir si el material es térmicamente estable a las temperaturas usuales de desinfección térmica (entre 70 a 80 °C) o de esterilización en autoclave (120 °C). Por otra parte, desde un punto de vista práctico, permite asegurar que, en las experiencias donde la temperatura se emplee como variable, no se liberen productos de descomposición. En esta sección se discutirán los resultados obtenidos por ambas técnicas, TGA y DTA, para los copolímeros formados por HEMA y DPA, p(HEMA-co-DPA), y los correspondientes homopolímeros, pHEMA y pDPA.

El camino específico seguido durante la degradación térmica de los polímeros esta relacionado con las fuerzas de unión intermoleculares e intramoleculares, y la estructura particular del mismo, aunque en general puede ocurrir de tres formas: por *escisión aleatoria* de las cadenas del polímero, que se caracteriza por tener una alta energía de activación; por “*despolimerización*” o *ruptura en monómeros*; ó mediante la *eliminación de grupos funcionales*, proceso que posee una menor energía de activación (Menczel JD y Prime BR, 2009). Es sabido que el mecanismo de degradación de los polímeros acrílicos, poli(*n*-alquil metacrilato), transcurre mediante la formación de radicales libres, iniciados por la disociación de las uniones a la temperatura de pirólisis, y la despolimerización con formación de monómeros como únicos productos (Bagby G. y col., 1968; Solomon D.H., 1982; Zulfiqar S. y col., 1987; Hatada K. y col., 1993).

En la Figura III.2.2.3.1 se muestran las curvas de TGA obtenidas en nuestro caso para los homopolímeros de pHEMA y pDPA. La temperatura de degradación inicial del

pHEMA está próxima a los 212 °C. Este valor es cercano al publicado por Demirelli K. y col. quienes informan un valor de 195°C (Demirelli K. y col., 2001).

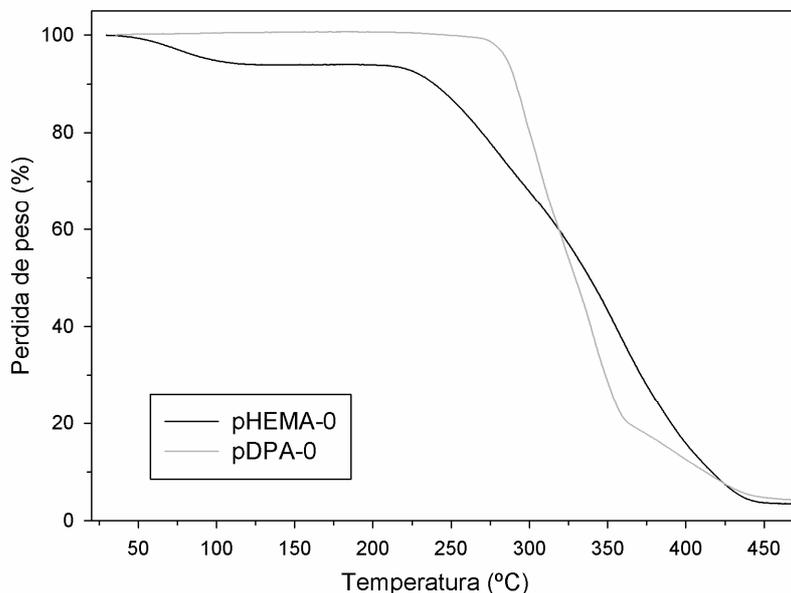


Figura III 2.2.3.1. Curvas de TGA para los homopolímeros pHEMA-0 y pDPA-0.

El mecanismo de degradación térmica del pHEMA ha sido ampliamente estudiado (Grassie N., 1996), y se ha propuesto como reacción principal la depolimerización con producción de algunos compuestos secundarios. Esta degradación se encuentra descrita en la bibliografía como un proceso de dos etapas principales, aunque existen discrepancias entre los diferentes autores sobre los productos de degradación formados en cada una de ellas. En la Figura III.2.2.3.2. se presenta un esquema de la ruta de degradación simplificada, propuesta por Demirelli K. y col., en el cual se indican los principales productos de degradación. Estos autores proponen que en la primera etapa, el 72 % de los productos de degradación corresponde a la formación de monómero; y la segunda etapa, informada entre los 340 a 400 °C, se produce por descomposición y la formación de un 42 % de (2-isopropenilo)etil metacrilato y un 37 % de monómero. El residuo carbonoso es de 5 y 6 % del peso total de la muestra, el autor, explica que estos valores obtenidos son consecuencia de la formación de entrecruzamiento durante la degradación parcial del grupo hidroxilo (Demirelli K. y col., 2001).

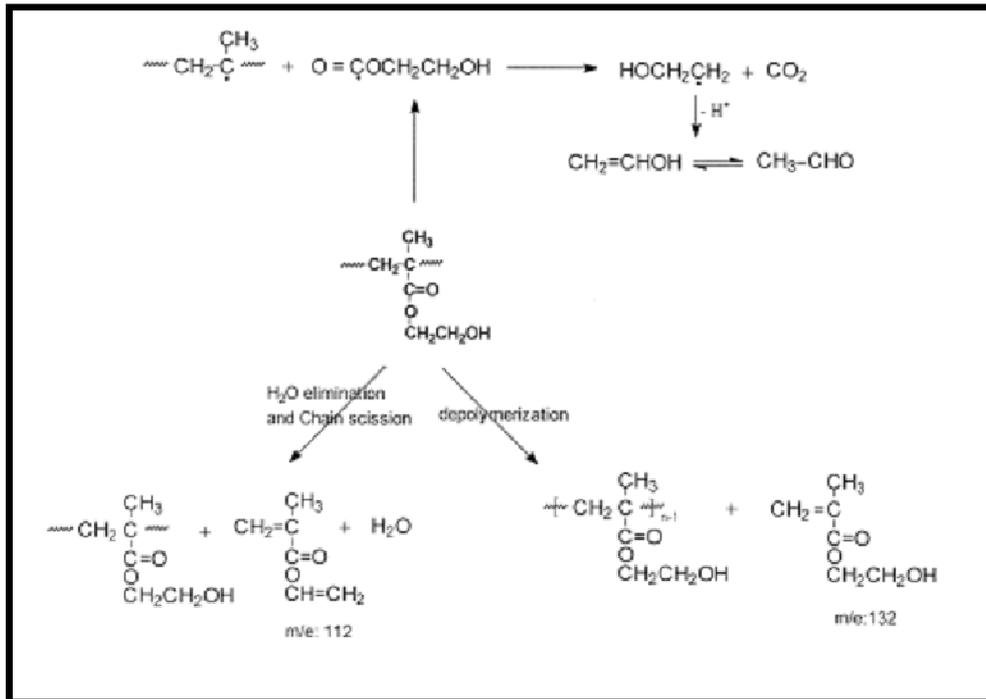


Figura III.2.2.3.2. Esquema de la degradación térmica del pHEMA propuesto por Demirelli K. y col., 2001.

Se puede apreciar en la Figura III.2.2.3.1, que la descomposición del pHEMA ocurre en un solo paso, pero con una pérdida de masa no constante. Al aplicar la derivada a las curvas de TGA se puede observar la presencia de dos etapas principales. Los valores de pérdida de masa y temperaturas de degradación de cada una de las etapas se recolectan en la Tabla III.2.2.3.1.

Tabla III.2.2.3.1. Valores obtenidos a partir de las curvas de DTA y TGA de los homopolímeros pHEMA y pDPA sin entrecruzador.

	Productos volátiles		T _i	Productos volátiles de descomposición						Residuos carbonosos
				Primera etapa		Segundo etapa		Tercera etapa		
	% p/p	°C		P ₁	T ₁	P ₂	T ₂	P ₃	T ₃	% p/p
pHEMA-0	6,12	79	213	32,0	275	48,75	355	9,49	408	3,62
pDPA-0	0,00	282	79,7	298	16,46	436	3,40

T_i: temperatura inicial de descomposición (*onset*);

T₁, T₂, T₃, y P₁, P₂, P₃: temperaturas máximas (°C) y porcentajes de pérdida de masa (% p/p) de las diferentes etapas de degradación.

La primera etapa de degradación ocurre alrededor de los 212 °C con una pérdida de masa de 32,00 % p/p, mientras que la segunda etapa se produce a alrededor de los 314 °C, con una pérdida de masa de 48,75 % p/p. Los residuos carbonosos obtenidos en este trabajo son menores a los valores publicados por Demirelli K. (entre 5 y 6 %). Asimismo se observa una tercera etapa que representa una pérdida de masa de 9 % p/p a temperaturas mayores a los 400 °C.

Una pérdida inicial de masa entre la temperatura ambiente y los 130 °C también ha sido observada en el estudio de otros polímeros hidrofílicos, como el poli(N-carboxietilquitosano), estudiado por Kang H.M. y col., (2006). Este autor atribuye esta pérdida de masa a la evaporación del agua absorbida en la muestra. También han sido reportadas pérdida de masa a bajas temperaturas debido a la deshidratación, por ciclación entre los grupos carbonilos adyacentes, con consecuente pérdida de agua, como se ha encontrado por ejemplo en el caso del PAA o del poli(N-carboxietilquitosano, sin embargo estos procesos ocurren a temperaturas cercanas a los 160 °C (Kang H.M. y col., 2006). Otros autores sugieren que la pérdida de masa a bajas temperaturas, se debe también a la eliminación de compuestos volátiles como pueden ser monómeros sin polimerizar, aditivos o plastificantes (Menczel J.D. y Prime B.R., 2009; Gabbotts P., 2008). Dado que en este trabajo las muestras fueron exhaustivamente lavadas, y se comprobó la eliminación de reactivos sin polimerizar (Sección II.3.4.), la pérdida de masa observada de masa a baja temperatura (<120 °C) se atribuye únicamente a la presencia de agua residual.

Para el homopolímero de pDPA se puede ver claramente, en la Figura III.3.2.3.1, que la degradación ocurre sin pérdida de volátiles y en dos etapas bien definidas, con una primera etapa donde se descompone casi el 80 % p/p del polímero. La estabilidad térmica del pDPA es mayor que la del pHEMA y posee una temperatura inicial de degradación cercana a los 278 °C. Podemos comparar su estabilidad térmica con la de un compuesto similar como es poli(N,N-dimetilamino)etil metacrilato (pDMA). Para el caso del pDMA la temperatura de degradación está cercana a los 300 °C, siendo un poco superior que la del pDPA. Esto puede deberse a que el grupo pendiente en la cadena lateral del pDMA posee un menor volumen que el del pDPA, lo que permite adquirir una organización más compacta, con una mayor energía de cohesión. Por lo tanto, la energía requerida para degradar el pDMA será mayor, y este proceso ocurrirá a temperaturas mayores. A pesar de este fenómeno, el pDPA parece presentar un

mecanismo de degradación similar al obtenido por Kang para el pDMA, el cual ocurre en dos etapas. La primera comienza alrededor de 300 °C, con una pérdida aproximada del 50 % p/p y la segunda alrededor de los 400 °C, y presentan aproximadamente un 5 % p/p de residuos carbonosos (Kang H.M. y col., 2006). Para el pDPA la primera etapa comienza, como ya se indicó cercana a los 275 °C con una pérdida aproximada del 80 % p/p, y la segunda etapa a los 436 °C con una pérdida aproximada del 15 % p/p.

En la Figura III.2.2.3.3 se muestran las curvas de TGA para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y los homopolímeros con: a) 1 % p/p y b) 3 % p/p de entrecruzador. En todos los casos las curvas de TGA muestran una pérdida inicial de masa a temperaturas menores a los 120 °C (salvo en el pDPA); y una segunda pérdida de masa, mucho más significativa que la primera, que comienza alrededor de los 200 °C.

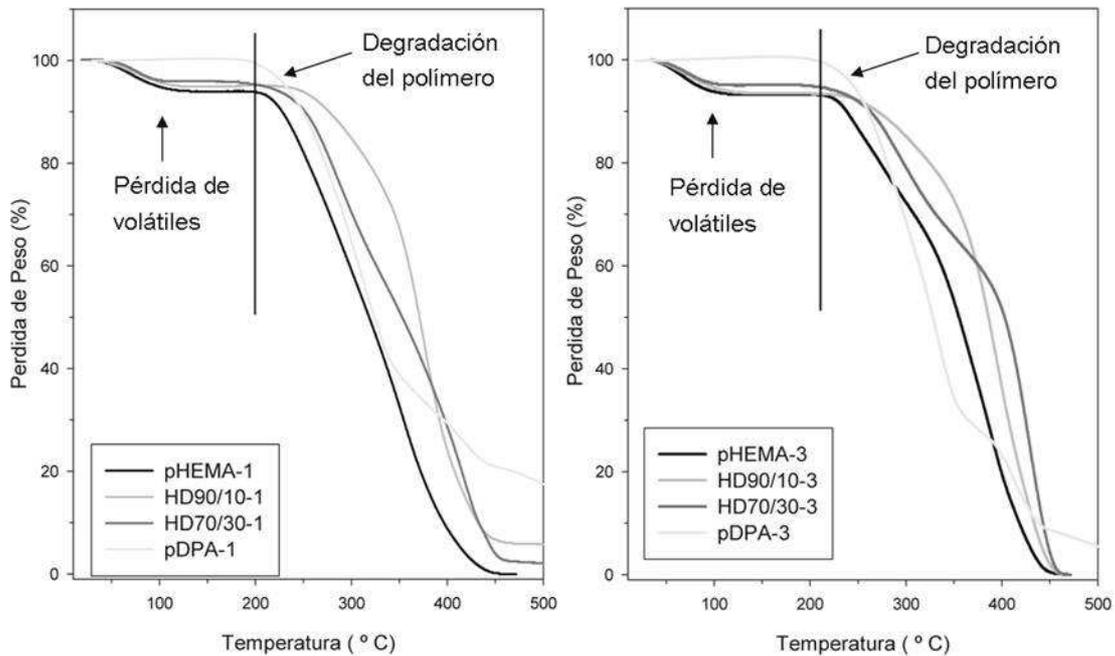


Figura III.2.2.3.3. Curvas de TGA de pHEMA, HD90/10, HD70/30 y pDPA con 1 % p/p (a) y 3 % p/p (b) de entrecruzador.

La primera pérdida de masa que se aprecia en el TGA acontece desde temperatura ambiente hasta 105 - 116 °C para las muestras con 1 % p/p de entrecruzador y hasta 106 - 120 °C para aquellas con 3 % p/p de entrecruzador. Estas pérdidas de masa se deben a la presencia de agua residual que permanece en la matriz luego del proceso de purificación mediante el lavado con agua y posterior secado, como se discutió anteriormente para el caso del pHEMA. Esto es congruente con los resultados obtenidos

a partir de los espectros de absorción infrarrojo, en los cuales se encuentra presente una banda muy débil asignada a la vibración O-H del agua.

Si bien todas las películas muestran un contenido de agua residual, presente en el interior de la matriz, los valores porcentuales de pérdida de masa varían entre el 4 y el 7 % p/p aproximadamente, según la composición y el nivel de entrecruzador como se muestra en la Tabla III.2.2.3.2.

Tabla III.2.2.3.2. Valores de temperatura máxima (T_v) y porcentaje de pérdida de masa (P_v) para los compuestos volátiles obtenidos a partir de las curvas de DTA y TGA.

Entrecruzador (% p/p)	HEMA/DPA	T_v (°C)	P_v (% p/p)
1	100/0	72	6.03
	90/10	78	5.05
	70/30	79	4.21
	0/100	0.00
3	100/0	71	6.58
	90/10	75	6.44
	70/30	76	4.98
	0/100	...	0.00

Al incrementar el contenido de DPA, el agua residual disminuye, debido a que la naturaleza hidrófoba del DPA reduce el número de sitios hidrofílicos disponibles. Resultados similares han sido observados en polímeros compuestos por N-carboxietilquitosano y DMA, en los cuales el incremento en este segundo compuesto disminuye la temperatura de evaporación del agua a valores por debajo de los 100 °C (Kang H.M. y col., 2006).

Como puede apreciarse en las curvas de DTA que se muestran en la Figura III.2.2.3.4, el primer cambio térmico, que corresponde a la pérdida de agua residual, es un proceso endotérmico que ocurre en una sola etapa, con una cinética similar para todas las muestras.

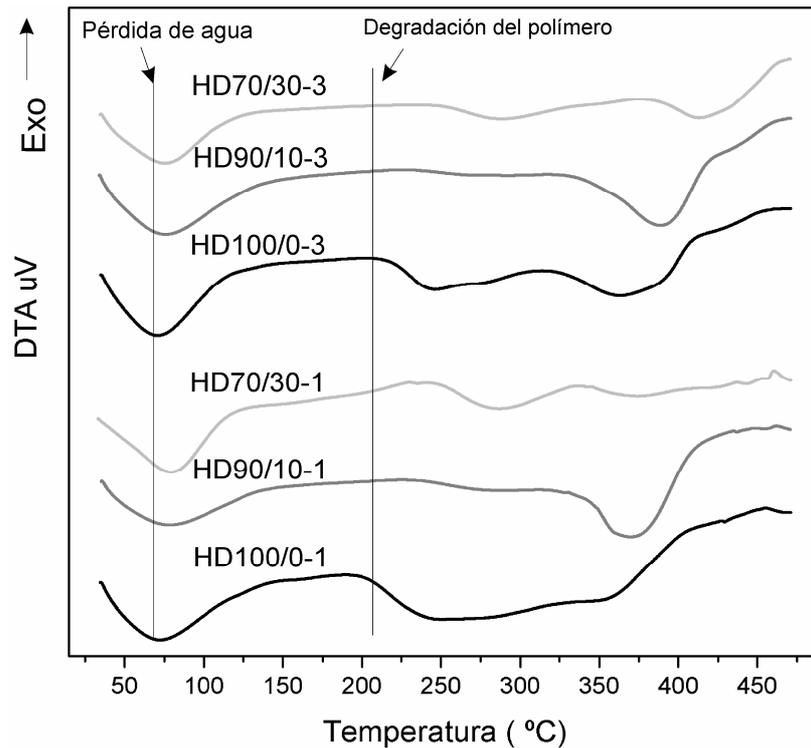


Figura III.2.2.3.4. Curvas de DTA de pHEMA, HD90/10 y HD70/30 con 1 % p/p y 3 % p/p de entrecruzador.

Sin embargo, la temperatura máxima de este proceso se desplaza hacia temperaturas más altas con la incorporación del DPA, como se ve en los valores recolectados en la Tabla III.2.2.3.2. El aumento en la hidrofobicidad de la muestra, por el agregado de DPA, dificulta la difusión del agua del interior hacia el exterior de la película, y de esta forma aumenta la energía necesaria para que este proceso ocurra. Ahora bien, si comparamos la cantidad de agua residual entre las muestras con diferente proporción de entrecruzador, se puede observar que a medida que la concentración de entrecruzador aumenta, el contenido de agua residual tiende a aumentar. Esto se debe probablemente a que la mayor densidad de entrecruzamiento genera una limitación en la movilidad de las cadenas lo cual dificulta la difusión de las moléculas de agua desde el interior hacia el exterior de la matriz durante el proceso de secado. Al respecto, también se ha observado mediante estudios de MDSC (Sección III.2.2.2) que el aumento en el grado de entrecruzamiento aumenta la cantidad de agua enlazada en el interior de la matriz de polímero (Efon N. y col., 1981). Por lo tanto el aumento del agua residual puede deberse, o bien al efecto de la condensación capilar, es decir al confinamiento de *clusters* de agua por las cadenas del polímero (Cuperus F.P. y col., 1992; Arndt K.F. y Zander P., 1990); o a la presencia de interacciones fuertes entre las moléculas de agua y

los grupos polares del polímero (Filho G.R. y Bueno W.A., 1992; Scherer J.R. y col., 1985). Si por otra parte comparamos el efecto de la densidad de entrecruzamiento sobre la máxima temperatura a la que se pierde el agua, se observa que ésta disminuye ligeramente al aumentar el porcentaje de entrecruzador para la misma proporción de HEMA/DPA (Tabla III.2.2.3.2.). Esto sugiere la existencia de interacciones más débiles entre las moléculas de agua y la matriz del polímero con mayor proporción de entrecruzador. A medida que se incrementa la densidad de entrecruzamiento y como se observa en los espectros de FTIR, aumenta la proporción de grupos funcionales enlazados por puentes de hidrógeno intramoleculares. Como consecuencia disminuye la disponibilidad de los grupos funcionales para la formación de puentes de hidrógeno con las moléculas de agua (Efon N. y col., 1981), lo que implica una menor interacción y por ende una menor energía (temperatura) para su eliminación de la matriz. De esta forma se puede suponer que el agua permanece atrapada en el interior del polímero por un efecto principalmente de condensación capilar.

De las curvas de TGA se observa que el proceso de degradación propiamente dicho procede mediante una gran pérdida de masa, aproximadamente el 90 % p/p, que comienza alrededor de los 200 °C. Este proceso de degradación está acompañado de una absorción de calor que se aprecia a partir de las curvas endotérmicas del DTA y que se encuentran graficadas en la Figura III.2.2.3.4. Los valores obtenidos para la temperatura inicial (T_i) de degradación de cada muestra están resumidos en la Tabla III.2.2.3.3 junto con otros datos relevantes del proceso de descomposición.

Tabla III.2.2.3.3. Valores obtenidos a partir de las curvas de DTA y TGA de copolímeros de HEMA y DPA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

HEMA/DPA	T_i (°C)	Productos volátiles de descomposición						Residuos carbonosos
		Primera etapa		Segundo etapa		Tercera etapa		
		P_1	T_1 (°C)	P_2	T_2 (°C)	P_3	T_3 (°C)	
HD100/0-1	204	36,07	250	47,73	349	7,14		3,00
HD90/10-1	240	24,13	289	55,00	370	9,47	406	6,01
HD70/30-1	250	36,41	287	53,70	375	417	5,03
HD0/100-1	282	79,70	298	16,46	436	3,40
HD100/0-3	219	25,27	246	54,28	364	10,00	412	3,77
HD90/10-3	238	18,82	293	56,08	389	11,66	426	6,89
HD70/30-3	253	33,23	288	57,75	413	4,00
HD0/100-3	248	70,45	285	22,22	433	5,91

T_i : temperatura inicial de descomposición (*onset*);

T_1 , T_2 y T_3 : temperaturas máximas para la primera, segunda y tercer etapa de degradación.

P_1 , P_2 y P_3 : porcentajes de pérdida de masa (% p/p) para la primera, segunda y tercera etapa de degradación.

La temperatura inicial de descomposición de los copolímeros se encuentra por arriba de la del homopolímero de pHEMA con igual porcentaje de entrecruzador, de esta forma podríamos establecer que la incorporación de DPA contribuye a aumentar la estabilidad térmica de los copolímeros. Este aumento en la temperatura inicial de degradación se puede deber a la presencia de mayores uniones intermoleculares entre los grupos funcionales carbonilo y amino y por ende una mayor energía de cohesión del copolímero respecto del homopolímero.

Por otra parte si se analiza la forma de la curva de TGA se aprecia que la velocidad de degradación de la muestra no es constante, y esto se debe a la superposición de varias etapas simultáneas de descomposición. Para determinar los límites de cada una de ellas y cuantificar la pérdida de masa asociada a las mismas se aplicó, a las curvas de TGA, la primera derivada con respecto a la temperatura. De este cálculo se obtuvo que la pérdida de masa está asociada a dos o tres procesos,

dependiendo de la composición, y que cada uno se asocia a un pico endotérmico de la curva de DTA. En la Tabla III.2.2.3.3 se recolectan los valores de temperatura y porcentaje de masa obtenidos para todas las muestras estudiadas con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Se resumen gráficamente las temperaturas de los procesos asociados a la descomposición del polímero observados en las curvas de DTA y TGA en la Figura III.2.2.3.5; y la fracción de polímero degradado en cada etapa respecto al total de polímero degradado en la Figura III.2.2.3.6.

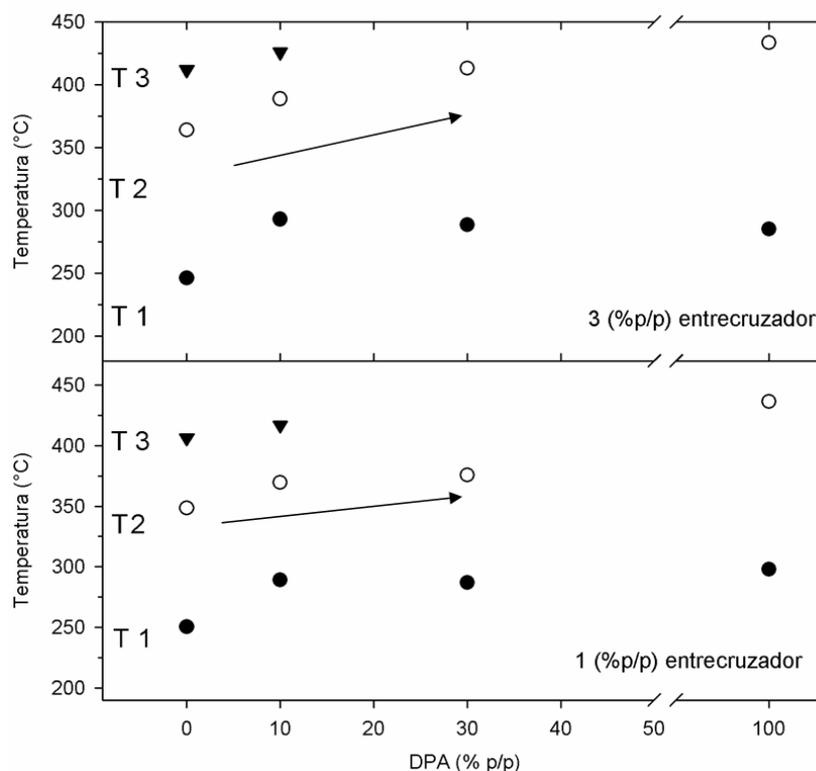


Figura III.2.2.3.5. Valores de temperatura máxima para cada proceso de descomposición obtenido (T_1 , T_2 y T_3) de la curva de DTA en función del porcentaje de DPA para las muestras con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Como se aprecia en la Figura III.2.2.3.5 tanto los homopolímeros como los copolímeros presentan dos o tres etapas en su proceso de degradación térmica, cuyos máximos se han designado como T_1 , T_2 , T_3 . La primera etapa de degradación, T_1 , tiene su máximo entre los 250 y 293 °C. Los copolímeros presentan un valor de temperatura inicial de descomposición intermedio entre los valores de ambos homopolímeros. Este desplazamiento de la temperatura máxima de degradación es más significativo en el caso de copolímeros conteniendo un 10 % p/p de DPA (Figura III.2.2.3.6). Para las

muestras con 30 % p/p de DPA la pérdida de masa en T_1 es mayor que para el p(HEMA). Al aumentar el porcentaje de entrecruzador la pérdida de masa en esta etapa disminuye, debido probablemente a que la degradación del polímero a temperaturas menores a los 300 °C está principalmente asociada a la pérdida de grupos funcionales y a la ruptura de enlaces débiles (Menczel J.D., 2009).

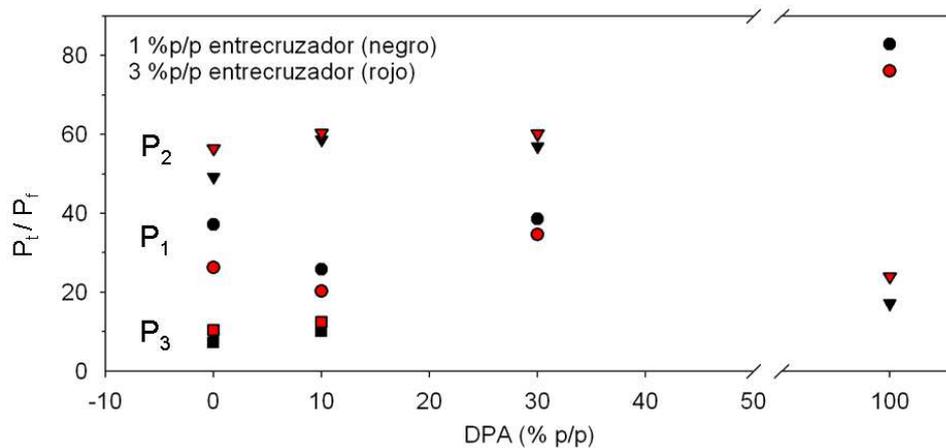


Figura III.2.2.3.6. Relación entre la pérdida de peso en cada etapa de degradación (P_T) y la pérdida de peso total (P_f) en función del porcentaje de DPA para las muestras con 1 (negro) y 3 (rojo) % p/p de entrecruzador.

La temperatura máxima de la segunda etapa de degradación, T_2 , aparece entre los 300 y 400 °C y también presenta una dependencia con la composición de la muestra como se ve en la Figura III.2.2.3.5-a y -b. Al igual que como ocurre con el pHEMA en esta etapa es donde ocurre la mayor pérdida de masa para los copolímeros, entre el 53 al 58 % p/p, debido a la escisión de las cadenas poliméricas y a la ruptura del entrecruzamiento. Es por ello que al aumentar la densidad de entrecruzador se genera un aumento en la energía necesaria para romper los enlaces entre cadenas poliméricas, y por ende el aumento de la temperatura máxima de degradación es más significativo para las muestras que poseen mayor grado de entrecruzamiento como se observa en la Figura III.2.2.3.5-b.

En el caso de las muestras con mayor proporción de HEMA (pHEMA y HD90/10), se observa una tercera etapa a temperaturas cercanas a los 400 °C. Esta etapa corresponde a pequeños valores de masa entre 7 y 12 %, y no ha sido interpretada aún.

III.2.3. CONCLUSIONES

Análisis de la temperatura de transición vítrea

Fue posible caracterizar las propiedades térmicas de los copolímeros y homopolímeros empleando la técnica de MDSC. Para el homopolímero de pDPA se obtuvieron valores de T_g entre 22,5 y 30,0 °C, mientras que para el pHEMA los valores de T_g se encuentran entre 122,5 y 128,5 °C. Con el aumento del grado de entrecruzador se observó un aumento en el valor de la T_g en todas las muestras.

En el caso de los copolímeros, se observa una única transición de fase, con valores de T_g que se encuentran dentro del rango de los valores de correspondientes a cada homopolímero. Este hecho indica que ambos compuestos son miscibles entre si y que poseen una distribución aleatoria.

Los valores de T_g se pudieron ajustar con el modelo de Gordon-Taylor y el valor de k_{GT} obtenido indica la presencia de una fuerte interacción entre los componentes del copolímero. Este resultado concuerda con lo observado por otras técnicas como ser FTIR, UV y TGA.

Estado del agua en el interior del hidrogel

Con el análisis térmico fue posible inferir la presencia de diferentes estados del agua dentro de los hidrogeles. Con la incorporación de DPA la cantidad de agua enlazada, disminuye en relación al hidrogel de pHEMA, y aumenta con la incorporación de entrecruzador. Asimismo la adición de DPA modifica la estructura interna de la matriz generando sitios de unión con capacidad de formar enlaces débiles con las moléculas de agua. A su vez este estudio permitió evidenciar, a partir de la temperatura de fusión del agua libre, que el entrecruzamiento genera una red tridimensional más cerrada; y que los cambios de pH del medio producen una modificación del estado del agua dentro de los copolímeros (de libre a fuertemente enlazada). El cambio de pH modifica también la naturaleza de los enlaces entre los grupos funcionales del polímero y el agua.

Considerando que el agua libre es la que participa de la difusión de moléculas como el oxígeno, y el transporte de principios activos se puede concluir que las películas con DPA presentan una ventaja para su aplicación como sistemas de transporte y liberación de PA, y que a partir de estos resultados se espera que tengan propiedades de permeabilidad al oxígeno adecuadas para esta aplicación.

Estabilidad térmica

La incorporación del DPA aumenta la estabilidad térmica de los copolímeros como consecuencia de una mayor energía de cohesión entre los meros comparada con la del homopolímero de pHEMA. Asimismo se modifica el proceso de descomposición térmico pasando de un mecanismo de tres etapas a uno de dos etapas.

Por otra parte esta técnica permitió confirmar la presencia de agua residual en las muestras con HEMA convalidando los resultados obtenidos mediante espectroscopia infrarroja.

Dado que el propósito de los hidrogeles sintetizados en este trabajo es emplearlos en aplicaciones biomédicas, las cuales requieren de procesos de esterilización (generalmente autoclave con temperaturas cercanas a los 120 °C), se puede concluir que estos hidrogeles no sufrirán cambios estructurales en dichos procesos.

III.3. CONTENIDO ACUOSO Y DINÁMICA DE HINCHAMIENTO

El cambio que se genera en el contenido acuoso y en las cinéticas de hinchamiento con la variación del pH y la temperatura para diferentes composiciones de p(HEMA-co-DPA), pHEMA, y densidad de entrecruzamiento se discute en esta sección.

III.3.1. PARTE EXPERIMENTAL

III.3.1.1. Contenido Acuoso

El contenido acuoso (CA) de los hidrogeles con las diferentes proporciones de HEMA/DPA y entrecruzador se determinó empleando la técnica gravimétrica. Para ello, las películas secas se colocaron en un recipiente con 10 ml de solución buffer fosfato de sodio (BF, 0,1 M) con valores de pHs de 5,00 a 8,40 (ver tabla VI.2.2.1 en apéndice) y en un rango de temperaturas entre los 5,0 y 45,0 °C. La temperatura se controló con un baño termostatzado ($\pm 0,3$ °C), y el pH con una precisión de $\pm 0,03$. Las películas se pesaron antes y después de permanecer sumergidas durante 24, 48 y 72 horas, hasta alcanzar el equilibrio, utilizando una balanza analítica (0,001 mg). En cada caso utilizando una pinza se extrajo la película del recipiente y con un papel tisú se retiró el excedente de agua superficial, y luego determinó el peso hidratado de la película (P_h). El último día se tomaron tres medidas espaciadas cada una hora y el promedio de ella se tomó como valor final del peso hidratado.

El contenido acuoso (CA) para cada pH y temperatura se calculó de la siguiente forma:

$$CA = ((P_h - P_x) / P_h) \times 100 \quad (\text{Ec. III.4.1.1})$$

donde P_x es el peso del xerogel.

III.4.1.2. Cinéticas de hidratación-deshidratación-rehidratación.

Se determinaron las cinéticas de hinchamiento del hidrogel en sucesivos procesos de hidratación, deshidratación y rehidratación a diferentes valores de pH a fin de evaluar la influencia del pH inicial, de la solución de hidratación o lavado, sobre la cinética de hinchamiento y el contenido acuoso final. Para ello se sumergieron las películas secas en solución BF (0,1 M) a pH 6,50 por 24 hs, y luego secaron en caja seca a 25,0 °C durante otras 24 h. Posteriormente estas películas fueron re-hidratadas a

diferentes valores de pH en el rango de 6,50 - 8,40, a dos temperaturas: 25,0 °C y 34,5 °C.

A periodos regulares de tiempo, las muestras fueron removidas de la solución, secadas superficialmente con un papel tisú, pesadas y devueltas a la solución, continuando hasta peso constante. El grado de hinchamiento para un tiempo t (Q_t), se calculó usando la siguiente fórmula:

$$Q_t = ((P_{h,t} - P_{x,i}) / P_{x,i}) \times 100 \quad (\text{Ec. III.4.1.2.1})$$

Donde $P_{h,t}$ es el peso hidratado de la película en el tiempo t y $P_{x,i}$ es el peso inicial de la película seca.

III.3.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.3.2.1. Análisis del contenido acuoso en función del pH a 25,0 ° C.

En la Figura III.3.2.1.1 se muestran los resultados del contenido acuoso en función del pH para las diferentes proporciones de HEMA/DPA con 1 % p/p de entrecruzador. Se puede observar un cambio pronunciado en el contenido acuoso de los copolímeros en el rango de pH de 5,00 a 8,50.

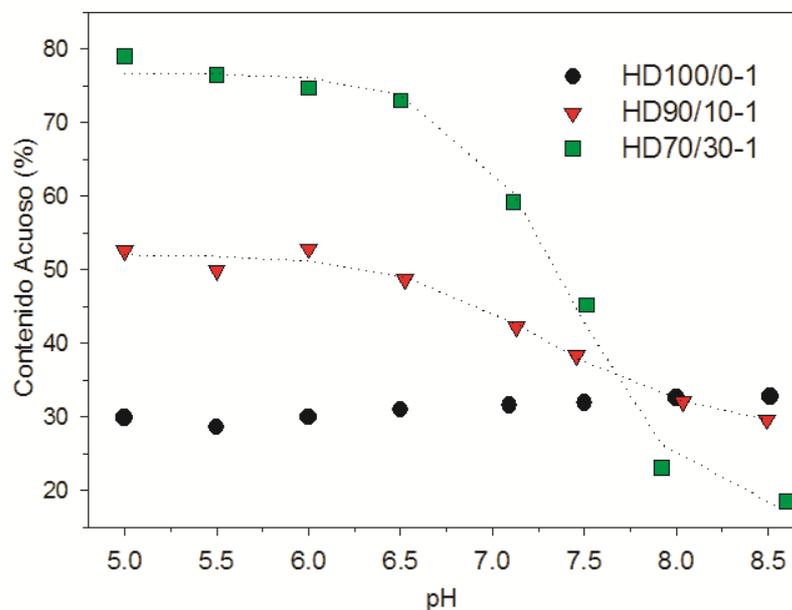


Figura III.3.2.1.1. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA, con 1 % p/p de entrecruzador, hidratadas a varios valores de pH y a 25,0 °C.

A pH básico, alrededor de 8,50, el CA es menor en los copolímero p(HEMA-co-DPA) comparados con el pHEMA, y es inversamente proporcional a la cantidad de

DPA presente en el hidrogel, siendo de 18,49 % p/p para HD70/30-1, 29,71 % p/p para HD90/10-1 y 32,76 % p/p para HD100/0-1. Este resultado se encuentra relacionado con que a ese pH los grupos funcionales de los restos HEMA y DPA se encuentran en condiciones de formar enlaces del tipo puente de hidrógeno (como se discutió en la sección III.2.2.1 de espectroscopia FTIR). La formación de estos enlaces genera una proximidad entre las cadenas del polímero y una disminución del espacio libre del hidrogel que puede ser ocupado por agua. Asimismo, la naturaleza hidrófoba del DPA (a pH 8,50) desfavorece la incorporación de agua en la matriz. Ambos efectos contribuyen en la disminución del CA al aumentar la proporción de DPA en la matriz, a este pH. Este efecto es similar al obtenido por Bajpai, y col. (2008) en hidrogeles sensibles al pH, y en los cuales el CA para matrices con grupos carboxilos disminuye a pH muy ácido debido a interacciones con grupos amino en una matriz preparada con los monómeros acrilamida, metacrilamida y ácido acrílico (Bajpai y col., 2008).

Al acidificar el pH del medio se observan cambios significativos en el CA de los copolímeros. A valores de pH inferiores a 7,40 cuanto mayor es la proporción de DPA presente en la matriz mayor es el contenido acuoso para un dado pH. En estos casos el DPA actúa como grupo hidrofílico generando un aumento en la capacidad de absorción de agua en los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA). Este efecto se explica porque al acidificar el medio, los grupos amino pertenecientes al DPA empiezan a protonarse y generan una repulsión electrostática entre estos grupos ionizados. Esto expande la matriz polimérica, incrementa el volumen interno y de esta forma permite el ingreso de agua al interior de la misma (Lin C.C. y Metters A.T., 2006). A medida que aumenta cada vez más el grado de ionización del hidrogel, se incrementa el CA hasta que finalmente se alcanza un equilibrio.

Por otra parte se debe tener en cuenta que la ionización de los grupos desfavorece la formación de puentes de hidrogeno entre los grupos éster del HEMA y amino del DPA, lo que a su vez favorece el movimiento entre las cadenas del polímero y consecuentemente la expansión de la matriz.

En el caso de las películas HD100/0 el comportamiento es muy diferente, los valores de CA presentan una leve variación, que va desde 30 % p/p para pH 5,00 a 35 % p/p para pH 8,50. A diferencia de las películas con DPA, el CA tiende a aumentar a medida que se aumenta el pH. Sin embargo, la variación entre los extremos de pH estudiados es muy baja, resultado que concuerda con el ligero incremento en el CA a este pH también observado por Brannon-Peppas y Peppas en el rango de pH de 6,00 a

8,00 (Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1991). Estos autores explican la pequeña dependencia del CA con el pH como consecuencia de la deslocalización de la densidad electrónica del enlace simple del oxígeno hacia el grupo carbonilo, atrayente de electrones. Por otra parte Ferreira y col. (2000) reportaron una dependencia del CA del pHEMA con el pH que se evidencia a pH 12,0, muy por arriba de los valores empleados en este trabajo.

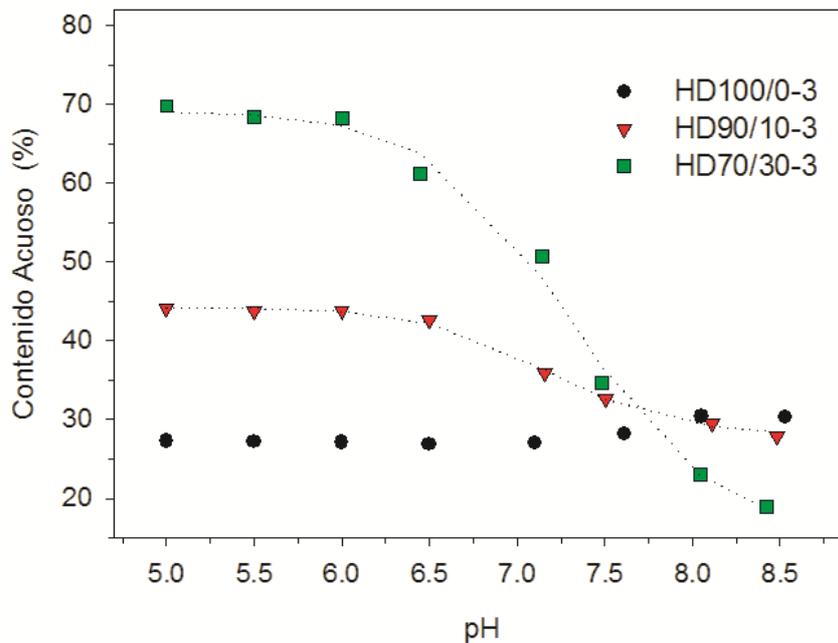


Figura III.3.2.1.2. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA con 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas a varios pHs y a 25,0 °C.

Por otro lado, en la Figura III.3.2.1.2 se muestra el comportamiento del CA en función del pH para 3 % p/p de entrecruzador, que es similar al observado con 1 % p/p. El entrecruzamiento no modifica la respuesta al cambio de pH, pero si influye en los valores finales del CA que se alcanzan. Para todas las proporciones de HEMA/DPA, al aumentar el entrecruzador el CA disminuye a un dado pH, aunque a pHs básicos donde el CA es relativamente bajo la diferencia es menos marcada. Este comportamiento se debe principalmente a dos factores: por un lado una matriz con mayor densidad de entrecruzamiento tiene menos espacio libre disponible para ser ocupado por el agua; y por otro lado el entrecruzamiento genera una estructura tridimensional más rígida que limita la movilidad de las cadenas y aumenta la fuerza elástica que se opone a la expansión del espacio interno del hidrogel (Pinzón N.A. y col., 2002). El segundo efecto mencionado cobra más importancia en los casos en donde el valor del CA está

determinado principalmente por la posibilidad de expandir la matriz. Como pudo apreciarse las diferencias para cada composición entre las diferentes proporciones de entrecruzador se incrementan cuando el pH es más ácido y el CA aumenta debido a la expansión de la matriz. En estos casos se obtuvieron diferencias al pasar de 1 a 3 % p/p de entrecruzador para HD70/30 de -0,42 % a pH 8,50; 0,07 % a pH 8,00 y 8,4 % para pH 7,10.

El efecto de la densidad de entrecruzamiento sobre el CA de los hidrogeles obtenido es similar al reportado por otros autores (Ferreira L. y col., 2000; Urdahl K.G. y Peppas N.A., 1987). Sin embargo, el cambio en el CA de los hidrogeles está más afectado por cambios en la relación de HEMA/DPA, que por el grado de entrecruzamiento (Díez-Peña E., 2003).

III.3.2.2. Análisis del contenido acuoso en función del pH a 34,5 °C

Por otro lado se evaluó la respuesta del hidrogel frente a cambios de pH a 34,5 °C, con el objetivo de determinar su respuesta a la temperatura ocular media. En la Figura III.3.2.2.1 se muestra el resultado del CA en función del pH a esta temperatura para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

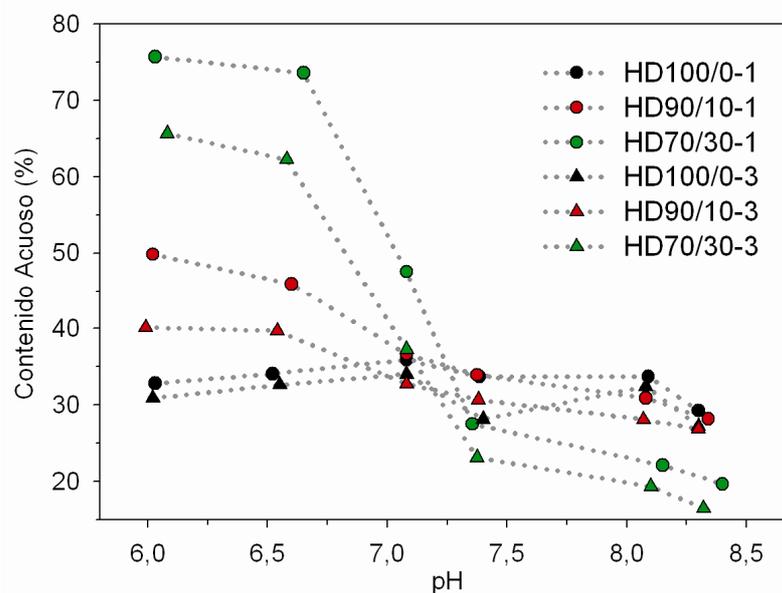


Figura III.3.2.2.1. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas a varios pHs y a 34,5 °C.

A esta temperatura vemos que el comportamiento del hidrogel frente a la variación del pH es similar a obtenido a 25,0 °C. Sin embargo, las diferencias observadas entre el valor del CA y el pH, a 34,5 °C son más significativas para las películas HD70/30. A esta composición el cambio de alto a bajo contenido acuoso es más pronunciado y está acotado en el rango de pH entre pH 6,50 y 7,40 respecto a las experiencias a 25 °C. Por otra parte en las películas de pHEMA el comportamiento es similar, los valores del CA varían de 29,0 a 33,0 % p/p.

III.3.2.3. Determinación del pKa para las películas de p(HEMA-co-DPA) a partir de las curvas de hinchamiento a 25,0 y 34,5 °C

Al incorporar moléculas iónicas a la matriz polimérica, el hinchamiento del hidrogel se vuelve dependiente del pH de la solución del medio (Lin C.C.y Metters A.T., 2006). Dependiendo del monómero iónico empleado en la síntesis del copolímero, la curva de hinchamiento dependiente del pH puede exhibir uno o más puntos de inflexión cerca del pK_a del grupo ionizable como se muestra de forma esquemática en Figura III.3.2.3.1:

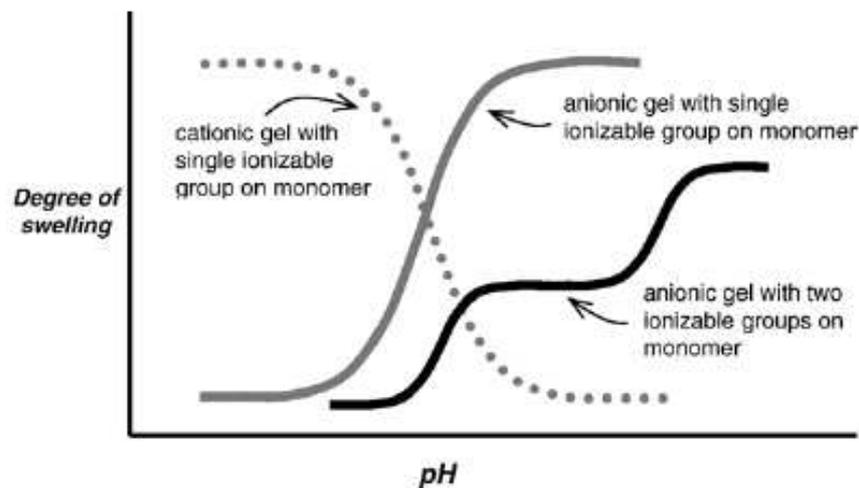


Figura III.3.2.3.1. Variación esquemática del hinchamiento relativo de los hidrogeles iónicos en función del pH. Tomado de Lin C.C.y Metters A.T., 2006.

Generalmente los hidrogeles formados por monómeros aniónicos incrementan su hinchamiento cuando el pH del medio externo es mayor que el pK_a, como por ejemplo los que forman los ácidos metacrílico, itacónico y metacrílico; mientras que por otro lado los hidrogeles formados por monómeros catiónicos aumentan su hinchamiento

cuando el pH es menor que el pK_a del grupo ionizable. En los copolímeros de este trabajo, el monómero que aporta la propiedad responsiva al copolímero es el DPA, cuyo grupo funcional es una amina terciaria que actúa como base débil y a pH levemente ácido se protona adquiriendo un carácter catiónico. Al observar el comportamiento del hinchamiento del copolímero frente al cambio de pH en las Figuras III.3.2.1.1, III.3.2.1.2 y III.3.2.2.1 se puede apreciar que dicho comportamiento es similar al esquematizado en la Figura III.3.2.3.1 para los polímeros compuestos por grupos catiónicos. A pH menores al pK_a , el hidrogel sufre un hinchamiento producto del aumento en la fuerza osmótica por la presencia de iones (Gupta P. y col., 2002), mientras que a pH mayores, esta fuerza se reduce y el hinchamiento es mínimo como se esquematiza en la Figura III.3.2.3.2:

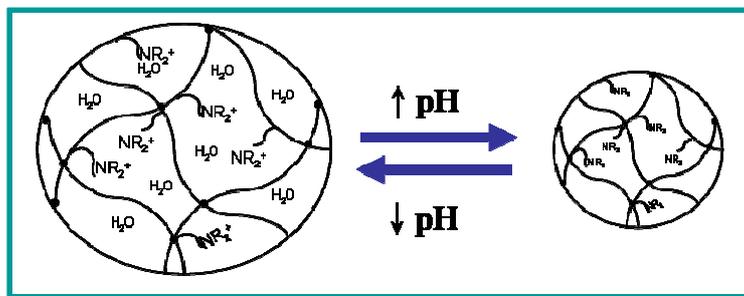


Figura III.3.2.3.2. Esquema del hinchamiento de los de los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) con el pH.

De esta forma, también vemos en las Figuras III.3.2.1.1, III.3.2.1.2 y III.3.2.2.1 que en el rango de pH entre 6,50 y 8,00 el CA disminuye casi linealmente con el aumento del pH de la solución. Dentro de este rango de pH se encuentran presentes, en el interior de la matriz polimérica, la forma iónica y no iónica del grupo amino del mero de DPA. Estas dos formas constituyen el sistema buffer del hidrogel (Lin C.C. y Metters A.T., 2006). Bajo estas condiciones se puede aplicar la ecuación de Henderson-Hasselbalch con el objeto de determinar el pK_a del hidrogel. De esta forma:

$$pH = pK_a + \log \left[\frac{\text{forma básica del grupo amino terciario}}{\text{forma ácida del grupo amino terciario}} \right] \quad (\text{Ec. III.4.2.3})$$

Ahora como el CA varía linealmente con el pH del medio en el rango de 6,50 a 8,00, el pK_a del buffer hidrogel puede ser determinado a partir del valor de pH para el

cual la fracción entre estas dos formas iónicas es 1, que corresponde al punto ubicado a la mitad de la curva del CA. El valor de pH en ese punto proporciona el valor del pK_a de la matriz polimérica. En la Tabla III.3.2.3.1 están presentados los valores obtenidos para las diferentes muestras.

Tabla III.3.2.3.1. Valores de pK_a para las películas de p(HMEA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, calculados a partir de la ecuación III.2.4.3 aplicada a las curvas de las Figuras III.3.2.1.1, III.3.2.1.2 y III.3.2.2.1 a 25,0 y 34,5 °C.

Muestra	pKa	
	25.0 °C	34.5 °C
HD70/30-1	7.40	7.01
HD70/30-3	7.32	6.94
HD90/10-1	7.30	6.87
HD90/10-3	7.17	6.80

Dependiendo de la composición del copolímero y el grado de entrecruzamiento, el pK_a adquiere valores entre 7,40 a 7,17 a 25,0 °C. Esto se encuentra relacionado con la disponibilidad de los grupos iónicos del hidrogel para actuar como sistema buffer (Bajpai A.K., 2008). Al aumentar la temperatura, el pK_a se desplaza, como es de esperar a valores más bajos en el rango de 7,01 a 6,80.

Esta característica responsiva permite que el sistema module la liberación de droga cuando el pH del medio circundante varía (Bajpai A.K, 2008). El pK_a posee valores que se encuentran dentro del rango del pH lagrimal, lo cual permitirá controlar la dosificación de los fármacos empleados durante el tratamiento de patologías oculares.

III.3.2.4. Análisis del contenido acuoso en función de la temperatura

Algunos hidrogeles iónicos y no iónicos sufren una transición de fase volumétrica reversible con la temperatura. Esta propiedad es útil para aplicaciones como separaciones extractivas, liberación controlada de medicamentos, desarrollo de biosensores, y separaciones por membranas (Hoffman A.S., 1986). Este comportamiento está asociado con la separación de fases de polímero, a medida que la temperatura se acerca a un valor crítico, conocido como “temperatura mínima crítica de solubilidad” o *LCST* por sus siglas en inglés.

En la Figura III.3.2.4.1 se muestra la influencia de la temperatura en el contenido acuoso de las películas p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador para pH 7,40.

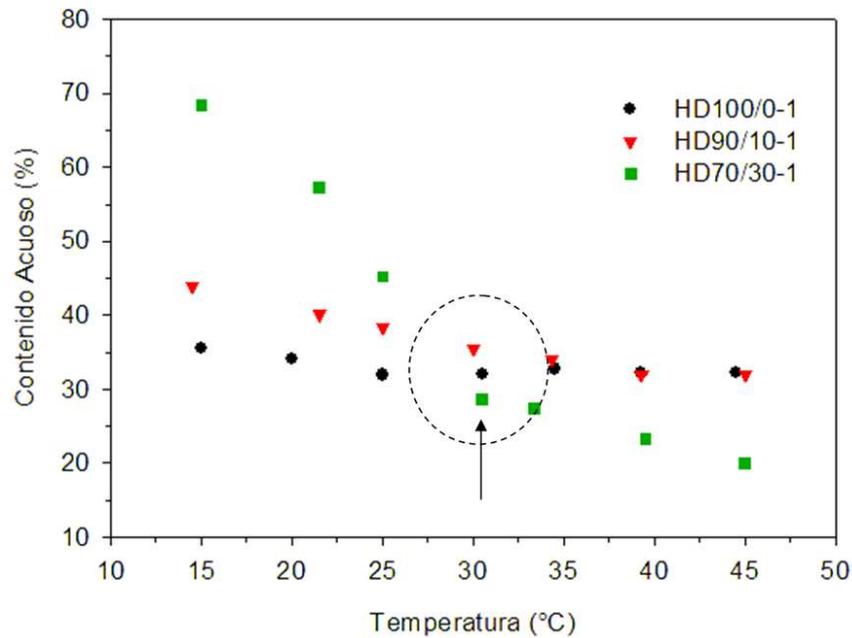


Figura III.3.2.4.1. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA con 1 % p/p de entrecruzador, hidratadas a diferentes temperaturas en buffer BF pH 7,40.

Se puede observar que el aumento de la temperatura produce una disminución en el valor de CA que se relaciona con la cantidad de DPA en el copolímero y es bien marcada en las películas con 30 % p/p de DPA. La modificación de los valores del contenido acuoso con la temperatura y la proporción de DPA, se pueden atribuir a la existencia de una transición hidrofílica \rightarrow hidrofóbica (Hirokawa Y. y Tanaka T.J., 1984), que en este caso ocurre en el entorno de los 30 °C. Esta transición hidrofílica-hidrofóbica ha sido observada en matrices que poseen en su estructura compuestos relativamente hidrofóbicos, las cuales sufren un hinchamiento-deshinchamiento reversible en respuesta a los cambios en la temperatura (Park K. y col., 1993; Hirokawa Y. y Tanaka T.J., 1984). Esta transición se encuentra controlada por el balance entre los grupos hidrofóbicos e hidrofílicos del polímero; y por la dependencia con la temperatura que presentan ciertas interacciones moleculares que contribuye a este tipo de separaciones de fase como los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas (Díez-Peña E., 2002). En los copolímeros esta transición ocurre como consecuencia de la modificación de la naturaleza de las interacciones entre los grupos OH hidrofílicos del HEMA y los grupos diisopropilos hidrofóbicos del DPA, con las moléculas de agua (Xue W. y Hamley I.W., 2002). Al superarse la temperatura de transición, se produce una expulsión de moléculas de agua con la consiguiente reducción del contenido acuoso lo que conduce al colapso del hidrogel.

Hoffman S.A. y col., en su estudio sobre hidrogeles basados en N-isopropilacrilamida (N-iPPAm) y ácido metacrílico (MAA) observaron un colapso acompañado del aumento de la temperatura y un hinchamiento a temperaturas menores. De acuerdo a esos estudios este proceso es reversible e indica la presencia de una temperatura inferior crítica de hinchamiento (LCST) aproximadamente a 32 °C (Hoffman S.A. y col., 1986).

III.3.2.5. Ensayos de hidratación-deshidratación-rehidratación

Las muestras fueron previamente hidratadas en medio ácido (pH 6,50), secadas y rehidratadas a diferentes pH. Los resultados para las muestras de HD70/30-3 se presentan en la Figura III.3.2.5.1. El hinchamiento final obtenido luego de la rehidratación, al igual que lo observado anteriormente, es mayor cuando disminuye el pH de la solución. Sin embargo, en estos casos se observa un fenómeno de deshinchamiento entre los 10 y los 80 minutos que difiere de las cinéticas antes vistas, y que es más pronunciado en las muestras con mayor porcentaje de DPA.

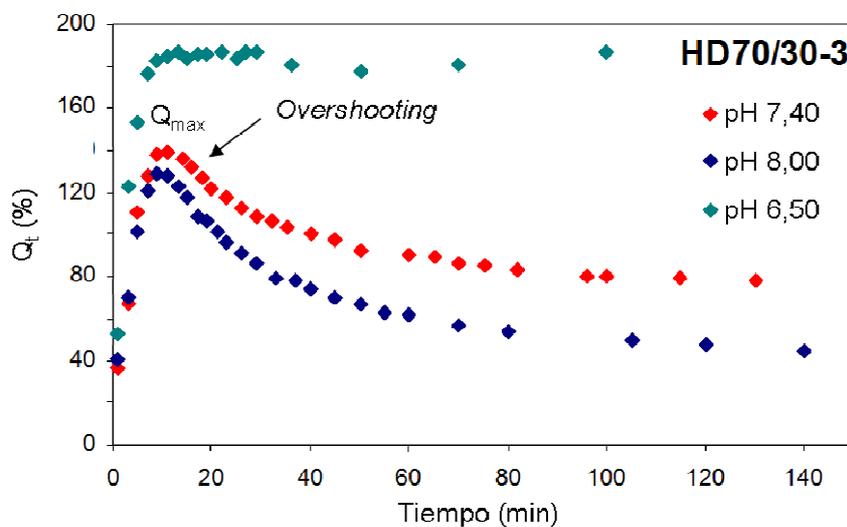


Figura III.3.2.5.1. Curvas de hinchamiento para las películas de HD70/30-3, primero hidratadas a pH 6,50, deshidratadas y luego hidratadas en medios de diferentes pHs a 25,0 °C.

Este fenómeno se describe en la bibliografía como efecto de *overshooting* (Yin Y. y Zheng H., 2008; Díez-Peña E., 2002) y consiste en: una primera etapa donde la película se hincha hasta alcanzar un valor máximo, Q_{max} , el cual es seguido de una segunda etapa de deshinchamiento gradual hasta alcanzar finalmente una condición de equilibrio, Q_e . El agua expulsada de la matriz estará dada por $Q_{max}-Q_e$. En este caso se

observa que a pH básico el hinchamiento se incrementa hasta alcanzar el valor Q_{\max} , después del cual ocurre una reorganización interna en la matriz que origina la expulsión de agua desde su interior lo que da a lugar al deshinchamiento como se muestra esquemáticamente en la Figura III.3.2.5.2:

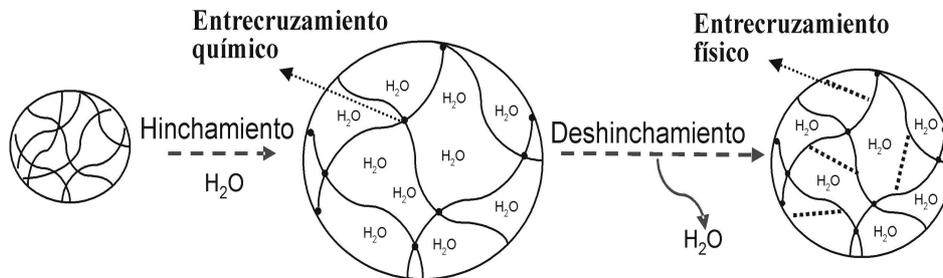


Figura III.4.2.5.2. Esquema del fenómeno de *overshooting*.

Esta reorganización interna no cambia el valor del equilibrio de hinchamiento obtenido en condiciones normales, y es considerada por diferentes autores como un “entrecruzamiento físico” (Yin Y. y Zheng H., 2008; Díez-Peña E., 2002) y que en estos hidrogeles se le atribuye a la formación de puentes de hidrogeno entre los grupos pendientes del DPA y el HEMA en un ambiente hidrofóbico. El efecto *overshooting* disminuye gradualmente con la disminución del pH de rehidratación, debido a que el grado de protonación del grupo amino genera una disminución en la cantidad de enlaces formados. De esta forma, la capacidad de expulsar el agua fuera de la matriz se ve reducida, y el efecto de deshinchamiento es menor.

Este efecto solo se ha observado en los casos donde el pH de la primera etapa de hidratación es ácido (pH 6,50). Adicionalmente este efecto puede ser a su vez en parte consecuencia de la presencia de iones que permanecen atrapados en el interior de la matriz, provenientes de la solución buffer, luego del proceso de secado. La presencia de estos iones favorecería la difusión inicial del agua hacia el interior de la matriz, y en consecuencia el hinchamiento inicial es superior al logrado en la condición de equilibrio. Luego la matriz se reorganiza, expulsando agua e iones hasta que la fase acuosa interna del material llega al equilibrio con la fase acuosa externa. Posiblemente este efecto sea mayor a pH ácido dado que a ese pH el hinchamiento de las películas con DPA es casi máximo y por ende el interior de la matriz se encuentra compuesto por una gran concentración de moléculas de agua y contra-iones asociados a los grupos ionizados de la película.

En la Figura III.3.2.5.3 se muestra el efecto de *overshooting* para diferentes composiciones de p(HEMA-co-DPA), pHEMA y entrecruzador. Se puede apreciar que dicho efecto es mayor en las películas con mayor contenido de DPA como consecuencia de lo discutido previamente.

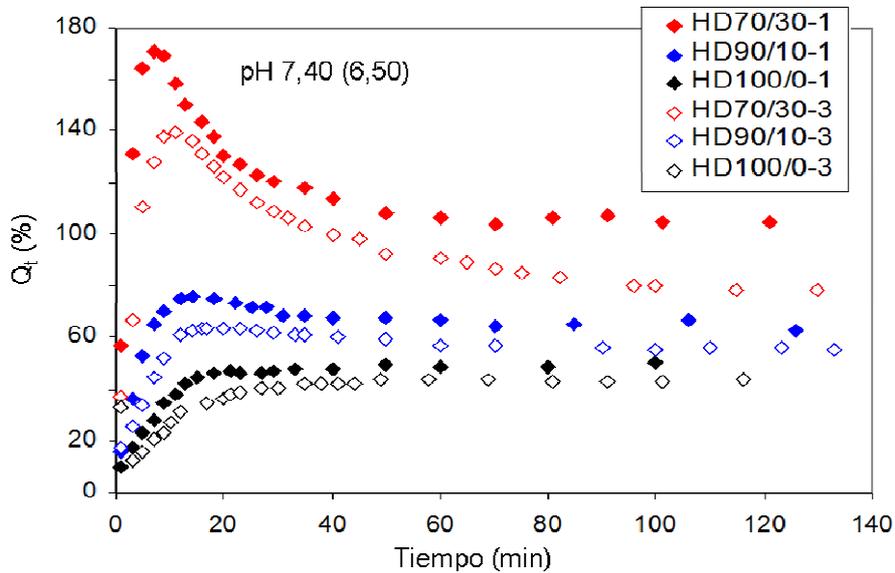


Figura III.2.2.5.3. Curvas de hinchamiento para las películas de p(HEMA-co-DPA), hidratadas a pH 6,50 y luego a pH 7,40 a 25,0 °C.

Por otra parte el incremento en el grado de entrecruzamiento reduce el máximo valor de hinchamiento alcanzado durante el *overshooting* y la masa de agua expulsada del hidrogel. Asimismo se puede apreciar que en las muestras con 1 % p/p de entrecruzador la velocidad de deshinchamiento es más rápida que las que tienen un 3 % p/p. Posiblemente esta diferencia observada se deba a que el incremento en la densidad de entrecruzamiento dificulta la movilidad de las cadenas laterales y la reorganización interna de la matriz, y de esta forma la expulsión de agua es más lenta.

La Figura III.3.2.5.4 muestra la influencia de la temperatura en la cinética de hinchamiento y en el efecto de *overshooting* para las películas de HD90/10-1.

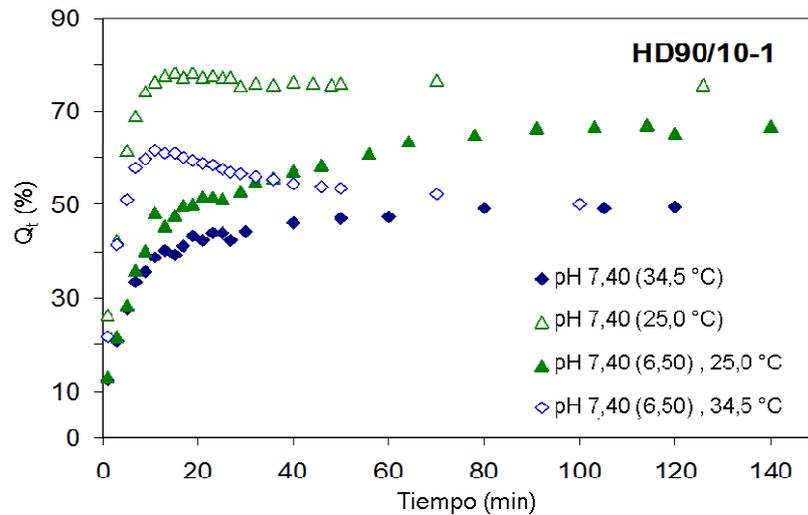


Figura III.3.2.5.4. Curvas de hinchamiento para las películas de HD90/10-1, a pH 7,40 antes y después de hidratarlas a pH 6,50 a 25,0 °C (verde) y a 34,5 °C (azul).

Se observa que al aumentar la temperatura disminuye el porcentaje de hinchamiento y se reduce los valores correspondientes al equilibrio de hidratación.

Un análisis más detallado y profundo de este efecto como el realizado por Díez-Peña en hidrogeles de MAA y N-iPAAm (Díez-Peña E., 2002) puede ser motivo de trabajos futuros.

III.3.3. CONCLUSIONES

Los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) presentan propiedades pH-responsivas las cuales se manifestaron a través de cambios en el CA. En estos casos el DPA actúa como grupo hidrofílico generando un aumento en la capacidad de absorción de agua en los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA). A medida que el pH del medio de hidratación se acidifica los grupos amino pertenecientes al DPA se protonan y generan una repulsión electrostática entre estos grupos ionizados. Este efecto produce la expansión de la matriz polimérica, y de esta forma permite el ingreso de agua al interior de la misma. La variación del contenido acuoso se encuentra entre pH 6,00 y 8,40.

Las películas de pHEMA presentan una pequeña variación en los valores de CA en función del pH, el cual, a diferencia de los copolímeros, tiende a aumentar a medida que el pH aumenta.

El entrecruzamiento no modifica la respuesta de los hidrogeles al cambio de pH, pero si influye en los valores finales del CA que alcanzan. Se pudo comprobar que al aumentar el entrecruzador, el contenido de agua disminuye.

El comportamiento pH-responsivo pudo observarse tanto a 25 °C como a 34,5 °C, pudiéndose emplear como estrategia de carga temperaturas diferentes de la ambiente además de la variación del pH.

El pKa de los hidrogeles calculados a partir de la ecuación de Handerson-Hasselbalch se encuentra entre 6,80 y 7,01 dependiendo de la composición del copolímero y el grado de entrecruzamiento. Estos valores se encuentran dentro del rango de pH lagrimal, lo que indica que este sistema puede ser empleado para modular la velocidad de liberación del fármaco en respuesta a los cambios de pH.

Los copolímeros y en particular los que contienen 30 % p/p de DPA presentaron un comportamiento responsivo a la temperatura. Esta propiedad además de permitir aplicaciones en sistemas de liberación controlada de medicamentos, podría ser de utilidad en el desarrollo de biosensores.

En los ensayos de hidratación-deshidratación- rehidratación se observó el efecto de *overshooting*, principalmente en las películas con DPA. Este fenómeno depende del grado de entrecruzamiento, la temperatura del medio de rehidratación y de los valores de pH de hidratación y rehidratación.

III.4. CARACTERIZACIÓN SUPERFICIAL

En la presente sección se estudian las características de la superficie de los hidrogeles, empleando la técnica de ángulo de contacto para determinar la humectabilidad y las características hidrofílicas e hidrofóbicas de la superficie; y la técnica de microscopía electrónica para evaluar la topografía y morfología (superficial y transversal).

III.4.1 PARTE EXPERIMENTAL

III.4.1.1. Ángulo de contacto

Para la determinación del ángulo de contacto (AC, θ) se empleó el método de la gota sesil, el cual consiste en depositar una gota (fase líquida) sobre un sustrato (fase sólida) en una fase gaseosa (aire). En este trabajo se empleó para la fase líquida agua destilada, como fase sólida las películas y como fase gaseosa aire. Las películas se cortaron con forma rectangular de 10,0 mm x 40,0 mm realizando tres tratamientos diferentes: un grupo de películas se secó en estufa a 60 °C durante 24 h entre dos placas de vidrio para lograr una superficie plana y lisa; un segundo grupo se hidrató durante 24 h a 25 °C en solución salina 0,9 % p/v; y un tercer grupo se hidrató en BF a diferentes valores de pH, siguiendo el mismo procedimiento anterior.

Las películas se depositaron sobre una superficie de vidrio y se colocaron dentro de una celda cerrada para mantener la humedad constante. En el caso de las películas hidratadas se les removió previamente el agua superficial con un papel absorbente, y luego se midieron en una atmósfera saturada con una humedad relativa de 97,5 % obtenida a partir de una solución saturada de K₂SO₄. En el caso de las películas secas las medidas se realizaron en un ambiente seco con sílica gel. Todas las medidas se realizaron a temperatura ambiente en un rango de 20 a 25,0 °C.

Para medir el ángulo de equilibrio, el volumen de gota utilizado fue de 7 μ l y se depositó a una velocidad de 3 μ l/s sobre la película, utilizando un inyector automático (Automated Dispensing System, Ramé-Hart Instrument co., USA). Para registrar el AC se empleó un goniómetro Rame-Hart 500, USA, que se muestra en la Figura III.4.1.1.2.



Figura III.4.1.1.1. Imagen fotográfica del goniómetro Rame-Hart 500 utilizado para medir el ángulo de contacto.

Una vez depositada la gota, se tomaron diez valores consecutivos del ángulo cada 1 s, este procedimiento se repitió 10 veces empleando cada vez una parte diferente de la película. El software DropImage, empleado para recolectar los valores de θ , asume que la gota es parte de una esfera y calcula el valor de θ como:

$$\theta = 90 - \tan^{-1} \left(\frac{r - b}{\sqrt{2rb - b^2}} \right) \quad (\text{Ec. III.4.1.1.1})$$

donde r es el radio de dicha esfera y b es la altura de la gota. El cálculo se realiza tomando r desde el centro a la línea triple (punto de contacto de las tres fases sólida, líquida y gaseosa) en cada extremo de la gota, y luego los valores de θ_d (derecho) y θ_i (izquierdo) son promediados para obtener un valor final θ_m .

Los valores de θ_m obtenidos para cada muestra fueron promediados y se calculó la desviación estándar. Finalmente los valores de ángulo de contacto obtenidos corresponden al ángulo de contacto aparente (θ_{App}), que es el ángulo de contacto medido en condiciones de equilibrio para un sustrato no ideal.

III.4.1.2. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es un instrumento que permite la observación y caracterización superficial de materiales (tanto inorgánicos como

orgánicos) aportando información sobre la morfología superficial del material analizado.

Dado que el SEM trabaja en alto vacío es necesario que la muestra esté previamente deshidratada. Para evitar que el proceso de deshidratación provoque cambios de la estructura tridimensional de la muestra, se empleó el método de deshidratación por liofilización. Este método se realiza en dos etapas, primero se congela la muestra, de esta forma el agua presente en su interior se solidifica, y segundo se somete la muestra congelada a una atmósfera a baja presión (vacío). En esta segunda etapa el agua (en estado sólido) se extrae mediante un proceso de sublimación (por pasaje de estado sólido a estado gaseoso), sin alterar la estructura del material congelado. Este método permite conservar la forma y textura de la muestra original. Las ventajas de esta forma de deshidratación se deben a: su sencillez de preparación, que no requiere de solventes u otros compuestos, y que las muestras obtenidas pueden observarse con distintos tipos de microscopios.

Las muestras se hidrataron previamente en diferentes soluciones buffer durante 24 horas a temperatura ambiente (20,0 a 25,0 °C), después se congelaron a - 40 °C en alcohol, y se liofilizaron bajo vacío durante 24 h. Una vez liofilizadas, se depositaron sobre la superficie de un soporte de aluminio y se recubrieron con una fina capa de oro, para reducir al mínimo la acumulación de carga negativa sobre la superficie del material, empleando el método de “*sputtering*”.

Asimismo, para observar el corte transversal, algunas muestras se fracturaron previamente en estado seco, de forma manual, y luego se prepararon siguiendo el mismo procedimiento.

La observación se realizó empleando un microscopio FEI – Quanta 200 (Holanda), en el modo alto vacío (Hi-Vac), y aplicando un voltaje de aceleración de 15 y 20 kV. En este paso se procuró evitar la distorsión de las muestras como resultado de cambios térmicos durante la observación.

Se registraron imágenes del corte transversal y de la superficie de las películas con varios aumentos. El tamaño y la distribución de poros superficiales se evaluaron de forma directa empleando un programa de procesamiento de imágenes.

III.4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.4.2.1. Humectabilidad

La humectabilidad es la capacidad que tiene un líquido (fase líquida) para expandirse sobre un sustrato (fase sólida), y depende de la energía superficial del mismo. Tanto la propiedad de humectabilidad, como el grado de hidrofiliicidad o hidrofobicidad de una superficie pueden determinarse a partir de la medida del ángulo de contacto (θ). Dicha medida está directamente relacionada con las tensiones interfaciales formadas entre las fases sólida, líquida y gaseosa, por medio de la ecuación de Young, de la siguiente manera:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{ls}}{\gamma_{lv}} \quad (\text{Ec. III.4.2.1.1})$$

donde γ_{sv} , γ_{ls} y γ_{lv} son las tensiones superficiales asociadas a las interfaces sólido-aire, líquido-sólido y líquido-aire respectivamente; y θ es el ángulo de contacto que se forma entre la tangente a la interface liquido-aire y la superficie del sólido, en el punto de contacto de las tres fases, sólida, líquida y gaseosa, llamada línea triple (Figura III.4.2.1.1).

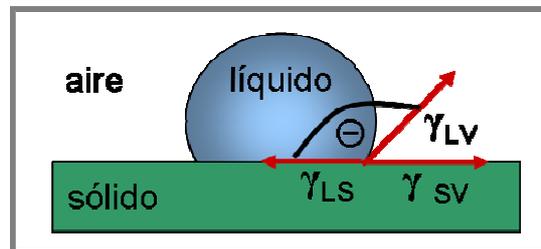


Figura III.4.2.1.1. Esquema de las fuerzas interfaciales involucradas en la medida del ángulo de contacto formado entre un líquido (gota) y un sólido (sustrato).

La ecuación de Young (Ec. III.4.2.1.1) permite calcular del ángulo de contacto para un sistema, asumiendo que es un sistema ideal donde la superficie sólida es lisa, plana, homogénea, químicamente inerte, insoluble, no reactiva, no porosa, y no deformable. La medida del ángulo de contacto es un método sencillo para caracterizar superficies de baja energía como son los polímeros. Sin embargo debido a la rugosidad superficial y a la heterogeneidad química de las superficies reales, no se determina el ángulo de contacto de equilibrio (para una superficie ideal de Young) (Musthafa Z., 1999), sino que se determina el ángulo aparente (θ_{App}). Dicho ángulo representa el

estado estable de equilibrio entre el ángulo de avance y el de retroceso (donde la energía libre del sistema es un mínimo local) (Serrano Saldaña E., 2002).

En la Tabla III.4.2.1.1 se muestran los ángulos de contacto y sus correspondientes grados de humectabilidad. Como el ángulo de contacto disminuye con la tendencia de una gota a expandirse sobre la superficie y aumenta en la situación inversa, se puede decir que el valor del ángulo es una medida inversa de la humectabilidad.

Tabla III.4.2.1.1. Diferentes valores de ángulos de contacto y sus correspondientes grados de humectabilidad e interacciones sólido/líquido y líquido/líquido (Adaptado de Eustathopoulos, N. y col., 1999).

Ángulo de contacto (θ)	Grado de humectabilidad	Fuerzas intermoleculares	
		Interacción S/L	Interacción L/L
$\theta = 0$	Perfecta	Fuerte	Débil
$0 < \theta < 90^\circ$	Alta	Fuerte	Fuerte
		Débil	Débil
$90^\circ \leq \theta < 180^\circ$	Baja	Débil	Fuerte
$\theta = 180^\circ$	Nula	Débil	Fuerte

La caracterización de la superficie como hidrofílica o hidrofóbica dependerá del valor de θ_{App} para dicha superficie. En el caso del agua una superficie se denomina hidrofílica para $\theta_{App} < 60^\circ$ y para $\theta_{App} > 90^\circ$ se denomina hidrofóbica.

La humectabilidad es una propiedad importante para las lentes de contacto, y predice como la película lagrimal se esparcirá sobre su superficie, y por ende cómo será el confort visual del paciente. Si la superficie presenta una baja humectabilidad, la capa lagrimal pre-lente se esparcirá de forma despareja, dando lugar a una superficie irregular como la observada en la Figura III.4.2.1.2.a. Cuando la luz incide sobre una superficie óptica irregular se produce la dispersión de la luz (Figura 4.2.1.2-a) alterando la calidad de la imagen. En la Figura 4.2.1.2.b se muestra la dispersión de luz sobre una lente de contacto con baja humectabilidad, en esta circunstancia la calidad visual se verá disminuida.

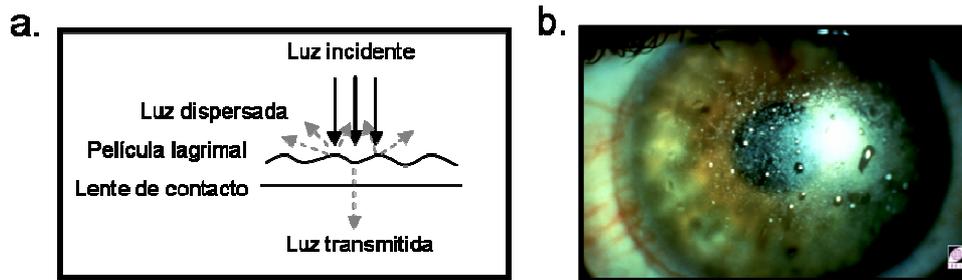


Figura III.4.2.1.2. Baja humectabilidad de la lente de contacto. a. Esquema de la dispersión de la luz sobre la superficie irregular de la película lagrimal pre-lente. b. Imagen de la dispersión de la luz sobre la superficie de una lente de contacto con baja humectabilidad, observada con luz difusa (Con permiso de IACLE, 2000).

Determinación del ángulo de contacto de la superficie de los xerogeles

En la Figura III.4.2.1.3 se muestran las imágenes obtenidas para los xerogeles de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % de entrecruzador.

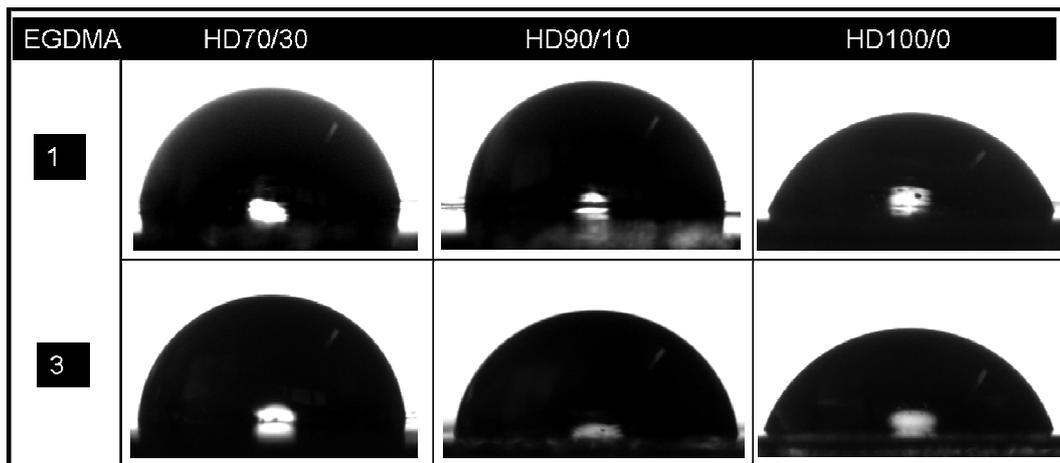


Figura III.4.2.1.3. Imágenes del método de gota sesil obtenidas para las películas secas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA.

Se puede apreciar de forma cualitativa que la gota presenta un mayor contacto con la superficie en las películas de pHEMA con 1 y 3 % de entrecruzador, mientras que para HD90/10 y HD70/30 la gota se esparce menos, lo que indica que la superficie posee una humectabilidad más baja. En la Tabla III.4.2.1.2 se presentan los valores de AC obtenidos en cada caso. Los valores del ángulo de contacto obtenidos se encuentran entre 72 y 85 °, lo que indica que la humectabilidad de la superficie es entre media a alta.

Tabla III. 4.2.1.2. Valores de ángulo de contacto (θ_{App}) para los xerogeles de p(HEMA-co-DPA).

	Entrecruzador 1 % p/p		Entrecruzador 3 % p/p	
	θ_{App} (°)	DE (n = 10)	θ_{App} (°)	DE (n = 10)
HD70/30	83	3,6	85	2,9
HD90/10	81	3,4	79	3,9
HD100/0	72	3,0	72	1,9

n: número de medidas; DE: Desviación estándar

Si se comparan los valores del homopolímero del HEMA con los copolímeros podemos apreciar que el pHEMA presenta valores más bajos de θ_{App} , y cuando se adiciona DPA este valor aumenta. Como se puede observar en la Figura III.4.2.1.3, la gota se extiende sobre la superficie del pHEMA, lo que significa que la humectabilidad es mayor en este caso. El resultado obtenido refleja la naturaleza más hidrofóbica del DPA, y la naturaleza más hidrofílica del HEMA en estas condiciones.

Cuando la superficie de un material se encuentra rodeada de aire, los grupos no polares o hidrofóbicos (presentes en la superficie) tienden a orientarse hacia el exterior del mismo buscando reducir la energía de superficie (Figura III.4.2.1.4.a). Al depositar una gota de agua sobre un sector del material, la energía en la interface sólido-líquido aumenta, y como consecuencia los grupos polares presentes en la superficie se orientan hacia el exterior del material, de esta forma mejoran la interacción en la interface y bajan la energía de la misma (Hoffman A.S., 2005). En el caso del pHEMA, los grupos hidrofílicos (OH o C=O) son los que se posicionan sobre la superficie (Ratner B.D. y col., 1978), mejorando la humectabilidad y disminuyendo el θ_{App} como se esquematiza en la Figura III.4.2.1.4.b. Por otra parte el DPA es una molécula hidrofóbica, que no presenta grupos polares capaces de disminuir la tensión interfacial. Es por ello que la interacción líquido-líquido es mayor que la interacción sólido-líquido, y la gota minimiza el contacto con la superficie, aumentando consecuentemente el ángulo de contacto.

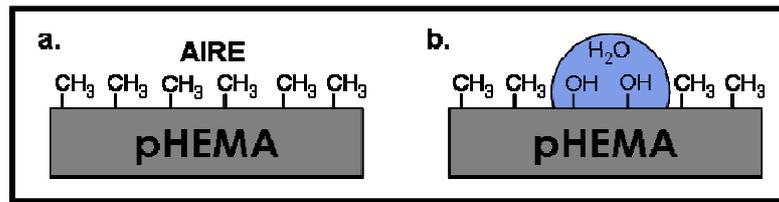


Figura III.4.2.1.4: Esquemas: a. organización de los grupos no polares del pHEMA en el aire (baja energía de superficie); b. organización de los grupos funcionales del pHEMA en la interface sólido-líquido (baja energía interfacial).

Determinación del ángulo de contacto de los hidrogeles hidratados en solución de NaCl 0,9 % p/v

En la Figura III.4.2.1.5 se muestran las imágenes obtenidas para los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % de entrecruzador, previamente hidratados en solución de NaCl 0,9 % p/v.

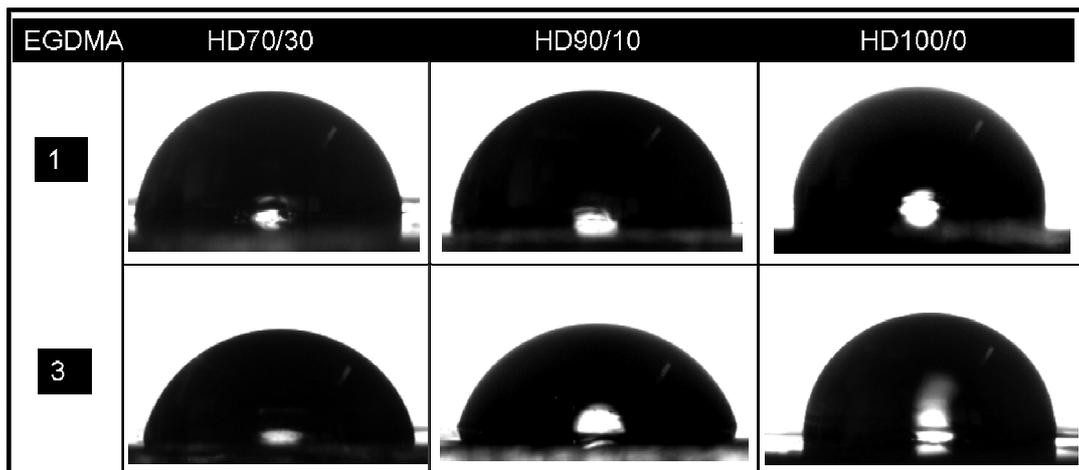


Figura III.4.2.1.5. Imágenes del método de gota sesil obtenidas para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA hidratadas en solución de NaCl 0,9 % p/v.

Los valores de θ_{App} obtenidos para los hidrogeles a partir de las imágenes que se muestran en la Figura III.4.2.1.5, se presentan en la Tabla III.4.2.1.3. Se obtuvieron valores de θ_{App} entre 0 y 90°, con pequeñas diferencias entre las distintas muestras.

Tabla III.4.2.1.3. Valores de ángulo de contacto (θ_{App}) para los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) hidratados en solución salina de NaCl 0,9 % p/v.

	Entrecruzador 1 % p/p		Entrecruzador 3 % p/p	
	θ_{App} (°)	DE (n = 10)	θ_{App} (°)	DE (n = 10)
HD70/30	84	3,0	78	4,5
HD90/10	87	4,8	79	4,5
HD100/0	89	4,4	88	3,2

n: número de medidas; DE: Desviación estándar

Al hidratar previamente las películas en solución salina 0,9 % p/v, los valores de θ_{App} se modifican principalmente para las muestras de pHEMA, con respecto a las medidas realizadas en el estado de xerogel. En este caso el ángulo de contacto sube cuando la película se encuentra en estado hidratado. Este cambio puede deberse a modificaciones en la rugosidad, porosidad, o reorientación de grupos funcionales. De acuerdo a las observaciones experimentales, en particular de SEM, no se observan cambios importantes en los dos primeros factores. Por lo tanto, este resultado posiblemente se deba a la reorientación de grupos funcionales. Es sabido que cuando se retira la película del medio líquido, los grupos hidrofílicos presentes en la interface película-aire, se orientan hacia el interior de la película (un entorno más hidrofílico), dejando de esta forma una superficie más hidrofóbica. En este caso, al colocar una gota de agua destilada sobre la superficie, como los grupos polares ya se encuentran inmersos en un entorno hidrofílico, su orientación no se modifica, y por ende el ángulo de contacto es mayor. En este caso, las fuerzas intermoleculares entre los grupos funcionales del HEMA, y el agua (solución de NaCl) ubicada en el interior del hidrogel, serían mayores que las fuerzas intermoleculares presentes entre la gota y la superficie del hidrogel en la interface sólido-líquido.

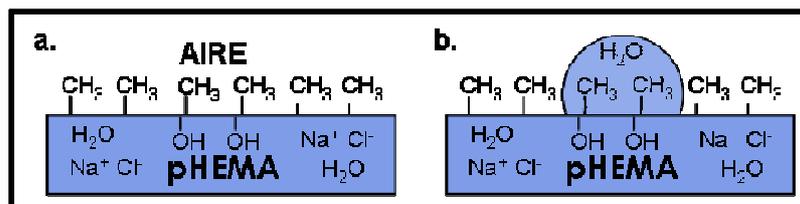


Figura III.4.2.1.6: Esquemas de la organización de los grupos polares y no polares del hidrogel de pHEMA: a. en el aire (baja energía de superficie); b. en la interface sólido-líquido (baja energía interfacial).

En los copolímeros no se presenta una diferencia significativa en el θ_{App} entre el estado seco e hidratado, dado que su hidrofília depende fundamentalmente del estado iónico de su mero. En estas condiciones el grupo amino del DPA presenta un estado mayormente neutro (hidrofóbico), por lo tanto las diferencias que puedan surgir como consecuencia de la orientación de los grupos en la interface, no son suficientemente significativas como para modificar de forma sustancial el ángulo de contacto aparente.

Con el fin de comparar los valores obtenidos con los sistemas poliméricos estudiados en este trabajo, se realizaron medidas del θ_{App} para dos lentes de contacto comerciales empleando la misma técnica. Se seleccionaron, la lente Etafilcon[®] A que es un copolímero base pHEMA por lo que presenta una buena humectabilidad, y la lente Lotrafilcon[®] A que es un material siliconado que presenta un tratamiento de superficie para mejorar su humectabilidad. Los valores obtenidos para Etafilcon[®] A y Lotrafilcon[®] A son 86 ° y 76 ° respectivamente. Tomando los valores de ambas lentes como referencia, podemos decir que los resultados obtenidos para las muestras sintetizadas en este trabajo están acordes a los valores del θ_{App} de las lentes de contacto comerciales. Por lo tanto presentan una buena humectabilidad y potencialmente aptas para su uso como lentes de contacto.

Efecto del pH de hidratación en el valor del ángulo de contacto

Como el estado de hidratación y la morfología de la superficie varían en función del pH del medio, se analizó la influencia de estos factores sobre la medida del ángulo de contacto de los materiales hidratados previamente a diferentes valores de pH.

En la Figura III.4.2.1.7 se muestran los valores de ángulos de contacto obtenidos al variar el pH de hidratación de los hidrogeles con 1 (a) y 3 (b) % p/p de entrecruzador.

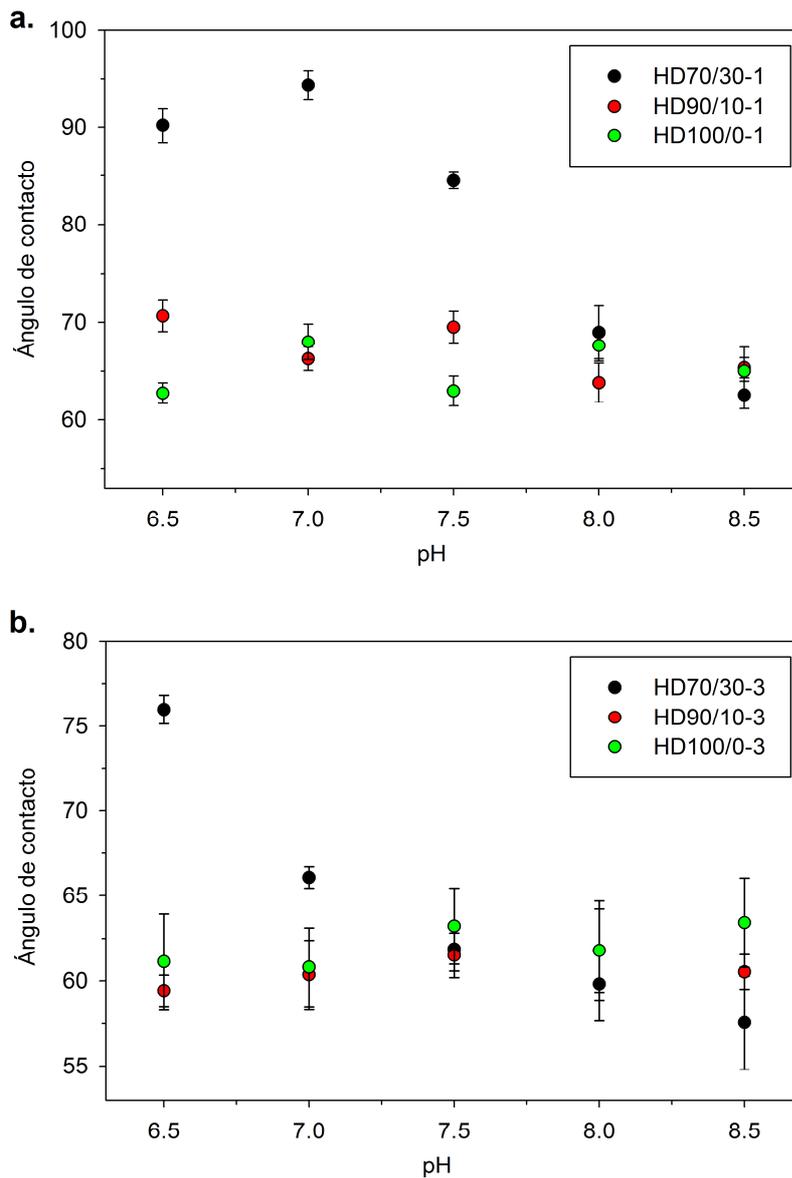


Figura III.4.2.1.7. Ángulo de contacto (θ_{App}) para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 (a) y 3 % (b) p/p de entrecruzador, hidratadas en BF a diferentes valores de pH.

Para las películas HD100/0 y HD90/10 los valores del ángulo de contacto oscilan entre 62 y 71 °, indicando una alta humectabilidad y una baja variación con respecto al cambio de pH. Para las películas HD70/30 el AC varía al pasar de pH 8,50 a 6,50, de 62 a 95 ° y 58 a 72 ° para 1 y 3 % p/p de entrecruzador respectivamente. En este caso, a medida que acidificamos el medio el hinchamiento del copolímero aumenta como producto de la ionización del grupo amino del DPA.

Como se apreciará en las imágenes de SEM (Figura III.4.2.2.1, III.4.2.2.2 y III.4.2.2.3), el hinchamiento de los copolímeros genera cambios importantes en la

rugosidad y el tamaño de poro superficial. Ambos factores alejan la calidad de la superficie de las condiciones ideales de Young. En este caso el ángulo de contacto aparente toma valores que se apartan, aún más, del ángulo de contacto en el equilibrio. Con el objetivo de determinar el efecto de la rugosidad superficial sobre el ángulo de contacto, Musthafa Z determinó dicho valor para pastillas de látex MZ2 con diferentes valores de rugosidad superficial (logradas al aplicar diferentes valores de fuerza de compresión durante su armado). Este autor observó que conforme la rugosidad aumentaba, el ángulo de contacto se incrementaba (Musthafa Z., 1999). Lo observado por este autor coincide con los resultados obtenidos en este trabajo para HD70/30, donde al aumentar el pH del medio de hidratación el ángulo de contacto aparente aumenta.

Por otra parte, un análisis más completo en superficies no ideales se puede obtener si se determinan el ángulo de avance y el ángulo de retroceso. La diferencia entre ambos ángulos se denomina *histéresis*, y su valor proporciona información acerca del estado superficial de la muestra. Asimismo depende de fenómenos como: la rugosidad, la heterogeneidad química, de procesos de adsorción /desorción y deformaciones de la superficie (Musthafa Z., 1999). Sin embargo este estudio es más profundo y escapa a los objetivos y tiempos de esta tesis, aunque podrá ser un tema a desarrollar como trabajo a futuro.

III.4.2.2. Análisis microscópico de la morfología superficial e interna del hidrogel

Como se explicó, la microscopía electrónica de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de la muestra, y permite obtener una imagen tridimensional de la superficie de la misma. Para ello se trabaja enfocando y barriendo la superficie de la muestra con un haz de electrones y en condiciones de alto vacío. La versatilidad de esta técnica radica en que brinda información sobre la macro (0,1 a 1,0 mm), meso (1-100 μm) y micro (10-1000 nm) estructura. Además, en muchos instrumentos, el soporte de la muestra permite trabajar con tamaños de muestras que van desde el orden de los nanómetros hasta los centímetros. Esto es posible gracias a que el soporte de muestra puede moverse en las direcciones X, Y y Z y rotar alrededor de cada uno de los ejes, como consecuencia, la superficie de la muestras se pueden observar desde casi cualquier perspectiva

A pesar de las limitaciones de resolución que posee el SEM, la facilidad con la que se preparan y observan las muestras, hace que sea una técnica muy utilizada para el

estudio de tamaños de partícula, de la topografía de la superficie, textura, rugosidad, morfología interna (en muestras seccionadas) y en el análisis de la composición superficial (en muestras metálicas).

En particular en los sistemas de liberación controlada de droga, el SEM es probablemente el método más utilizado para caracterizar la microestructura del dispositivo. Éste proporciona información sobre la porosidad superficial; la diferenciación y localización de las regiones amorfas y cristalinas; el tamaño de las partículas en sistemas dispersos, la separación de fases en sistemas de mezclas; y en especial la distribución del PA (principio activo) en la microestructura del sistema de liberación (Mathiowitz E., 1999). En este punto, conocer la ubicación y la homogeneidad con la que se distribuye el PA permite predecir la velocidad con la cual va a ser liberado. Por ejemplo en polímeros semicristalinos, la liberación del PA desde las regiones cristalinas será más lenta que desde los dominios amorfos; o así mismo en polímeros porosos, la liberación será más rápida cuando el tamaño de poro sea mayor, o cuando el PA se distribuya próximo a los poros (Mathiowitz E., 1999). A su vez, el análisis por SEM nos permitirá estudiar los cambios morfológicos que se originan en los sistemas responsivos frente a diferentes estímulos.

Es por ello que en esta sección se estudiaron los cambios en la morfología interna y superficial de los copolímeros y homopolímeros; y como ésta varía en los sistemas responsivos.

La Figura III.4.2.2.1 muestra las imágenes de SEM correspondientes a las superficies del hidrogel HD70/30-1 hidratadas a pH 6,50, 7,00, 7,40 y 8,40, con ángulo de observación no perpendicular a fin de analizar la topografía superficial.

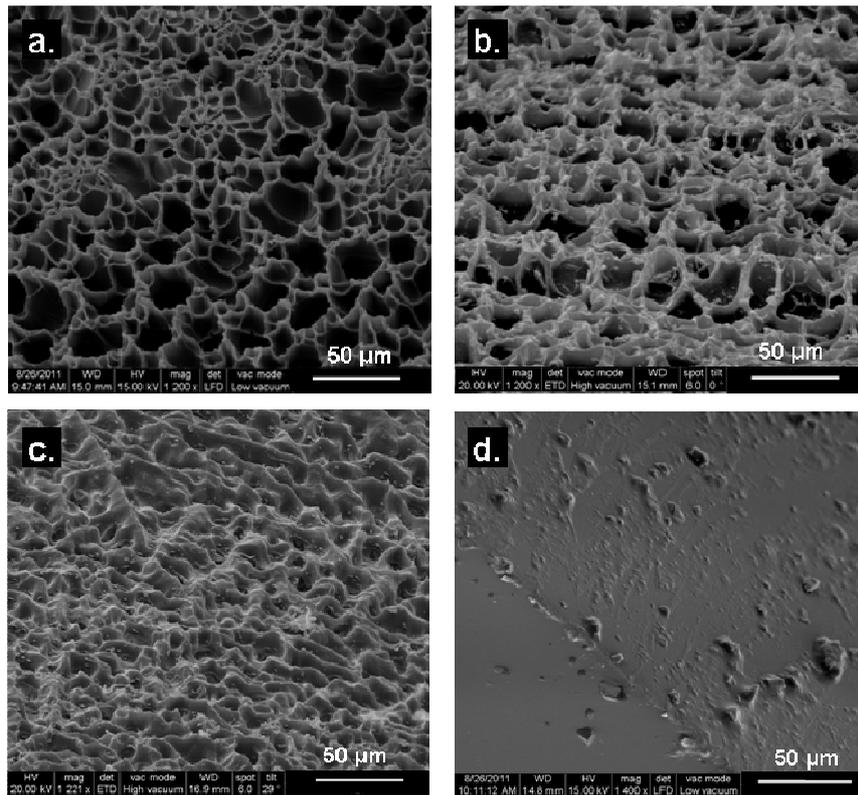


Figura III.4.2.2.1. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel HD70/30-1 hidratado previamente a: (a) pH 6,50; (b) pH 7,00; (c) pH 7,40 y (d) pH 8,40. Imágenes tomadas con ángulo de observación no perpendicular.

Como se puede observar, el cambio del pH en el medio de hidratación produce un cambio en la superficie del hidrogel. A valores de pH 6,50 y 7,00 la superficie presenta una rugosidad marcada, con terminaciones más elevadas, y bordes más puntiagudos. Al aumentar el pH a 7,40 esta rugosidad disminuye, la elevación es menor y los bordes poseen una terminación más redondeada. Por último se puede ver que en la Figura III.4.2.2.1-d, cuando el pH del medio es 8,40, la superficie es más compacta, menos rugosa, con un número finito de picos, y no se aprecian poros en su superficie. En la sección III.2.2.1 se discutió como la incorporación del DPA, le aporta propiedades pH responsivas al polímero. Es por ello, que los cambios en la rugosidad son un reflejo de las modificaciones que genera la variación de pH en el hinchamiento de estos materiales. Cuando el hinchamiento es marcado, a pH menores al pKa (7,40 a 25,0 °C) la rugosidad de la superficie es mayor, y a medida que el hinchamiento disminuye, al aumentar el pH, su rugosidad disminuye y la superficie se vuelve más lisa y compacta. Como se discutirá más adelante, este cambio en la morfología superficial, en respuesta al cambio de pH, se debe únicamente a la presencia del DPA en el copolímero. Por

último se puede decir que la rugosidad que caracteriza la superficie del hidrogel en su estado abierto, proporciona una mayor superficie de contacto, y de esta forma facilita la difusión de la droga en sistemas de liberación localizada.

Por otra parte, en la Figura III.4.2.2.2 se presenta el copolímero, en sus diferentes estados de hidratación, con un ángulo de observación perpendicular a la superficie de la muestra a fin de determinar la morfología superficial y el tamaño de poro.

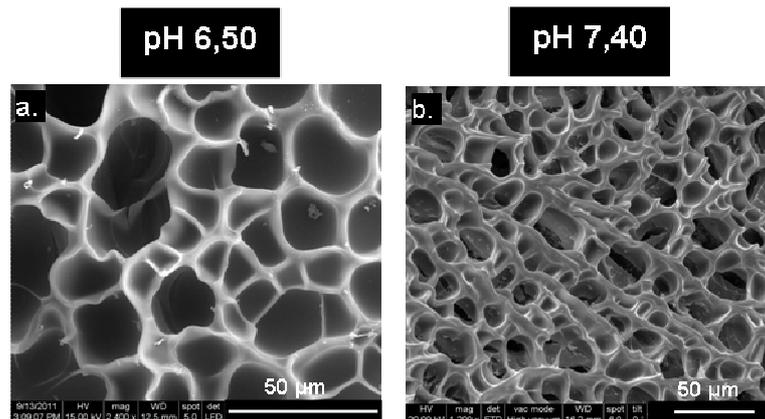


Figura III.4.2.2.2. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel HD70/30-1 hidratado a: (a) pH 6,50; y (b) pH 7,40.

En la Figura III.4.2.2.2.a, la superficie del hidrogel muestra un estado morfológico “abierto”, con una estructura porosa con paredes delgadas, y un predominio del espacio libre producto de la expansión que sufre la matriz en este valor de pH. Por otro lado a medida que aumenta el pH de 6,50 a 7,40 (Figura III.4.2.2.2.b) se observa una estructura más cerrada o “colapsada”, con paredes más gruesas. A estos valores de pH el hinchamiento del hidrogel es menor y en consecuencia muestran una estructura más compacta. La distribución de poros con diferente tamaño no se observó sectorizada, lo cual indicaría una distribución homogénea del mero de DPA en el polímero.

Para el copolímero con 10 % p/p de DPA, las imágenes se presentan en la Figura III.4.2.2.3. Podemos ver que a pH ácido al igual que con 30 % p/p, hay una gran población de poros que se distribuye en toda la superficie. Sin embargo el tamaño de poro es más pequeño, siendo $5 \pm 2 \mu\text{m}$ para 10 % p/p, y $7 \pm 2 \mu\text{m}$ para 30 % p/p de DPA. Al pasar a pH 7,40 disminuye significativamente la cantidad de poros, mientras que a pH 8,40 (Figura III.4.2.2.3-c) el hidrogel presenta una superficie no porosa y compacta.

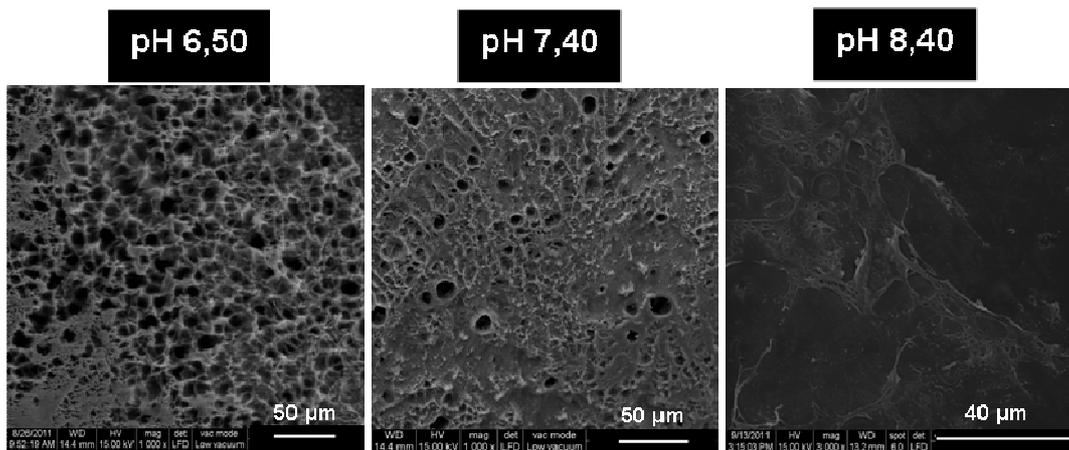


Figura III.4.2.2.3. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel HD90/10-1 hidratado a: pH 6,50 (izquierda); pH 7,40 (centro), y pH 8,40 (derecha).

Para el homopolímero de pHEMA no se observó un cambio en la superficie del hidrogel con la variación de pH, y en todos los casos se apreció una superficie compacta como la que se presenta en Figura III.4.2.2.5 para el pHEMA con 1 % p/p de entrecruzador hidratado a pH 7,40.

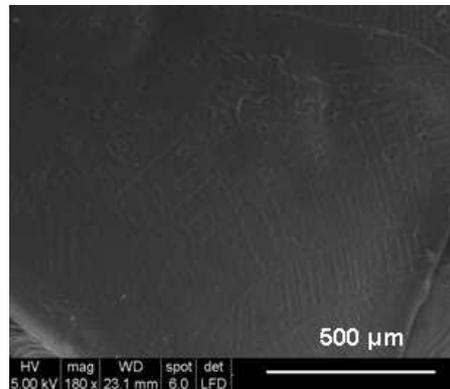


Figura III.4.2.2.4. Imagen de SEM de la superficie del hidrogel HD100/0-1 a pH 7,40.

Generalmente la microscopía electrónica de barrido se emplea para realizar una caracterización superficial de los materiales, sin embargo, como ya se explicó también es posible observar la morfología interna si se explora el corte transversal de los mismos. Esta exploración permite observar la interconectividad entre la superficie y el interior de los hidrogeles.

En la Figura III.4.2.2.5 se muestran las imágenes de SEM correspondientes a la sección transversal del hidrogel HD70/30-1 en función del pH.

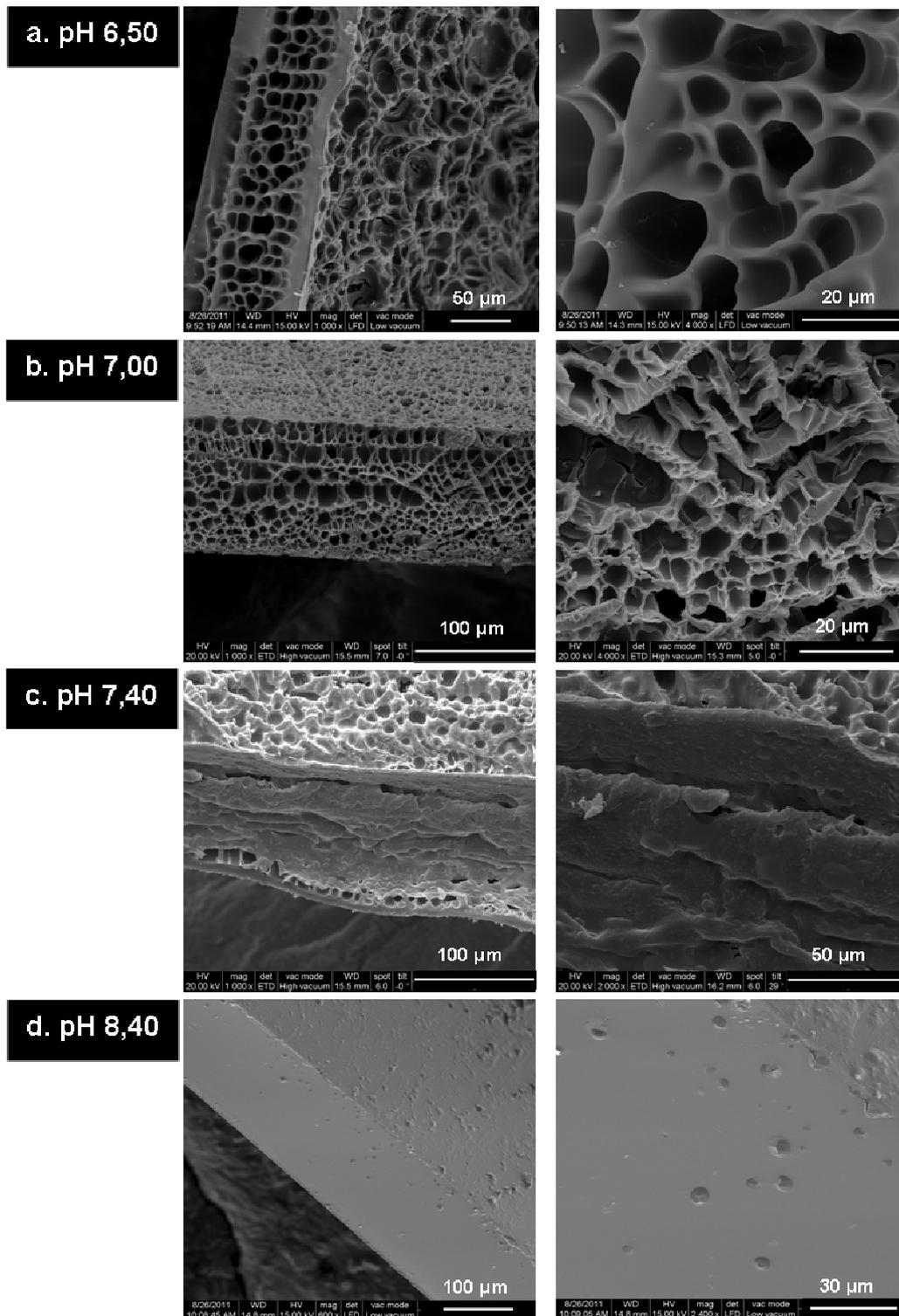


Figura III.4.2.2.5. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD70/30-1 hidratado a pH; a. 6,50; b. 7,00; c. 7,40 y d. 8,40; con aumento entre 600 y 1000x (izquierda), y 2000 y 4000x (derecha).

Los resultados concuerdan con lo esperado, cuanto mayor es el hinchamiento del hidrogel, mayor es la expansión interna de la matriz, y por ende mayor es el volumen disponible para la incorporación de un mayor número de moléculas. A medida que el pH aumenta, la morfología del hidrogel cambia desde un tamaño de poro promedio para pH 6,50 de $12 \pm 4 \mu\text{m}$, a $7 \pm 2 \mu\text{m}$ para pH 7,00. En ambos pH se observa un estado abierto, pero la distribución de los tamaños de los poros a lo ancho del hidrogel, no es aleatoria, sino que presentan un tamaño mayor en el centro que en la periferia. Por otra parte a pH 7,40, próximo al pKa, se presenta una diferenciación marcada, entre la morfología interna y la superficial del hidrogel. En el interior del hidrogel se observa un estado “colapsado”; mientras que en la superficie del mismo se aprecia un estado “abierto”, con cierta porosidad y rugosidad como la observada en la Figura III.4.2.2.5-c (imagen izquierda).

Finalmente, a pH 8,40 (Figura III.4.2.2.5-d), el hidrogel presenta una estructura interna compacta y homogénea, con una baja densidad de poros (con un tamaño del orden de los $5 \pm 1 \mu\text{m}$), como consecuencia de su estado colapsado. A diferencia de lo observado a pH 7,40, en este caso la superficie también es más compacta, sin poros aparentes, y con una rugosidad menor. Esta diferencia se encuentra relacionada con que a pH 8,40 el contenido acuoso es más bajo que a pH 7,40.

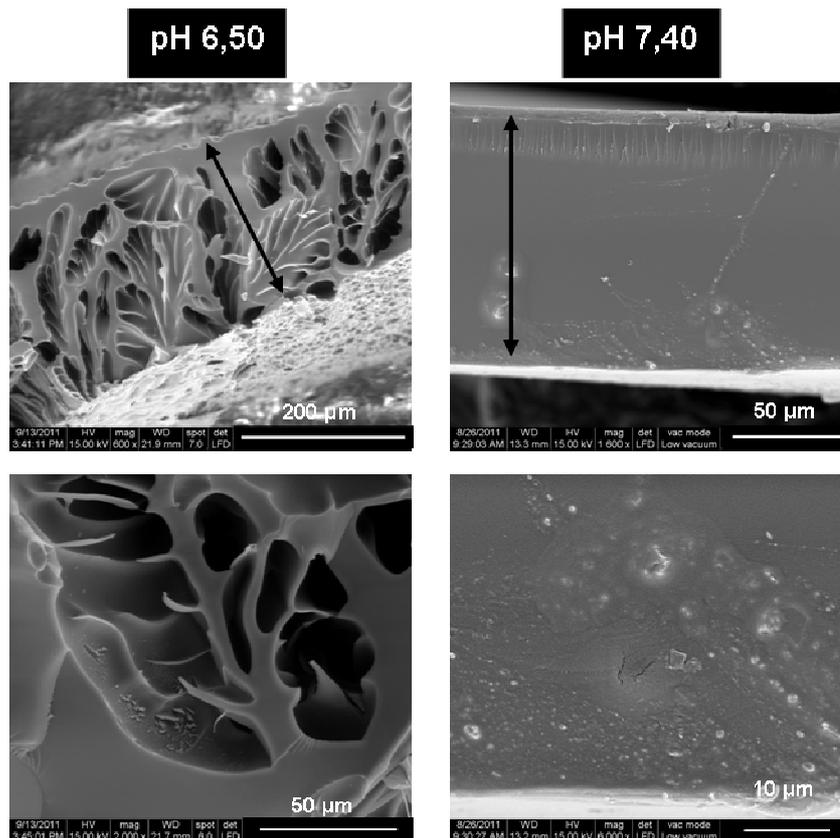


Figura III.4.2.2.6. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD70/30-3 hidratado a pH 6,50 (izquierda) y 7,50 (derecha); con una magnificación de 1000X (superior) y 2000X (inferior).

En la Figura III.4.2.2.6 se observa una diferenciación en la morfología interna del hidrogel HD70/30 con el aumento del porcentaje de entrecruzador de 1 a 3 % p/p. En este, a pH 6,50 la organización pasa de ser en poros con un aspecto circular (para 1 % p/p de entrecruzador) a presentar poros más interconectados de forma más irregular. Cuando el pH sube a 7,40 la matriz se cierra, y se observa un corte transversal compacto sin presencia de poros. A pesar de que la morfología interna del hidrogel cambia al variar el grado de entrecruzamiento, el efecto que produce la variación del pH en la estructura interna es el mismo que con 1 % p/p de entrecruzador. La matriz pasa de un estado abierto a un estado colapsado cuando se alcaliniza el medio.

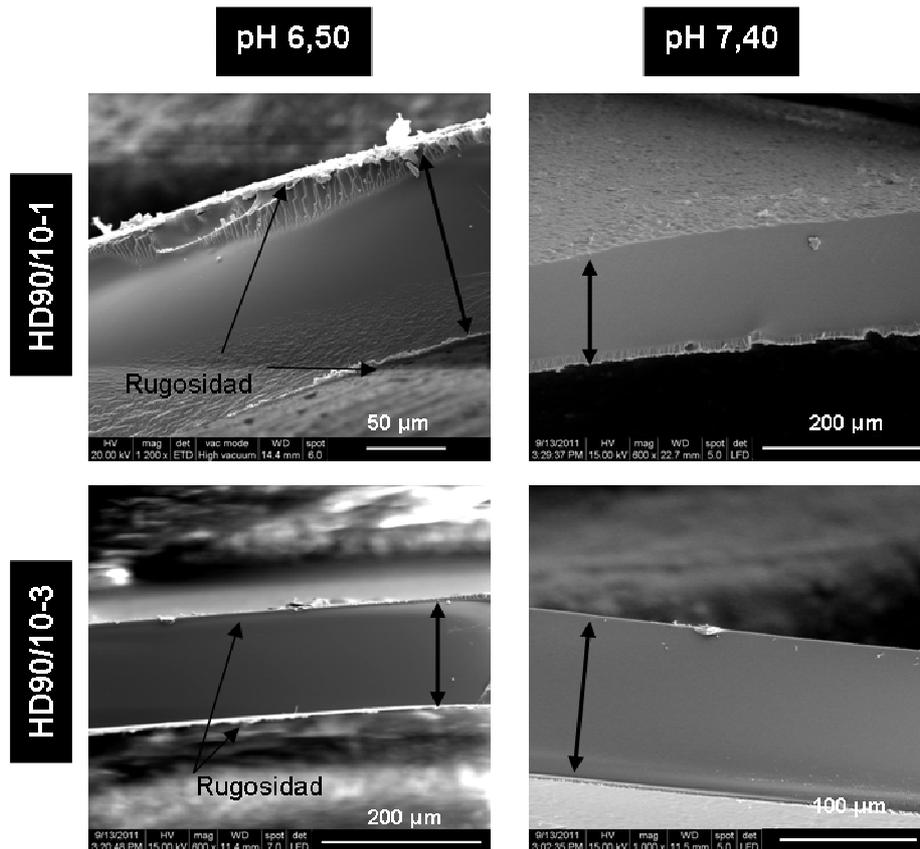


Figura III.4.2.2.7. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD90/10 con 1 % p/p (superior) y 3 % p/p (inferior) de entrecruzador, hidratadas a pH 6,50 (izquierda) y 7,40 (derecha).

En la Figura III.4.2.2.7 se muestran las imágenes correspondientes a la sección transversal para las películas HD90/10-1 y HD90/10-3 hidratadas a pH 6,50 y 7,40. Como se puede observar, en todos los casos se presenta una superficie interna homogénea y compacta. Como se discutió en la sección III.3.2.1, ambas muestras presentan un aumento en la absorción de agua al pasar de pH 7,40 a pH 6,50. A pesar de esto las muestras no presentaron, en las imágenes obtenidas con el SEM, un cambio visible en la morfología interna del hidrogel con la variación de pH para ambos porcentajes de entrecruzador.

No obstante, si se amplifica la imagen de la superficie para el copolímero HD90/10-1 a pH 6,50 y 7,40 (Figura III.4.2.2.8), se puede observar que, cuando el polímero se encuentra hinchado se aprecia en la superficie una estructura rugosa y porosa (como la mostrada en la Figura III.4.2.2.3-a), mientras que en el interior del hidrogel se observa una estructura compacta. Es decir que el cambio morfológico que acompaña el hinchamiento es superficial.

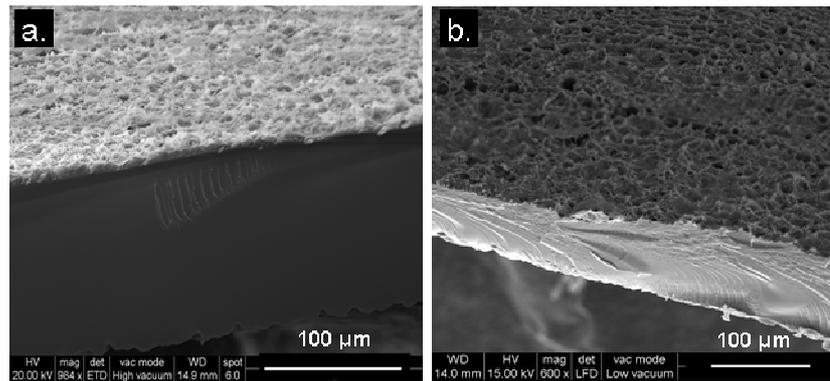


Figura III.4.2.2.8. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD90/10 con 1 % p/p de entrecruzador: a) pH 6,50 y b) pH 7,40. En ambas imágenes se puede diferenciar entre la morfología rugosa presente en la superficie, y la morfología compacta hallada en el interior del hidrogel.

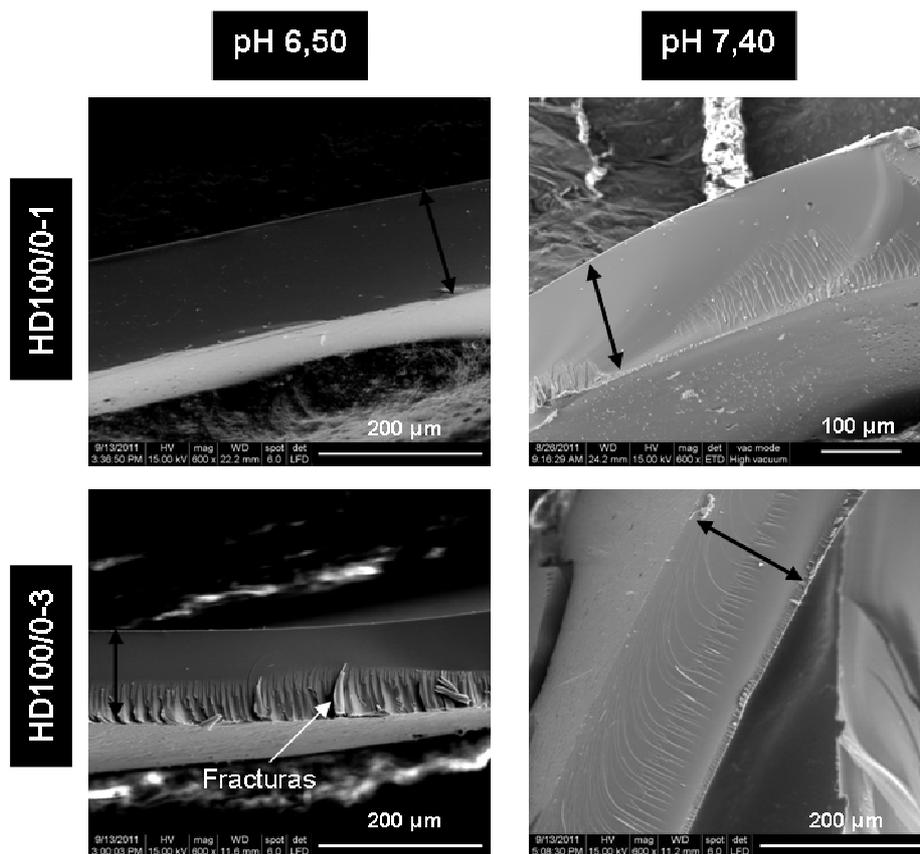


Figura III.4.2.2.9. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD100/0 con 1 % p/p (superior) y 3 % p/p (inferior) de entrecruzador, hidratadas a pH 6,50 (izquierda) y 7,40 (derecha).

En las muestras de pHEMA, Figura III.5.2.4.9, se observa una estructura interna compacta al igual que en las muestras con 10 % p/p de DPA. En este caso se aprecia una mayor cantidad de fracturas, producidas por el tratamiento de la muestra, que probablemente se deba a que el pHEMA en estado seco presenta una mayor rigidez. Asimismo no se presentan cambios significativos en la morfología del pHEMA, con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, al variar el pH. Este resultado concuerda con el hecho de que el homopolímero de pHEMA no presenta propiedades pH responsivas en este rango de pH, como se comprobó durante los ensayos de hinchamiento.

III.4.3. CONCLUSIONES

En los xerogeles los valores de θ_{App} se encuentran entre 72 y 85 °, lo que indica que la humectabilidad de la superficie es entre media y alta. En los copolímeros el valor de θ_{App} es más alto con respecto al de pHEMA, lo cual refleja la naturaleza más hidrofóbica del DPA, y la naturaleza más hidrofílica del HEMA en estas condiciones.

En los hidrogeles hidratados con solución salina 0,9 % p/v los valores de θ_{App} se modifican principalmente para las muestras de pHEMA, con respecto a las medidas realizadas en el estado de xerogel. En este caso el ángulo de contacto aumenta cuando la película se encuentra en estado hidratado como consecuencia de que los grupos polares se orientan hacia el interior por estar inmersos en un entorno hidrofílico, y por ende el ángulo de contacto es mayor. En los copolímeros no se observa una diferencia significativa en el θ_{App} entre el estado seco e hidratado, dado que su hidrofília depende fundamentalmente del estado iónico de su mero.

Tomando los valores obtenidos para Etafilcon[®] A y Lotrafilcon[®] A como referencia, se concluye que los resultados obtenidos para los copolímeros, son comparables a los valores del θ_{App} de las lentes de contacto comerciales, es decir que presentan una buena humectabilidad y son materiales potencialmente aptos para su uso como lentes de contacto.

Se observan cambios en el ángulo de contacto cuando se varía el pH del medio de hidratación, principalmente para los copolímeros con 30 % p/p de DPA. En este caso, a medida que se acidifica el medio el ángulo de contacto aumenta. Este efecto se encuentra relacionado con la rugosidad y el tamaño de poro superficial observado en las imágenes de SEM.

Finalmente se puede concluir que en los copolímeros HEMA/DPA, la respuesta a cambios de pH, observada por la técnica gravimétrica a través del hinchamiento, también está acompañada por cambios morfológicos internos y superficiales. Además los cambios apreciados por SEM se correlacionan cualitativamente con los cambios en el contenido acuoso cuando se comparan los resultados para diferentes composiciones y grados de entrecruzamiento.

Por otra parte, se espera que los copolímeros presenten la capacidad de modificar la liberación del PA en función de los cambios morfológicos observados al variar el pH. De esta forma y si no hay otros factores predominantes como fuerzas de interacción o efectos asociados a la solubilidad del PA, los sistemas con mayor tamaño de poro presentarán una mayor velocidad de liberación del PA, mientras que para aquellos más compactos será menor.

III.5. PROPIEDADES ÓPTICAS

En esta sección se estudian las propiedades ópticas como la transmitancia y el índice de refracción de los hidrogeles sintetizados, con el objetivo de evaluar sus potenciales aplicaciones en la elaboración de lentes de contacto como medio de corrección óptica.

III.5.1. PARTE EXPERIMENTAL

III.5.1.1. Transmisión de luz visible

La transmitancia de los hidrogeles se determinó empleando la técnica de espectroscopia UV-Visible, explicada en la sección III.1.1. En este caso la transmitancia de las películas hidratadas en BF se midió por duplicado en el rango de 350 a 700 nm.

Para las medidas de transmitancia, las películas fueron apenas escurridas y se montaron sobre el centro de un vidrio de cuarzo (Kim J. y col., 2008). Las determinaciones fueron hechas por duplicado. De igual forma se midieron las transmitancias de las películas conteniendo el principio activo, a fin de determinar si éste modifica o altera de alguna manera la transmisión de luz. Los resultados de esta última parte se presentan en la sección IV.3.3. En todos los casos la transmitancia reportada corresponde al promedio de las medidas individuales.

III.5.1.2. Índice de refracción

El índice de refracción de los materiales se midió empleando un refractómetro de Abbe, Carl Zeiss, de acuerdo a la norma ISO 18369-4:2006. Las películas se hidrataron previamente en solución salina al 0,9 % p/v durante 24 horas (Nichols J.J. y Berntsen D.A., 2003). Las medidas se hicieron por duplicado, empleando la línea D del sodio (589,3) a temperatura ambiente. Los datos se corrigieron para expresar los valores a una temperatura de referencia, empleando la siguiente relación:

$$nt_2D = nt_1D + F(T_1 - T_2) \quad (\text{Ec. III.5.1.2.1})$$

En donde:

nt_1D = Índice de refracción medido a la temperatura de referencia T_1 , para la longitud de onda de la línea D de la luz del sodio.

nt_2D = Índice de refracción a la temperatura T_2 , para la longitud de onda de la línea D de la luz del sodio.

F = factor de corrección específico para líquidos o sólidos.

T_1 = Temperatura de referencia.

T_2 = Temperatura a la que se efectuó la lectura.

La disminución del índice de refracción al aumentar en 1 °C la temperatura se corrige empleando un factor de corrección (F), donde $F = 0,00045$ para líquidos y $F = 0,00001$ para sólidos. La corrección se realizó empleando el factor F de sólidos, y los resultados se calcularon para la temperatura de 34 °C. Las determinaciones se hicieron por duplicado, tomando diez medidas, y los resultados se expresan hasta la cuarta cifra decimal para el promedio de diez medidas.

III.5.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.5.2.1 Transmisión de luz en el espectro visible

La transmitancia es una propiedad óptica que define la cantidad de luz que atraviesa un cuerpo para una determinada longitud de onda. Cuando un haz de luz incide sobre un cuerpo traslúcido, una fracción de esa luz es absorbida o dispersada, mientras que la fracción restante pasa a través del mismo. El porcentaje de luz que atraviesa ese cuerpo se define como transmitancia y está dada por:

$$T(\%) = \left(\frac{I}{I_0} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. III.5.2.1.1})$$

donde, I es la cantidad de luz transmitida por la muestra e I_0 es la cantidad total de luz incidente para una determinada longitud de onda. La transmitancia del material depende de su composición química, pureza, grado de hidratación e índice de refracción entre otros factores.

Una de las características más importantes que reunir un material, para ser usado en la fabricación de medios ópticos, es una alta transmitancia en la zona del espectro en el cual empleé; que en el caso particular de los materiales que se utilizan en la fabricación de lentes oftálmicas (anteojos, lentes de contacto, ayudas ópticas) corresponde a la zona del espectro visible.

En algunas terapias se requiere del uso de lentes que posean una absorción selectiva del espectro visible, a fin de tratar o compensar determinadas afecciones oculares. Por ejemplo, lentes con absorción en el rojo para terapias de fijación, opacas para tratamientos de albinismo, absorción en el rojo o verde para discromatopsias, etc. El uso que se les da a estas lentes también se incluye dentro de la clasificación de uso

terapéutico, aunque el objetivo específico de esta aplicación difiere del objetivo del presente trabajo. Durante el empleo de las lentes de contacto terapéuticas como sistema de liberación controlada de fármacos, además de que esta funcione como reservorio, también se busca que no altere la calidad visual. Para ello la transmisión debe ser uniforme en todo el espectro visible, de lo contrario se producirán cambios en la percepción del color debido a la absorción selectiva de determinadas longitudes de onda. Una de las principales ventajas de su uso en los tratamientos farmacológicos es que no afectan la calidad visual del paciente, a diferencia del empleo de ungüentos, geles o injertos.

A continuación se discutirán los resultados de transmitancia obtenidos para los extremos del espectro de luz visible (400 nm y 700 nm); y para 555 nm que corresponde a la longitud de onda estándar para la visión fotópica. Los valores de transmitancia obtenidos para las películas de p(HEMA-co-DPA) hidratadas a pH 7,4 se muestran en la Tabla III.5.2.1.1. Se puede observar que las películas poseen altos valores de transmisión de luz que superan el 93 %, con un valor mínimo de 93,43 % y un valor máximo de 97,35 % en la región de la luz visible.

Tabla III.5.2.1.1. Valores de transmitancia a 400, 555 y 700 nm, para las películas de p(HEMA-co-DPA) hidratadas a pH 7,40.

HEMA/DPA	Transmitancia (%)		
	400 nm	555 nm	700 nm
100/0-1	96,0	95,7	96,5
100/0-3	94,9	96,1	96,9
90/10-1	95,7	97,3	97,3
90/10-3	93,4	95,1	95,6
70/30-1	94,1	96,3	96,9
70/30-3	94,2	96,1	97,1

Los valores obtenidos son similares a los publicados para las lentes de contacto comerciales, que oscilan en 93 % de transmisión de luz para la línea de 555 nm (Saona Santos, C. L, 1999). Por otro lado, no se observan diferencias significativas en la transmitancia en el espectro visible al variar la composición y/o el entrecruzador.

III.5.2.2. Índice de refracción

El índice de refracción (n) es una propiedad óptica importante para la fabricación de lentes oftálmicas, y se utiliza para determinar sus parámetros, como son los radios de curvatura y el espesor. Además sirve como control de calidad en la fabricación de los polímeros (Saona Santos C.L., 1999). Su determinación depende de la longitud de onda y de la temperatura. Generalmente se emplea la línea D del sodio y la temperatura de 35 °C para informar el índice en los materiales para las lentes de contacto (Saona Santos).

Las lentes de contacto se consideran ópticamente como lentes gruesos, dado que su espesor, comparado con su corto radio de curvatura, tiene significancia óptica. Por lo tanto para determinar sus parámetros se emplea la fórmula del constructor de lentes gruesos, definida como (Saona Santos C.L., 1999):

$$P = P_1 + P_2 - \frac{e}{n}(P_1 P_2) \quad (\text{Ec. III.5.2.2.1})$$

donde, P es la potencia óptica final del lente, P_1 y P_2 son las potencias de la cara anterior y posterior del lente respectivamente, e es el espesor central, y n el índice de refracción del material. La relación entre la potencia y el radio de curvatura (R_c) de un lente está dada por:

$$P = \frac{(n_1 - n_2)}{R_c} \quad (\text{Ec. III.5.2.2.2})$$

donde, n_1 es el índice del material y n_2 es el índice del medio externo. Se deduce a partir de la Ecuación III.5.2.2.1, que cuanto más alto sea el índice de refracción del material, menor será el espesor de la lente. Un valor pequeño de espesor en el lente de contacto, tiene como ventajas una mayor comodidad, mejor centrado, una mayor transmisibilidad al oxígeno y un menor peso; pero como desventajas presenta una mayor tendencia a la rotura y deformación.

En el caso particular de las lentes de contacto de hidrogel de pHEMA, el espesor también presenta una relación directa con la deshidratación del lente, un menor espesor presenta una mayor tendencia a la deshidratación. Las consecuencias que trae aparejada la deshidratación son visión borrosa, edema corneal, ojo rojo, daño epitelial, entre otras (IACLE, 2000).

Es a causa de todo lo mencionado que generalmente se busca que el índice de refracción sea alto, pero siempre y cuando, esto no se traduzca en una desventaja como son el aumento en la reflexión de la luz o del peso del material (IACLE, 2000).

En la Tabla III.5.2.2.1 se muestran los valores correspondientes al índice de refracción obtenidos para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA).

Tabla III.5.2.2.1. Índices de refracción para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas en solución salina fisiológica a 34,0 °C.

HEMA/DPA	Entrecruzador % p/p	n	SD
100/0	1	1,4434	0,0009
	3	1,4492	0,0008
90/10	1	1,4314	0,0018
	3	1,4402	0,0009
70/30	1	1,4380	0,0015
	3	1,4453	0,0025

Los lentes de contacto comerciales poseen índices de refracción en el rango de 1,35 a 1,49 a 34 °C (Saona Santos C.L., 1999). Los valores obtenidos se encuentran por lo tanto dentro de ese rango especificado, estando cerca del valor promedio. En este caso, la incorporación del DPA reduce el índice de refracción de las películas, posiblemente al tener un grupo pendiente de mayor tamaño, en comparación con el del HEMA, las cadenas del polímero se agrupan en una forma menos compacta cuando se incrementa la proporción de DPA. De esta forma la alteración del recorrido de la luz en el interior del material es menor; y el índice de refracción es menor (Salvadó Arqués, J. y Fransoy Bel, M., 2000). La suposición del aumento en el volumen interno del hidrogel también se apoya en los resultados de densidad, donde al aumentar el DPA se obtienen valores de densidad más bajos como se verá en la sección III.6.2.1.

Por otro lado en todos los casos el índice aumenta con el grado de entrecruzamiento. Esto se puede deber a la combinación de dos factores: por un lado a una reducción del contenido de agua, ya que existe una relación directa entre n y el CA (Nichols J.J. y Berntsen D.A., 2003); y por otro debido a que el incremento en la densidad del medio también modifica el recorrido de la luz.

Conociendo el índice de refracción del material se puede determinar el porcentaje de luz que se pierde por reflexión utilizando la fórmula de Fresnel (considerando que el material está sumergido en el aire, con un $n' = 1$), y donde R es el valor del coeficiente de reflexión (Salvadó Arqués, J. y Fransoy Bel, M., 2000):

$$R\% = \frac{(n-1)^2}{(n+1)^2} \quad (\text{Ec. III.5.2.2.3})$$

De esta ecuación se desprende que cuanto más elevado es el índice de refracción, mayor es la pérdida por reflexión. El porcentaje de pérdidas por reflexión en función de los índices de refracción obtenidos se encuentra entre 3,4 a 3,1 % (Tabla III.5.2.2.2). Los valores de R coinciden con los obtenidos para dos lentes comerciales. Siendo 2,8 % para Etafilcon[®] A (Johnson y Johnson), y 3,2 % para Lotrafilcon[®] A (Ciba Vision), cuyos índices de refracción medidos (empleando la misma técnica) son 1.4084 y 1.4328 respectivamente.

Tabla III.5.2.2.2. Coeficiente de reflexión óptica para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador; y para las lentes comerciales: Etafilcon[®] A (Johnson y Johnson) y Lotrafilcon[®] A (Ciba Vision).

HEMA/DPA	entrecruzador % p/p	R (%)
100/0	1	3,3
	3	3,4
90/10	1	3,1
	3	3,3
70/30	1	3,2
	3	3,3
Etafilcon[®] A		2,8
Lotrafilcon[®] A		3,2

III.5.3. CONCLUSIONES

De acuerdo a los discutido en este capítulo se puede concluir que los copolímeros p(HEMA-co-DPA) presentan propiedades ópticas, tales como transmitancia e índice de refracción, que los hacen materiales aptos para su aplicación en la fabricación de lentes de contacto.

El incremento del contenido de DPA produce una disminución de los valores del índice de refracción, mientras que el incremento de entrecruzador conduce a un incremento del mismo.

III.6. OTRAS PROPIEDADES

En esta sección se determinará la densidad de los hidrogeles utilizando la técnica de picnometría.

III.6.1. PARTE EXPERIMENTAL

III.6.1.1. Determinación de la densidad.

Para determinar de la densidad de los hidrogeles se utilizó un picnómetro. Empleando una balanza analítica se realizaron las siguientes medidas en un cuarto acondicionado a 20 °C.

- Se pesaron las películas hidrataron en agua milli-Q durante 24 h ($P_{e,h}$).
- Se pesó el picnómetro seco y limpio (P_s).
- Se pesó el picnómetro seco más la película hidratada.
- Se colocó la película dentro del picnómetro, se llenó con agua milli-Q hasta enrasar, y se pesó todo el sistema (P_T).
- Se pesó el picnómetro con agua milli-Q (P_a).

Para calcular la densidad primero se calculó la masa de agua que incorpora el picnómetro (A_t) como:

$$A_t = P_a - P_s \quad (\text{Ec. III.6.1.1.1})$$

El agua residual (A_r), es decir el agua que permaneció en el picnómetro luego de incorporar la película, se calculó a partir de:

$$A_r = P_T - P_s - P_{e,h} \quad (\text{Ec. III.6.1.1.2})$$

y el agua desplazada (A_d) por la película se calculó:

$$A_d = A_t - A_r \quad (\text{Ec. III.6.1.1.3})$$

A partir del valor de densidad del agua a la temperatura de medida y de A_d , se calculó el volumen de agua desplazado, que corresponde al volumen de la película.

Luego con los valores del volumen y la masa de la película se determinó la densidad de la misma en mg/l. El valor final fue el promedio de diez medidas.

III.6.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

III.6.2.1. Densidad del hidrogel.

La densidad del material cobra importancia en la adaptación del lente, sobre todo en lentes rígidos, dado que influye en la posición que adopta el mismo sobre la córnea. Además tiene íntima relación con el índice de refracción del material (Salvadó Arqués, J. y Fransoy Bel, M., 2000; Saona Santos C.L., 1999). En la Tabla III.6.2.1.1 se muestran los valores de densidad obtenidos para los hidrogeles sintetizados en este trabajo.

Tabla III.6.2.1.1. Valores de densidad (δ) y desviación estándar (SD), obtenidos para los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) a 20°C.

	Entrecruzador 1 % p/p		Entrecruzador 3 % p/p	
	δ (mg/l)	DE (n = 5)	δ (mg/l)	DE (n = 5)
HD100/0	1,107	0,006	1,230	0,003
HD90/10	1,098	0,002	1,211	0,002
HD70/30	1,059	0,003	1,205	0,004

DE: Desviación estándar; n: número de medidas.

Se puede observar que la densidad es máxima en las películas de pHEMA puro. Esto se condice con los resultados obtenidos para el índice de refracción, ya que la densidad y el índice de refracción disminuyen al aumentar la proporción de DPA.

Por otro lado al comparar igual composición HEMA/DPA con diferente grado de entrecruzamiento, se puede observar, que la densidad aumenta con el grado de entrecruzamiento como era de esperarse. El incremento del entrecruzador genera una red tridimensional más cerrada y compacta, y de esta forma disminuye el volumen por unidad de masa del material. También se puede observar que el efecto del aumento del entrecruzador sobre los valores de densidad es mayor que el efecto generado por la variación en la composición HEMA/DPA.

III.6.3. CONCLUSIONES

Los valores de densidad se corresponden con los resultados de índice de refracción, y estos se incrementan con el aumento del porcentaje de entrecruzador y de HEMA.

III.7. BIBLIOGRAFIA

- Arndt KF, Zander P. Characterization of polymer networks by measurements of the freezing point depression. *Colloid Polym. Sci.* 1990; 268:806-13.
- Bagby G, Lehrle RS, Robb JC. Kinetic measurements by micropyrolysis-GLC: Thermal degradation of polymethylmethacrylate possessing lauryl-mercaptyl end groups. *Polymer*, 1968; 10: 683-690.
- Bajpai AK, Shukla SK, Bhanu S, Kankane S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 2008; 33: 1088–1118.
- Bertie JE, Lan ZD. Infrared Intensities of Liquids XX: The Intensity of the OH Stretching Band of Liquid Water Revisited, and the Best Current Values of the Optical Constants of H₂O (l) at 25°C between 15,000 and 1 cm⁻¹. *Appl. Spectrosc.* 1996; 50: 1047 - 1057.
- Bilyeu B, Brostow W, Menard KP. Compuestos epóxidos termoestables y sus aplicaciones III. Ecuaciones cinéticas. *J. Mater. Ed.* 2001; 23: 203-219.
- Brannon-Peppas L, Peppas NA. Equilibrium swelling behaviour of dilute ionic hydrogels in electrolytic solutions. *J. Controlled Rel.* 1991; 16: 319–330.
- Brannon-Peppas L, Peppas NA. Equilibrium swelling behaviour of dilute ionic hydrogels in electrolytic solutions. *J. Controlled Rel.* 1991; 16: 319–330.
- Brostow W, Chiu R, Kalogeras IM, Vassilikou-Dova A. Prediction of glass transition temperatures: Binary blends and copolymers. *Materials Letters*, 2008; 62: 3152–3155.
- Brunski JD. An Introduction to Materials in Medicine. *Biomaterials Science*, Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. 1996; pag. 37-50.
- Cuperus FP, Bargeman D, Smolders CA. Critical points in the analysis of membrane pore structures by thermoporometry. *J. Membr. Sci.* 1992;66:45-53.
- Demirelli K., Coşkun M, Kaya E. A detailed study of thermal degradation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Original Research Article *Polymer Degradation and Stability*, 2001; 72: 75-80.
- Díez Peña E. Desarrollo y caracterización de hidrogeles poliméricos con aplicación en la liberación controlada de fármacos. universidad complutense de madrid facultad de farmacia Madrid, 2002.
- Efon N., Sung YK, Gregonis DE, John MS, Andrade JD. Thermal and pulse NMR analysis of water in poly(2-hydroxyethyl methacrylate). *J Appl. Polym. Sci.* 1981;26: 3719–28.
- Elliotta J., Hamertona I., Haya JN, Shawb SJ. Synthesis and characterisation of novel methyl methacrylate-2- (dimethylamino)ethyl methacrylate copolymer salts containing polymerisable anions. *Polymer*, 2003; 44: 3775–3784.
- Eustathopoulos N., Nicholas MG, Drevet B. (1999). Wettability at high temperatures. Pergamon, Materials Series, 1999.

- Faria M.D.G, Teixeira-Dias J.J.C., Fausto R. Vibrational spectra and structure of methyl trans-crotonate. *Vibrational Spectroscopy*, 1991; 2: 107–123.
- Ferreira L, Vidal M.M., Gil M.H. Evaluation of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) gels as drug systems at different pH values. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000; 194: 169–180.
- Filho GR, Bueno WA. Water states of Cuprophane (hemodialysis membrane). *J. Membr. Sci.* 1992;74:19-27.
- Fitzgerald PA., Amalvy JI, Armes SP, Wanless EJ. Film-Forming Microgels for pH-Triggered Capture and Release. *Langmuir*, 2008;24: 10228–10234.
- Fox TG, Bull AM. Influence of diluent and of copolymer composition on the glass temperature of a polymer system. *Phys. Soc.* 1956; 1: 123.
- Gabbot P. Principles and applications of thermal analysis of polymers. Ed. Blackwell, 2008; Cap. 1, 3 y 6.
- González-Méijome JM, López-Aleman A, Lira M, Almeida JB, Elisabete M, Real Oliveira CD, Parafita MA. Equivalences Between Refractive Index and Equilibrium Water Content of Conventional and Silicone Hydrogel Soft Contact Lenses From Automated and Manual Refractometry,. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 80B, 2007; pag. 184–191.
- Gordon M, Taylor JS. Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers. i. non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem.* 1952; 2: 493-500.
- Grassie N. Chemistry of high polymer degradation processes. London: Butterworths, 1956.
- Handbook of Organic Compounds: NIR, IR, Raman, and UV-Vis Spectra Featuring Polymers and Surfactants, Jerry Workman Jr. Editor, Academic Press; 1 edition, 2000; espectro 412.
- Hatada K, Kitayama T, Fujimoto N, Nishiura T. Stability and Degradation of Polymethacrylates with Controlled Structure. *J. Macromol. Sci., Pure & Appl. Chem.* 1993; 30: 645-667.
- Higuchi, A. Iijima T. D.s.c. investigation of the states of water in poly(vinyl alcohol) membranes. *Polymer* 1985; 26:1207-11.
- Higuchi, A. Iijima T. D.s.c. investigation of the states of water in poly(vinyl alcohol-co-itaconic acid) membranes. *Polymer* 1985; 26:1833-7.
- Hirokawa Y, Tanaka T. Volume phase transition in a nonionic gel. *J. Chem. Phys.* 1984; 81: 6379-6380.
- Hoffman AS, Afrassiabi A, Dong LC. Thermally reversible hydrogels II. Delivery and selective removal of substances from aqueous solutions. *J. Controlled Release*, 1986; 4: 213-227.

III. Caracterización de los hidrogeles.

- Hoffman AS. A) Liquid and Solid Surface Energies; B) Liquid Contact Angles on Solid Surfaces. Lecture on Contact Angles, May 4, 2005. <http://www.uweb.engr.washington.edu/education/pdf/ASHsurfscontact%20angles05.pdf>.
- IACLE Contact Lens Course, primera edición. Módulo 2: introducción a las lentes de contacto. Sydney, Australia, 2000.
- ISO 18369-4:2006 Ophthalmic Optics – Contact lenses – Part 4: Physiochemical properties of contact lens materials. Section 4.5 Refractive index.
- Jelliken HHG, Mark HF, Gaylord NG, Bikales NM, editors. Encyclopedia of polymers science and technology, 1996; 4.
- Jin L, Deng Y, Hu J, Wang C. Preparation and Characterization of Core–Shell Polymer Particles with Protonizable Shells Prepared by Oxyanionic Polymerization. *J Polym. Sci. Polym. Chem.* 2004; 42, 6081–6088.
- Kang HM, Cai YL, Lui PS. Synthesis, characterization and thermal sensitivity of chitosan-based graft copolymers. *Carbohydr. Res.* 2006; 341:2851-7.
- Kanome S. Fundamental chemistry and physical properties of polymer materials. In: Iwata S, editor. Menicon–Toyo’s 30th anniversary special compilation of research reports. Nagoya: Menicon–Toyo Contact Lens Co. Ltd.; 1982; Chapter 6.
- Kasper JC, Friess W. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2011; 78: 248–263.
- Kim J, Chauhan A. Dexamethasone transport and ocular delivery from poly(hydroxyethyl methacrylate) gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 353: 205 – 222.
- Kristiansson O. Investigation of the OH stretching vibration of CD3OH in CCl4 . *J. Mol. Struct.* 1999; 477: 105 - 111
- Kulbida A, Ramos MN, Markku Rasanen, Nieminen J, Otto Schrems O, Fausto R. Rotational isomerism in acrylic acid. A combined matrix-isolated IR, Raman and ab initio molecular orbital study. *Chem. Soc., Faraday Trans.* 1995; 91: 1571-1585.
- Kwei TK. The effect of hydrogen bonding on the glass transition temperatures of polymer mixtures. *J. Polym. Sci. Lett.* 1984; 22: 307-313.
- Li D, Brisson J. Hydrogen bonds in poly(methyl methacrylate)-poly(4-vinyl phenol) blends: 1. Quantitative analysis using FTi.r. spectroscopy. *Polymer*, 1998; 39: 793 – 800.
- Lin CC, Metters AT. Hydrogels in controlled release formulations: Network design an mathematical modeling. *Advance Drug Delivery Reviews*, 2006; 58: 1379 – 1408.
- Lucas EF, Soares BG, Monteiro E. Caracterização de Polímeros, E-papers, Rio de Janeiro, 2001.

- Luengo Rico G. Mezcla de polímeros. Estudio de su compatibilidad. Facultad de Ciencias Químicas, 1993, Madrid, Tesis Doctoral.
- Mano JF. Propiedades térmicas de los polímeros en la enseñanza de la ciencia en materiales e ingeniería – estudios DSC sobre poli (tereftalato de etileno) J. Mater. Ed. 2003; 25: 155-170.
- Mathiowitz E. Encyclopedia of Control drug delivery. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1999; 1 y 2.
- Menard KP. Dynamic Mechanical Analysis — An Introduction, CRC Press, Boca Raton, FL, 1999.
- Menczel JD, Prime RB. Thermal analysis of polymers. Fundamentals and applications. Ed. Wiley, 2009; Cap. 2 y 3.
- Morita S, Kitagawa K, Ozaki Y. Hydrogen-bond structures in poly(2-hydroxyethyl methacrylate): Infrared spectroscopy and quantum chemical calculations with model compounds. Vibrational Spectroscopy, 2009; 51: 28–33.
- Musthafa Z. Tesis: Caracterización de superficies poliméricas mediante la técnica de ángulo de contacto. Aplicación al látex de poliestireno como sistema modelo. Granada, 1999; Cap. IV.
- Navarro Cassu S. Poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl pyrrolidone) blends: miscibility, microheterogeneity and free volume change. Polymer, 1997; 38: 3907-3911.
- Nichols JJ, Bernsten DA. The assessment of automated measures of hydrogel contact lens refractive index. Ophthal. Physiol. Opt. 2003 23: 517–525.
- Nichols JJ, Lynn Mitchell G, Good GW. The Reliability and Validity of Hand-Held Refractometry Water Content Measures of Hydrogel Lenses. Optometry and Vision Science, 2003;80, No. 6.
- Noller CR. Química de los compuestos orgánicos. Editorial Médico Quirúrgica, 1961, capítulo 32.
- Ohara K. Poly-(+)-2-methylbutyl acrylate. Preparation, IR and NMR spectra, optical rotatory dispersion and ultraviolet spectra. Die Makromolekulare Chemie, 1971; 142: 75–80.
- Ohara K. Ultraviolet spectrum study of polymethyl acrylate. Die Makromolekulare Chemie, 1971; 142: 69–74.
- Pardini FM., comunicación personal, agosto de 2012.
- Park K, Shalaby WS, Park H. Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery. Technomic Publishing Company, Inc., Basel, 1993; pag. 1-12 y 35-66.
- Pedley D.G., Tighe B.J. Water binding properties of hydrogel polymers for reverse osmosis and related applications. Br. Polym J. 1979; 11: 130– 6.

- Ping ZH, Nguyen QT, Chen SM, Zhou JQ, Ding YD. States of water in different hydrophilic polymers — DSC and FTIR studies. *Polymer*, 2001; 42: 8461-8467.
- Pinzón N, Espinosa A, Perilla J, Hernández E, Katime I. Modelamiento del hinchamiento y difusión de solutos en hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2002; 3.
- Gupta P, Vermani K, Garg S, 2002. Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today*, 2002; 7: 569–579.
- Quinn FX, McBrierty VJ, Wilson AC, Friends GD. Water in hydrogels. 3-Poly hydroxyethyl methacrylate/saline solution systems. *Macromolecules* 1990; 23:4576–81.
- Ratner BD, Weathersby PK, Hoffman AS, Kelly MA, Scharpen LH. (1978): Radiation-grafted hydrogels for biomaterial applications as studied by the ESCA technique. *J. Appl. Polym. Sci.* 1978; 22: 643-664.
- Rault J, Gref R, Ping ZH, Nguyen OT, Neel J. Glass transition temperature regulation effect in a poly(vinyl alcohol)-water system. *Polymer*, 1995; 36: 1655-1661.
- Rozsa C, Danay D, Galego N, Cyras V, Vázquez A. Miscibilidad de mezclas poliméricas de polihidroxicanoatos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 2004; 5.
- Russell G.A., Anne Hiltner P.A., Gregonis D.E., de Visser A.C., Andrade J.D. Thermal and dynamic mechanical relaxation behavior of stereoregular poly(2-hydroxyethyl methacrylate). 1980; 18:1271–1283.
- Salvadó Arqués J, Fransoy Bel M. Tecnología óptica. Lentes oftálmicos, diseño y adaptación. 1^{era} edición, Ed. UPC, S.L., Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España, 2000.
- Saona Santos, C.L. Lentes de contacto. 1^{era} edición , Ed Scriba, S.A., Barcelona, España, 1999. cap 5 y 6.
- Scherer JR, Bailey GF, Kint SRY, Malladi DP, Bolton B. Water in polymer membranes. 4. Raman scattering from cellulose acetate Films. *J. Phys. Chem.* 1985; 89:312-9.
- Schneider H.A. Conformational Entropy Contributions to the Glass Temperature of Blends of -Miscible Polymers *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* 1997; 102: 229.
- Serrano Saldaña E. Tesis: Tensión interfacial y mojabilidad de sistemas sólido/salmuera/n-dodecano: estudio experimental del efecto de la fuerza iónica y de la concentración de surfactante. Universidad Autonoma Metropolitana. México DF, Mayo 2002.
- Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J. Spectrometric identification of organic compounds. Séptima edición John Wiley & Sons, Inc. 2002 New York.
- Solomon DH. Abnormal Groups in Vinyl Polymers. *J. Macromol. Sci. Chem.* 1982; 337-367.
- Tasaka M, Suzuki S, Ogawa Y, Kamaya M. Freezing and nonfreezing water in charged membranes. *J Membr Sci* 1988; 38: 175–83.

- Tranoudis I., Efron N. Water properties of soft contact lens materials. *Contact Lens & Anterior Eye*, 2004; 27: 193–208.
- Tu H, Heitzman CE, Braun PV. Patterned poly(N-isopropylacrylamide) brushes on silica surfaces by microcontact printing followed by surface-initiated polymerization. *Langmuir*, 2004; 20: 8313–8320.
- Turi EA. *Thermal Characterization of Polymeric Materials*. New York, 1997, Academic Press.
- Urdahl KG, Peppas NA. Anomalous penetrant transport in glass polymers V. Cyclohexane transport in polystyrene. *Journal of Applied Polymer Science*, 1987; 33: 2669-2687.
- Wall LA. Pyrolysis In: Kline G.M. Editor. *High Polymers XII*. 1962.
- Wei L, Jianli W, Lizhuang Z, Shuquan Z. Synthesis and characteristic of the thermo- and pH-sensitive hydrogel and microporous hydrogel induced by the NP-10 aqueous two-phase system. *European Polymer Journal*, 2008; 44: 3688–3699.
- Xue W, Hamley IW, Huglin MB. Rapid swelling and deswelling of thermoreversible hydrophobically modified poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels prepared by freezing polymerization. *Polymer*, 2002; 43: 5181–5186.
- Zulfiqar S., Kausar M.T. McNeill I.C. Thermal degradation of phenyl methacrylate-methyl methacrylate copolymers. *Polym. Degrad. Stab.* 1987; 17: 327-339.
- Yin Y., Ji X., Dong H., Ying Y., Zheng H. Study of the swelling dynamics with overshooting effect of hydrogels based on sodium alginate-g-acrylic acid. *Carbohydr. Polym.* 2008; 71: 682–689.

IV. ESTUDIO DE HIDROGELES COMO SISTEMAS DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE PRINCIPIOS ACTIVOS

Un tratamiento con medicamentos exitoso requiere que se administre la cantidad apropiada de dicho fármaco en el sitio de acción específico. Para poder lograr este resultado, se deben tener en cuenta diferentes factores al momento de diseñar una estrategia de administración como son: el lugar de aplicación, el tipo y magnitud de variables del entorno, la velocidad de liberación frente a los cambios del entorno, los niveles de fármaco deseados, las características del sistema polimérico empleado, las características y propiedades fisicoquímicas del fármaco, y la interacción fármaco sustrato. En este capítulo se estudia el desempeño de los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) como sistemas de captación y liberación de principios activos para terapias oculares, y su capacidad de controlar la velocidad de liberación a través de cambios en el pH del medio.

En primer lugar se realiza un estudio sobre la capacidad de incorporar principios activos, para ello se emplean diferentes compuestos y se varían las condiciones de incorporación para comprender como funciona el sistema sintetizado y en un futuro poder predecir que otros compuestos y en qué condiciones pueden ser incorporados. En segundo lugar se analizan las interacciones entre algunos principios activos incorporados y la matriz de los polímeros a fin de comprender los fenómenos, el comportamiento obtenido en las experiencias de captación y los resultados que posteriormente se obtienen en las experiencias de liberación. En tercer lugar se estudian la capacidad de liberar los principios activos incorporados y como varían los tiempos y cantidades del compuesto liberado frente a diferentes condiciones de pH para las distintas composiciones de los hidrogeles y grados de entrecruzamiento.

A continuación se describen los materiales y principios activos empleados en todo el capítulo, las posibles estrategias de carga, las condiciones del potencial lugar de aplicación, los factores que influyen en la liberación y el análisis matemático del mismo.

Materiales empleados

Parámetros como la composición del polímero, el grado de entrecruzamiento, y las dimensiones del material juegan un papel importante en la determinación del comportamiento de liberación. Los sistemas que se ensayaron son los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de HEMA con 1 y 3 % de entrecruzador; con dimensiones similares a las lentes de contacto. El homopolímero del DPA (pDPA) no se ensayará debido a que no presenta buenas propiedades para su uso como material en la fabricación de lentes de contacto (propiedades de hinchamiento y mecánicas y dureza inadecuadas que no se muestran en este trabajo). Estos sistemas se agrupan dentro de la clasificación de sistemas matriciales, en los cuales el fármaco se encuentra distribuido homogéneamente en el interior del material.

Principios activos

Diversos estudios realizados en hidrogeles compuestos a base de HEMA o siliconas empleados en lentes de contacto blandos comerciales, mostraron que la capacidad de incorporar fármacos depende de muchos factores como: el contenido de agua del hidrogel, el espesor de la lente, el peso molecular del fármaco, la concentración de la solución de carga, la solubilidad del fármaco en la matriz de gel, el tiempo de inmersión del hidrogel en la solución, y las interacciones específicas entre el fármaco y la matriz del hidrogel.

A fin de estudiar estos factores se emplearon diferentes principios activos (PA) y condiciones de carga. Las moléculas que se utilizaron como principios activos son de dos tipos, como se adelantó en el capítulo I, colorantes y fármacos. En una primera etapa se usaron colorantes a fin de estudiar el comportamiento general del sistema mediante un seguimiento cualitativo (visual) y cuantitativo (espectroscópico) y en una segunda etapa se estudió el comportamiento específico del sistema para su aplicación en terapias oftalmológicas empleando para ello fármacos oculares.

Los colorantes usados son rodamina 6G (R6G), azul de metileno (AM) y rosa de bengala (RB) y los fármacos son: dexametasona-21 fosfato (DXP), timolol maleato (TM) e ibuprofeno (IBP). Las aplicaciones y características de todas estas moléculas se encuentran descriptas en el capítulo I.

Incorporación del PA en el hidrogel

Dentro de los posibles métodos para la incorporación del PA, mencionados en el capítulo I, los más utilizados son la adición del PA en la mezcla de polimerización; o por inmersión del polímero, ya sintetizado, en una solución de PA. En el primer método el fármaco se incorpora a la mezcla de polimerización (compuestas por los monómeros y el iniciador), y se lleva a cabo la reacción de polimerización atrapando el fármaco en la matriz polimérica. La ventaja de este método es que permite definir la cantidad de PA que se quiere incorporar en la matriz. Sin embargo, presenta como desventajas que el PA puede reaccionar o interaccionar con alguno de los componentes durante la síntesis, y requiere que además sea estable frente a las condiciones de reacción (temperatura, luz, etc.). El segundo método consiste en sumergir el xerogel en una solución concentrada del PA. El hinchamiento del polímero provoca la difusión del PA desde la solución concentrada hacia al interior del hidrogel, impulsado por la presión osmótica y el gradiente de concentración. Este método permite obtener sistemas más inertes, debido a presenta la posibilidad de lavar del hidrogel, y así eliminar todos los componentes que no han reaccionado durante la síntesis, en una etapa anterior a su carga. Además los porcentajes de PA liberado son mayores que los obtenidos con el primer método de carga en las mismas condiciones. La mayoría de los ensayos con lentes de contacto comerciales se realizan por este método ya que demostró ser más eficaz que la colocación de la gota sobre el lente ya adaptado en el paciente (Ruben M. y Watkins R., 1975). La desventaja es que no permite controlar la cantidad de PA incorporado y en algunos casos la capacidad de carga del hidrogel con este método puede ser inadecuada.

Ante lo expuesto, en este trabajo se seleccionó el método de inmersión como método de carga. Una estrategia que se empleará como método adicional para contrarrestar los inconvenientes mencionados con el método elegido, es modificar la capacidad de carga del hidrogel al cambiar su expansión mediante la variación del pH de la solución de carga.

Vía de administración tópica

El lugar de aplicación potencial los hidrogeles de este trabajo es el segmento externo del globo ocular donde el material entra en contacto directo con la película lagrimal.

La película lagrimal normal tiene un volumen entre 5 y 10 μl , un espesor de 5 a 10 μm (Van Hearingen N.J., 1981), el flujo lagrimal normal es aproximadamente de 0,5 a 2,2 $\mu\text{l}/\text{min}$ y disminuye con la edad, y presenta una temperatura entre 34 a 35 $^{\circ}\text{C}$.

La película lagrimal está compuesta por lípidos (polares y no polares o de baja polaridad), proteínas (IgA, IgM, IgE, IgG, albúmina, lisozima, etc.), glucosa, y minerales (electrolitos) entre otros compuestos. La concentración de los electrolitos presentes en la lágrima se presenta en la Tabla IV.1.1 (Baeyens V. y Gurny R, 1997).

Tabla IV.1.1.1. Concentración de los electrolitos presentes en la lágrima.

Ion	Concentración promedio (mmol/l)
Cl^-	135 ± 17
Na^+	$142 \pm 16,8$
K^+	$29,0 \pm 3,1$
HCO_3^-	26 ± 8
Ca^{+2}	0,6
Mg^{+2}	$0,3 \pm 0,6$

Tanto la determinación de la composición de la película lagrimal, como las propiedades físicas de la misma (presión osmótica, pH, volumen) dependen sustancialmente del método de recolección de la película lagrimal y del método analítico empleado para determinarla, es por ello que existe una gran discrepancia entre los valores obtenidos por diferentes autores (Van Hearingen N.J., 1981).

La presión osmótica normal de la lágrima está entre 300 y 305 mOsm/l, lo que equivale a una solución de cloruro de sodio entre 0,9 y 1,0 % p/p, sin embargo variaciones entre 0,6 y 1,3 % p/p son bien toleradas por el ojo, mientras que por fuera de esos límites se experimentan molestias oculares (Mastman G.J. y col., 1961).

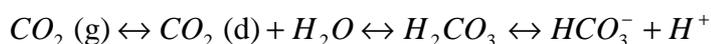
Muchos autores han determinado como valor promedio un pH de 7,4, aunque las determinaciones más actuales empleando un microelectrodo y midiendo *in situ* determinan valores levemente inferiores con un valor medio de $7,11 \pm 1,5$ (Coles W. y Jaros P., 1984), $6,93 \pm 2,4$ (Nom M.S., 1988) y $7,50 \pm 0,16$ (Carney L.G. y col., 1989). Con otros métodos menos precisos (Coles W, Jaros P., 1984) como colorimetría, tiras indicadoras de pH, etc., se han reportado valores entre 6,5 y 8,4. Las diferencias encontradas también se deben al bajo volumen lagrimal, a la pérdida de dióxido de

carbono durante la toma de la muestra (Van Heringen N.J., 1981) y principalmente al tiempo de exposición del ojo abierto.

El pH lagrimal luego de un periodo prolongado de ojo cerrado es notablemente más ácido que el valor obtenido en vigilia. Esta disminución del pH es resultado de los productos ácidos, generados por las condiciones relativamente anaeróbicas durante el cierre palpebral prolongado, y del aumento de la concentración de CO₂, que permanece atrapado en la película lagrimal en esas condiciones (Van Heringen N.J., 1981; Moses R.A. y Hart W.M., 1988). Cuando los ojos están abiertos se produce un aumento del pH debido a la pérdida de CO₂. El mecanismo amortiguador normal mantiene el pH en un nivel relativamente constante durante las horas de vigilia, variando entre 7,3 y 7,7 (Moses R.A. y Hart W.M., 1988) a lo largo del día en un determinado sujeto.

Sin embargo se ha demostrado que la capacidad buffer de la lágrima es limitada, cuando se instilan soluciones o suspensiones con valores de pH alejados del valor promedio. Comúnmente son tolerados cambios de pH entre 6,6 y 7,8; por fuera de estos valores se produce una molestia ocular.

El buffer lagrimal está regulado principalmente por el sistema bicarbonato/ácido carbónico (Butty P., 1995):



Algunas lesiones corneales tienden a producir una reacción alcalina en las lágrimas (Moses R.A. y Hart W.M., 1988), mientras que la estimulación de la secreción refleja, y el parpadeo generan una disminución del pH ocular (Coles W, Jaros P. 1984). También se han observado modificaciones en el valor de pH en otros estados patológicos como alergias oculares, pacientes con rosácea, infecciones bacterianas y síndrome de ojo seco (Norn M.S., 1968).

Debido a las dificultades para trabajar con bicarbonato/ácido carbónico en condiciones *in vitro*, usualmente se utiliza solo bicarbonato de sodio, en conjunto con otras sales (ver Tabla I.1.1.) para simular una solución lagrimal artificial. Sin embargo el pH de estas soluciones se encuentra alrededor de 8,26 (Ali M. y col., 2007) y no es posible lograr un pH más bajo debido a la potente acción amortiguadora del bicarbonato. Es por ello que en este trabajo se emplea como medio fisiológico el buffer fosfato de sodio (BF) para poder obtener un amplio espectro de pH (ver Tabla VI.2.2.2.1 en el apéndice). El valor de pH promedio adoptado es de 7,40 y el cambio en

la respuesta del sistema p(HEMA-co-DPA) fue evaluado en el rango de pH de 6,50 a 8,40.

Liberación del PA en el hidrogel

Para evaluar la liberación se realizarán ensayos de cesión del PA *in vitro*, en condiciones acumulativas en diferentes medios de pH para películas circulares (con dimensiones similares a las de las lentes de contacto), a fin de conocer el comportamiento de las mismas.

Los mecanismos por los cuales funcionan los sistemas de liberación controlada se diferencian en función del proceso que involucran, y se distinguen la difusión, erosión, y el hinchamiento seguido de difusión. Sin embargo para un dado sistema pueden tener lugar uno o más mecanismos combinados. En los sistemas responsivos la liberación ocurre principalmente por el cambio en la estructura de la matriz del polímero (generalmente su hinchamiento y tamaño) frente a estímulos externos.

El transporte o liberación del fármaco por medio de un dispositivo polimérico de liberación controlada puede ser descrito por la clásica teoría de difusión de Fick. Esta teoría asume que el factor que gobierna el transporte del fármaco en polímeros es ordinariamente difusional (Peppas N.A. y Lowman A.M., 1999).

Para el caso del transporte en una dimensión, la ley de Fick puede expresarse como:

$$J_i = -D_{ip} \frac{\partial C_i}{\partial X} \quad (\text{Ec. IV.1.1})$$

dónde J_i es el flujo molar de la droga ($\text{mol.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$), D_{ip} es el coeficiente de difusión de la droga en el polímero, C_i es la concentración de la droga, X es la distancia que atraviesa el soluto y $\partial C_i/\partial X$ es el gradiente de concentración a través del eje de X .

Para muchos dispositivos de *delivery*, la velocidad de liberación puede ser dependiente del tiempo, en estos casos donde el proceso de difusión ocurre en condiciones no estacionarias se puede utilizar la segunda ley de Fick para analizar dicho comportamiento, la que escribe como:

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial X} \left(D_{ip} \frac{\partial C_i}{\partial X} \right) \quad (\text{Ec. IV.1.2})$$

Para tiempos cortos la ecuación IV.1.1 se puede resolver como:

$$\frac{M_t}{M_e} = 4 \left(\frac{D_{ip} t}{\pi l^2} \right)^{1/2} \quad (\text{Ec. IV.1.3})$$

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos

donde M_t y M_e es la cantidad de masa del fármaco liberada luego de un tiempo t y en el equilibrio a tiempo infinito respectivamente, y l es el espesor de la película. Esta ecuación es válida hasta el 60 % de la masa total liberada. Esta ecuación permite ajustar los sistemas donde el principal mecanismo de liberación de la droga es la difusión.

Existen muchos modelos que buscan describir el comportamiento de los sistemas que no pueden ser representados por la ley de Fick (Ecuación IV.1.3) y que son denominados como de comportamiento *anómalo*. Uno de ellos es el modelo de relajación molecular de Ritger and Peppas (1987-a y b) y se describe como:

$$\frac{M_t}{M_e} = k_p t^n \quad (\text{Ec. IV.1.1.4})$$

En este caso k incorpora características estructurales y geométricas del sistema, y n es el exponente de liberación y que permite describir cual es el o los mecanismos principales involucrados en el proceso de liberación.

En la Tabla IV.1.1.2 se muestran los diferentes mecanismos de liberación de acuerdo al valor del exponente de liberación n .

Tabla IV.1.1.2. Relaciones entre el valor del exponente n y el mecanismo y tipo de liberación en el modelo semi-empírico de Ritger-Peppas.

Valor de n	Mecanismo de transporte	Tipo de liberación
0,5	Difusión Fickiana	Dependiente del tiempo $f(t^{-1/2})$
$0,5 < n < 1$	Transporte no Fickiano (anómalo)	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$
1	Transporte caso II	Independiente del tiempo (orden cero)
$n > 1$	Transporte supercaso II	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$

Cuando el valor de n es igual a 0,5 la velocidad de difusión es menor que la velocidad de movimiento de las cadenas poliméricas, por lo tanto el mecanismo que regula la velocidad es la difusión Fickiana. Cuando el valor de n es igual a 1 el proceso de relajación es muy lento comparado con la difusión y por lo tanto la velocidad se encuentra regulada por dicho proceso, en este caso el mecanismo es denominado transporte caso II o de orden cero. Finalmente cuando n adopta valores entre 0,5 y 1 las

velocidades de ambos procesos presentan el mismo orden de magnitud, y por ende, el mecanismo es una combinación de ambos, y se denomina transporte anómalo.

Los valores de k y n se calcularán de la ordenada y la pendiente del gráfico del $\ln(M_t/M_e)$ en función de t de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\ln(M_t/M_e) = \ln k + n \ln t \quad (\text{Ec. IV.1.1.5})$$

IV.2. INCORPORACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS

En esta sección se estudia la influencia de diversos factores (el contenido acuoso de los hidrogeles, el peso molecular del fármaco, etc.) en la capacidad de carga de los hidrogeles de pHEMA y p(HEMA-co-DPA). Primero se analiza como incide la naturaleza, tamaño y solubilidad del principio activo en la incorporación de los mismos; luego se discute como afecta la variación del pH y la concentración de la solución de carga sobre la masa final de PA captado. Por último se describen las cinéticas de captación a fin de determinar la velocidad de incorporación.

IV.2.1. PARTE EXPERIMENTAL

El método elegido para incorporar el principio activo en las películas fue el de inmersión, como se indicó anteriormente. Las películas utilizadas fueron de forma circular de 13,0 mm de diámetro y espesores comprendidos entre 150 y 210 μm ($\pm 5 \mu\text{m}$). Las películas secas se colocaron en un recipiente con agitación constante, fijando la temperatura de carga en 25,0 $^{\circ}\text{C}$ controlada con un baño termostatzado (desviación $\pm 0,3 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

El medio empleado para preparar las soluciones de los PA fue buffer fosfato de sodio (BF) 0,1 M, el pH del medio y la concentración de la solución de carga se fijaron de acuerdo al PA y el objetivo experimental.

La evaluación de la capacidad de absorción se realizó utilizando dos tipos de compuestos como PA, por un lado colorantes modelos: rodamina 6G (R6G) de pureza 95 % de Sigma, azul de metileno (AM) p.a. de Merck, y rosa de bengala (RB) p.a. de Cicarelli; y por otro lado fármacos empleados en oftalmología: dexametasona-21 fosfato (DXP), pureza 100,2% de Parafarm, timolol maleato (TM) pureza 99,63 % de Parafarm e ibuprofeno (IBP), pureza 98,68 % de Parafarm. Las propiedades de los PA empleados se encuentran en la Tabla IV.2.2.1.1.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

La cantidad de principio activo incorporado por la película se obtuvo midiendo la absorbancia UV-visible de la solución de carga antes y después de colocar la película (una vez alcanzado el equilibrio) utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Fluorat®-02-Panorama, Lumex, Rusia. Los miligramos de PA incorporados se obtuvieron por diferencia entre los miligramos iniciales finales de la solución, aplicando la ley de Lambert-Beer, y empleando las curvas de calibración que se encuentran en el apéndice VI.3.2. En el apéndice en la sección VI.3 se presentan los espectros de absorbancia UV-visible de los principios activos empleados, y en la Tabla IV.1.1.3 se indican las longitudes de onda seleccionadas para su cuantificación.

Tabla IV.1.1.3. Longitudes de onda seleccionadas para la cuantificación por espectroscopia UV-Visible de los principios activos empleados.

PA	Longitud de onda (nm)
Rodamina 6G (R6G)	348 y 526*
Azul de metileno (AM)	290
Rosa de bengala (RB)	550
Ibuprofeno (IBP)	242
Dexametasona-21 fosfato (DXP)	242
Timolol maleato (TM)	294

* 348 para la incorporación, y 526 para la liberación

Las cinéticas de incorporación se determinaron de igual forma, pero registrando los cambios en las concentraciones del principio activo remanente en la solución de carga a diferentes tiempos.

IV.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.2.2.1. Relación entre las características del principio activo y su incorporación

En la Tabla IV.2.2.1.1 se presentan las características de todos los PA empleados para caracterizar la capacidad de carga de los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA), y pHEMA. Para un mejor análisis, los resultados fueron separados en dos grupos: la incorporación de los PA modelos; y la incorporación de principios activos de uso terapéutico.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

Tabla IV.2.2.1.1. Propiedades de los principios activos empleados en este trabajo.

Propiedades	Principio Activo					
	AM	R6G	RB	DXP	IBP	TM
Peso molecular	319,85	479,02	1017,65	516,41	206,29	432,49
pKa	ND	ND	ND	ND	4,4	9,21
Solubilidad en agua a 25 °C (mg/ml)	43,6 x10 ³	20	> 362	500	< 1	soluble
% iónico	sal catiónica	sal catiónica	sal aniónica	sal aniónica	99,21 (ác. débil)	99,80
Polaridad	polar	polar	polar	polar	baja polaridad	polar
Naturaleza química/ Familia	Fenotiazina	Xanteno	Xanteno	Glucocorticoide	Derivado del ácido propiónico	Tiadiazol derivado
Fórmula	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ S	C ₂₈ H ₃₁ Cl N ₂ O ₃	C ₂₀ H ₂ Cl ₄ I ₄ Na ₂ O ₅	C ₂₂ H ₂₈ FNa ₂ O ₈ P	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	C ₁₃ H ₂₄ N ₄ O ₃ S. C ₄ H ₄ O ₄

AM: azul de metileno; R6G: rodamina 6G; RB: rosa de bengala; DXP: dexametasona-21 fosfato; IBP: ibuprofeno; TM: timolol maleato; ND: no disponible.

Incorporación de principios activos modelos

La masa incorporada de los principios activos modelos, cargados a pH 6,50 se presenta en la Tabla IV.2.2.1.2. Los valores obtenidos indican que tanto las características del PA como las del material afectan la máxima captación.

Los copolímeros presentan una mayor incorporación de RB comparados con el homopolímero de HEMA. Lo cual se puede deber a que al pH de carga de 6,50 los copolímeros tienen un tamaño de poro mucho mayor que las películas de pHEMA (ver sección III.4.2). Esto permite que la matriz capte principios activos con alto peso molecular, como es el caso de RB cuyo valor es de 1017,65 g/mol. Los valores de RB incorporados para HD90/10 y HD70/30 son similares, es decir en este caso la composición del copolímero no parece afectar significativamente la carga de RB.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

Tabla IV.2.2.1.2. Valores finales de principios activos modelos incorporados (en miligramos por gramo de película) empleando una solución de carga de 25 mg/l en BF a pH 6,50 y 25 °C.

PA	HEMA/DPA	Grado de entrecruzamiento (% p/p)			
		1		3	
		mg/g de película	DE (n = 2-3)	mg/g de película	DE (n = 2-3)
RB	70/30	15,1	0,60	12,7	0,50
	90/10	15,4	0,78	14,1	0,84
	100/0	5,9	0,87	8,7	0,92
R6G	70/30	6,1	0,09	4,2	0,90
	90/10	7,3	0,57	7,7	0,06
	100/0	16,7	1,14	13,7	1,08
AM	70/30	0,2	0,15	0,2	0,11
	90/10	0,8	0,30	0,9	0,29
	100/0	5,3	0,50	5,5	0,60

DE: desviación estándar; n: número de medidas.

Uno de los mayores desafíos en el desarrollo de materiales biomédicos para liberación controlada es el transporte de moléculas con altos pesos moleculares. En este sentido los copolímeros presentarían una ventaja al demostrar que pueden incorporar moléculas de gran tamaño. Determinar cuál es el límite superior de peso molecular puede ser motivo de trabajos futuros.

En las películas de pHEMA la captación de rodamina 6G es mayor comparada con la obtenida de RB, posiblemente debido a que el peso molecular de la R6G (479,02 g/mol) es menor que el del RB, lo que permite una mejor difusión hacia el interior de estos hidrogeles. Dicho resultado concuerda con lo expuesto por Aquavella, quién determinó que los principios activos que pueden penetrar la matriz de los hidrogeles, empleados en conjunto con lentes de contacto, son aquellos con un peso molecular menor de 500 g/mol (Aquavella J.V., 1976).

Teniendo en cuenta que: durante la carga del PA la fase acuosa del hidrogel se encuentra en equilibrio con la solución de carga, y la concentración de la droga es la misma en las dos fases (Wajs G. y Meslard J.C., 1986); que la R6G es una molécula altamente soluble en agua; y que los hidrogeles con mayor contenido de DPA presentan

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

mayor contenido acuoso a este pH; se espera que la incorporación de R6G sea menor en los hidrogeles con menor contenido de DPA y menor CA. Sin embargo los resultados experimentales muestran que la incorporación de la R6G disminuye con el aumento del DPA. Es por ello que en este caso se postula que existe otro factor que influye en la captación de este PA, como puede ser la presencia de una interacción específica entre éste y la matriz del hidrogel.

Es oportuno indicar que la R6G y el RB pertenecen a la familia de los xantenos (ver datos en la Tabla IV.2.2.1.1.), y por ello se espera que presenten un comportamiento similar en la carga. A pesar de esto, la incorporación de uno u otro difiere significativamente en cuanto a su afinidad con la composición del hidrogel. Para comprender esta diferencia en el comportamiento se debe tener en cuenta el estado iónico que presenta la matriz al pH de carga y su interacción con estos compuestos. En la Figura IV.2.2.1.1 se presentan nuevamente las estructuras químicas de estas moléculas.

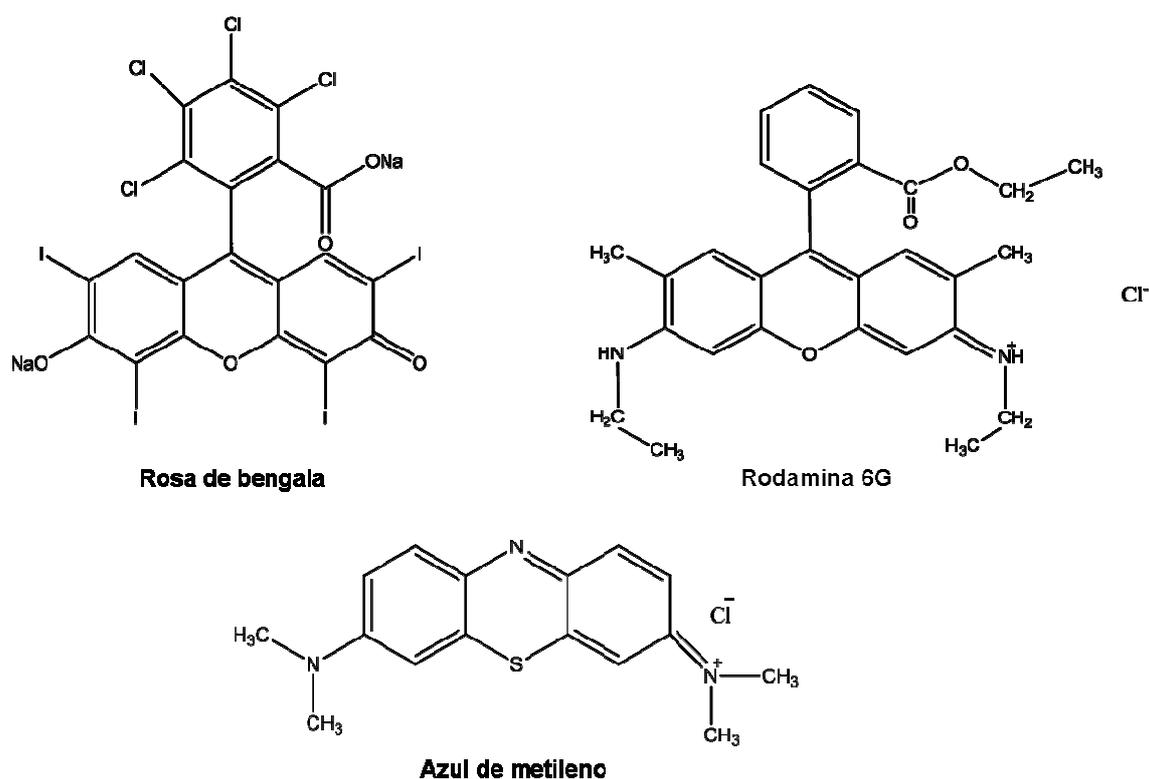


Figura IV.2.2.1.1. Estructuras químicas de las moléculas modelo.

En los copolímeros la capacidad de captar grandes volúmenes de agua a pH ácido, se debe al grado de protonación que presentan los grupos aminos del DPA. De

esta forma, en función del estado iónico, se pueden clasificar estos copolímeros como hidrogeles catiónicos. A un pH de carga de 6,50 los copolímeros se encuentran entre un 82,4 y 88,8 % de protonación (calculado a partir del pKa obtenido en la sección III.3.2.3). En esta circunstancia el hidrogel interactuará favorablemente con los PA que presenten un estado aniónico, como es el caso de RB que presenta un grupo carboxilato; que con PA catiónicos como es el caso de la R6G. En este último ejemplo, la repulsión electrostática entre los grupos catiónicos del hidrogel y la carga positiva de la R6G desfavorece su captación.

En los copolímeros la mínima incorporación se obtiene con AM, que junto con al R6G, presentan una menor incorporación comparada a RB debido probablemente a la interacción que presentan con la matriz.

En las películas de pHEMA la carga es mucho menor para AM que para R6G. Teniendo en cuenta que el peso molecular del primero es menor que el del segundo, y que ambos presentan una carga positiva, se puede suponer que esta diferencia es consecuencia de una interacción entre los grupos $=N^+(H)-$ de la R6G y los grupos OH del HEMA, que estaría favoreciendo su incorporación (ver sección III.1.2. FTIR).

En todos los casos no se observa una diferencia significativa entre diferentes grados de entrecruzador y la cantidad de PA incorporado. Es decir que las modificaciones generadas por el aumento del contenido de entrecruzador, como son la disminución del CA y el tamaño de poro, no tienen un efecto significativo sobre la carga de estos PA.

Si se comparan las imágenes fotográficas obtenidas de las películas cargadas con estos PA modelos (Figura IV.2.2.1.2) se pueden apreciar, de forma visual, las diferencias cualitativas en la cantidad de PA incorporado y el tamaño final de la película en función de la composición del hidrogel.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

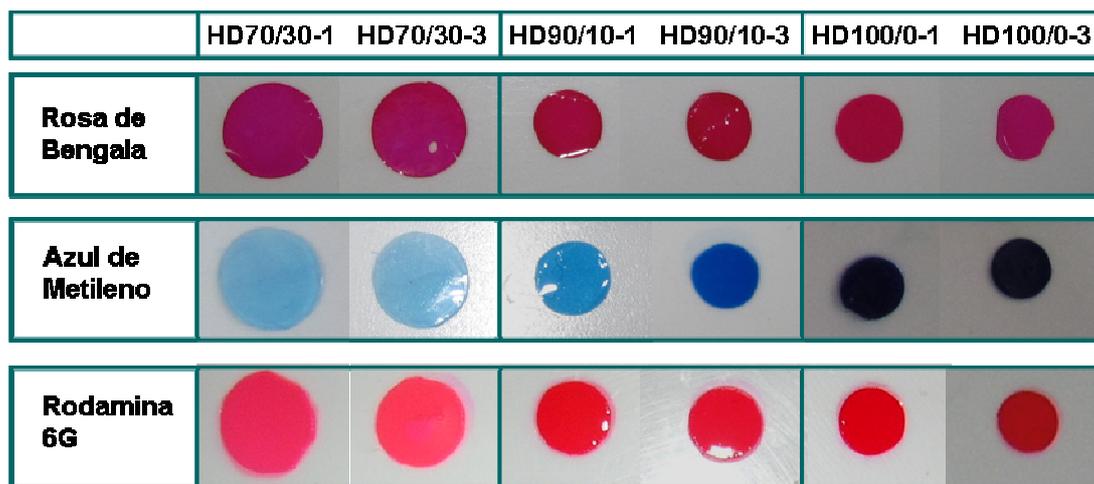


Figura IV.2.2.1.2. Imágenes fotográficas de las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA cargadas con rosa de bengala, azul de metileno y rodamina 6G.

Incorporación de principios activos de uso terapéutico

Se realizaron también ensayos de incorporación empleando los siguientes fármacos de uso terapéutico: timolol maleato (TM), dexametasona-21 fosfato (DXP) e ibuprofeno (IBP). Las estructuras químicas de estas moléculas se presentan nuevamente en la Figura IV.2.2.1.3.

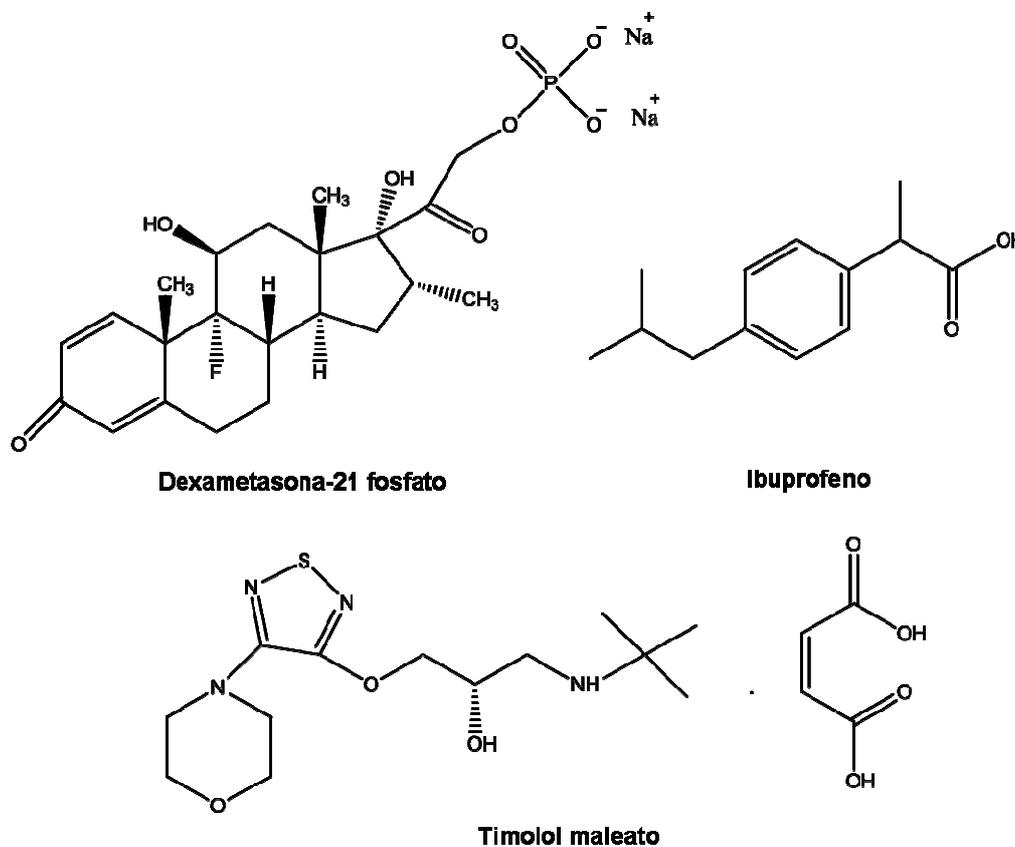


Figura IV.2.2.1.3 Estructuras químicas de los fármacos.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

La máxima captación de estos principios activos se presenta en la Tabla IV.2.2.1.3. Al igual que en el caso anterior, también se observan diferencias relacionadas con el tipo de fármaco y composición del polímero.

Tabla IV.2.2.1.3. Valores finales de PA incorporados (en miligramos por gramo de película) empleando una solución de carga de 200 mg/l en BF pH 6,50 y 25 °C.

HEMA/DPA	Grado de entrecruzamiento (% p/p)				
	1		3		
	mg/g de película	DE (n = 2- 3)	mg/g de película	DE (n = 2- 3)	
DXP	70/30	27,3	2,50	41,5	3,30
	90/10	15,1	2,30	17,3	2,60
	100/0	3,8	1,40	5,5	1,10
TM	70/30	0,6	0,60	0,4	0,90
	90/10	1,7	0,18	0,9	0,28
	100/0	2,6	1,09	2,4	0,52
IBP	70/30	24,4	1,02	24,4	2,63
	90/10	34,2	5,65	29,6	0,09
	100/0	47,2	1,00	41,9	2,93

DXP: dexametasona-21 fosfato de sodio; TM: timolol maleato; IBP: ibuprofeno; DE: desviación estándar; n: número de medidas.

La incorporación de DXP en los homopolímeros de HEMA es muy baja comparada con la de los copolímeros. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Karlgard y col. (Karlgard C.C.S. y col., 2003). Los autores estudiaron la incorporación de diferentes fármacos, entre ellos dexametasona-21 fosfato de sodio, en cinco lentes de contacto diferentes sintetizadas a base de HEMA. Ellos obtuvieron que para este PA todos los hidrogeles presentaban una baja captación, sin importar el estado iónico o el CA de los mismos. Esto fue explicado por la alta solubilidad (500 mg/mL) de esta droga, por lo cual es más razonable que se encuentre en la solución externa que en el entorno menos hidrófilo como en el interior del hidrogel (Karlgard C.C.S. y col., 2003). En el caso particular de este trabajo, la presencia de DPA aumenta la incorporación de este PA en medio ácido. Dado que la DXP es un compuesto polar con alta solubilidad y un PM medio, la hipótesis más razonable es la existencia de interacciones electrostáticas entre la forma catiónica del hidrogel y los aniones fosfato de la DXP, y por ello a mayor

porcentaje de DPA mayor es la incorporación de este compuesto. Más adelante se estudiará la variación de la captación de este PA al modificar el estado iónico de la matriz.

Por otra parte los valores de TM incorporados en los copolímeros son bajos, comparados con los valores obtenidos para los demás PA farmacéuticos indicados en la Tabla IV.2.2.1.3. Además, entre diferentes composiciones, se puede observar que su valor es mayor al aumentar la proporción de HEMA.

Si comparamos los resultados entre la DXP y el TM, ambos con pesos moleculares similares, podemos observar que los valores incorporados de cada uno en los hidrogeles de pHEMA son similares. Sin embargo para las películas con DPA, los valores para cada uno difieren en un orden de magnitud, siendo mayormente incorporado el compuesto de mayor PM (DXP). Es sabido que el peso molecular juega un papel importante en la incorporación del PA, cuanto menor es su peso molecular mayor es la incorporación del mismo (Tomic S.J. y col., 2007). Por lo tanto se puede inferir que la diferencia entre los niveles de carga de DXP y de TM se debe a que predominan los efectos de interacción entre la matriz y el PA.

Al valor de pH del ensayo (6,50), el TM presenta un grado de ionicidad aproximado de 99 % ($pK_a = 9,21$), mientras que los hidrogeles presentan un 88,8 % y un 86,3 % para HD70/30-1 y HD90/10-1 respectivamente. Al igual que sucede con la R6G y el AM, la baja incorporación del TM al aumentar el DPA, se atribuye a la poca afinidad entre la matriz de los copolímeros y el PA, como consecuencia de la repulsión electrostática entre los grupos protonados del DPA y los del TM.

Finalmente, la captación de TM en los copolímeros es baja, a diferencia de lo que se ha observado en otro trabajo con copolímeros de HEMA y ácido metacrílico (MAA). En dicho trabajo, los autores indican que el TM presenta interacciones con los grupos carboxilos del MAA del tipo iónico o por puente de hidrógeno, lo que posiblemente favorece su incorporación en esos hidrogeles. (Hiratani C. y Alvarez-Lorenzo C., 2002).

En el caso del IBP los valores incorporados son mayores que los obtenidos para los otros PA ensayados, probablemente esto se deba a que es la molécula con menor peso molecular. A su vez, la incorporación también depende de la composición del hidrogel, siendo inversamente proporcional a la cantidad de DPA presente. Si comparamos este resultado con los tamaños de poros de los hidrogeles, podemos

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

apreciar que el tamaño de poros es menor en el caso del pHMEA pero la incorporación es mayor. Por lo tanto es posible que este comportamiento se deba también a la presencia de una afinidad entre el PHEMA y el IBP.

Otro factor a tener en cuenta en la captación de un PA, es el contenido acuoso que presentan los hidrogeles. Muchos autores indican que hay una relación directa entre el CA y la capacidad de captación del PA (Wajs G. y Meslard J.C., 1986; Karlgard C.C.S. y col., 2003; Winterton L.C. y col., 2007; Xinming L. y col., 2008; Carmen Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006). Dado que se presenta un equilibrio entre la fase acuosa del hidrogel y la solución de carga (Wajs G. y Meslard J.C., 1986) se espera que la cantidad de la droga incorporada sea proporcional al volumen de agua en el hidrogel, como se indica en la ecuación IV.2.2.1.1. (Kim S.W. y col., 1992):

$$\text{Droga en la fase acuosa (p/p xerogel)} = \left(\frac{V_s}{W_p} \right) x Co$$

donde V_s es el volumen en la fase acuosa del hidrogel, W_p es el peso del hidrogel seco y Co es la concentración de la droga en la solución de carga.

En la Tabla IV.2.2.1.4 se resumen los valores de contenido acuoso obtenidos en la sección III.3.2.1 para los diferentes hidrogeles a pH 6,50.

Tabla IV.2.2.1.4. Contenido acuoso para las películas de p(HEMA-co-DPA) y PHEMA en BF a pH 6,50 y 25,0 °C.

	Entrecruzador (% p/p)	CA
HD100/0	1	30,95
	3	26,82
HD90/10	1	48,69
	3	42,62
HD70/30	1	73,03
	3	61,11

Si comparamos el CA con los valores de PA incorporados (Tablas IV.2.2.1.1 y IV.2.2.1.3) para cada composición, podemos ver que en este caso no hay una relación directa entre el CA y la carga para todos los PA. En hidrogeles responsivos debe tenerse en cuenta que el cambio de contenido acuoso está acompañado de un cambio en el estado iónico del material. En nuestro caso, dependiendo del PA la incorporación puede

umentar con el CA como es el caso de DXP y de RB, o disminuir con el aumento del mismo como es el caso de los demás compuestos (TM, R6G, AM e IBP).

Podemos concluir que en estos hidrogeles la incorporación de PA se encuentra mayormente influenciada por la interacción entre el hidrogel y el PA, más que con el contenido acuoso y el peso molecular. Los copolímeros presentan mayor capacidad de carga con compuestos aniónicos que catiónicos. En los casos en que hay una afinidad similar entre el PA y la matriz, se observa una mayor incorporación de los PA con menor peso molecular.

IV.2.2.2. Efecto del pH de la solución de carga sobre la cantidad de PA incorporado

Una de las propiedades más importantes que presentan los hidrogeles es su capacidad de absorber y retener en su interior grandes volúmenes de agua. Esta propiedad tiene un papel importante en la capacidad que presentan estos materiales de incorporar diferentes tipos de fármacos. Si se varía la cantidad de agua que incorporan los hidrogeles se espera que la incorporación final de los fármacos se modifique (Wajs G. y Meslard J.C., 1986). A su vez es sabido que cuando se coloca el xerogel (polímero seco) en una solución concentrada de PA, el hinchamiento del mismo provoca la difusión del PA desde la solución concentrada hacia al interior del hidrogel, hasta que finalmente alcanza un equilibrio. En sistemas responsivos controlados por el hinchamiento, el cambio de pH de la solución de carga puede de alguna forma modificar la cantidad o la forma de incorporación de los fármacos.

A continuación se discutirá el efecto del pH sobre la cantidad de PA incorporada en los hidrogeles, de forma tal de determinar la relación que existe entre los parámetros mencionados y, finalmente, determinar el pH más adecuado para la carga de los principios activos. Los PA que se ensayaron para este análisis son la R6G como PA modelo y DXP como fármaco de uso terapéutico. Ambos fueron seleccionados a partir de los resultados de carga obtenidos en la sección IV.4.2, además por su fácil manipulación y accesibilidad. En el caso de la DXP también se eligió por que no se generó coloración alguna en los hidrogeles, a diferencia del IBP.

Incorporación de DXP empleando soluciones de carga con diferentes pHs

A continuación en la Figura IV.2.2.2.1 se presentan las curvas de DXP incorporada en función del pH de la solución de carga en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA. En la Tabla IV.2.2.2.1 se resumen los valores de masa finales obtenidos.

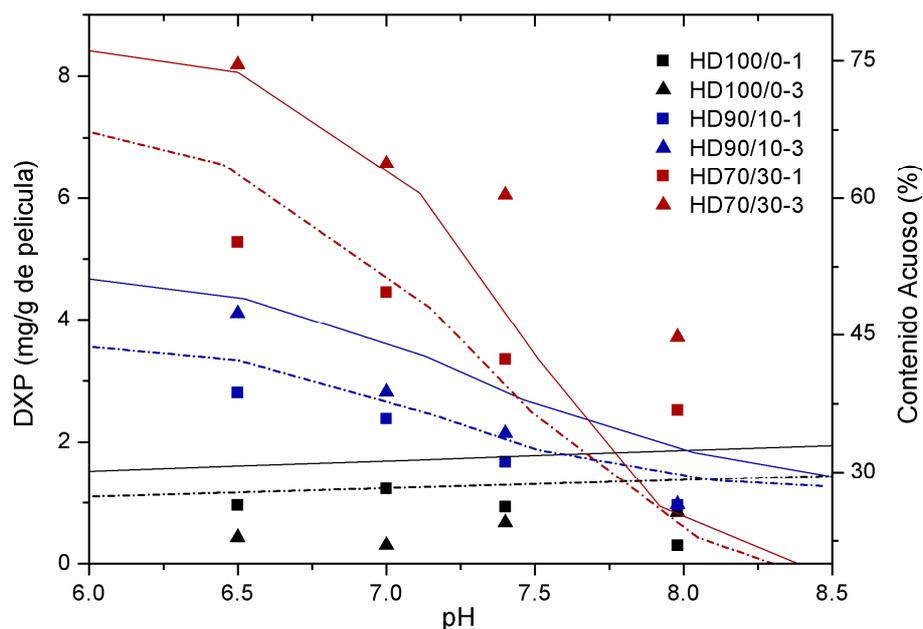


Figura IV.2.2.2.1. Masa de DXP incorporada en las películas HD70/30 (rojo), HD90/10 (azul) y HD100/0 (negro), a partir de una solución de 50 mg/l en BF a diferentes pHs (puntos); y contenido acuoso (líneas) en función del cambio de pH, obtenidos en la sección III.3.2 para 1 (línea continua) y 3 (línea punteada) % p/p de entrecruzador.

Podemos observar que en todo el rango de pH la carga de DXP es mayor cuanto mayor es la proporción de DPA. Así mismo se observa que en los copolímeros se produce un aumento en la incorporación de DXP al acidificar el medio. Este comportamiento se encuentra relacionado con la capacidad de hinchamiento que presentan estos hidrogeles cuando se encuentran en un medio a pH básico o ácido.

Particularmente los copolímeros sintetizados en este trabajo presentan propiedades pH responsivas, es decir que frente a cambios de pH se produce un cambio en su estructura interna lo que lleva a modificar su estado de hidratación, aumentando o disminuyendo su CA. En la Figura IV.2.2.2.1 se muestra el cambio de CA en los

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

hidrogeles en función del pH del medio. Como podemos apreciar existe una relación directa entre el CA y la cantidad de DXP incorporada en el rango de pH 6,50 a 7,40. A pH 6,50, el agua difunde al interior de la matriz generando un aumento del contenido acuoso, de esta forma se favorece la captación de DXP, mientras que cuando el contenido acuoso disminuye, al aumentar el pH, la captación también disminuye. En las películas HD70/30, el efecto del pH sobre la incorporación de este PA es mucho más acentuado, que en las películas de HD90/10, lo que coincide con el efecto del pH sobre el grado de hinchamiento. Por otra parte en las películas de pHEMA, la incorporación de DXP es muy baja y no presenta cambios con la variación del pH. Este resultado es consistente con el bajo CA en todo el rango de pH.

Tabla IV.2.2.2.1. Valores finales de DXP incorporada (mg/g de película) en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA, empleando soluciones de carga de 50 mg/l en BF (0,1M).

pH	HD70/30		HD90/10		HD100/0	
	1 % p/p	3 % p/p	1 % p/p	3 % p/p	1 % p/p	3 % p/p
6,50	5,3	8,2	2,8	4,1	1,0	0,4
7,00	4,5	6,6	2,4	2,8	1,2	0,3
7,40	3,3	6,0	1,7	2,1	0,9	0,7
8,00	2,5	3,7	1,0	1,0	0,3	0,8

A pH 8,00 (por arriba del pKa de las matrices poliméricas) no se presenta una correlación directa entre el CA y la incorporación de DXP. Podemos observar que en las películas HD70/30 el CA es menor en comparación con el de HD 90/10 y HD100/0, sin embargo la incorporación de DXP a este pH es mayor. Para comprender esta observación, se debe tener en cuenta que el CA no es el único factor que influye en la incorporación del PA, sino que también depende de otros factores como por ejemplo la afinidad entre el PA y la matriz, tal como se indicó en la sección anterior. A pesar de que el CA es menor, existe una interacción entre la DXP y el DPA que favorece la incorporación del mismo (ver sección IV.3.1.1, FTIR).

Por otra parte, como se discutió anteriormente, si comparamos el efecto del entrecruzador en la incorporación de DXP, vemos que el resultado es el mismo independientemente de los valores de pH ensayados. Al aumentar el grado de entrecruzamiento la incorporación de DXP aumenta.

Incorporación de R6G empleando soluciones de carga con diferentes pHs

Los valores finales de R6G incorporada a diferentes valores de pH se resumen en la Tabla IV.2.2.2. Si bien las masas finales incorporadas en los copolímeros son menores que las obtenidas para los homopolímeros de pHEMA, se observa un aumento en la cantidad de R6G incorporada a medida que se alcaliniza el medio.

Tabla IV.2.2.2.2. Valores finales de R6G incorporada (mg/g de película) en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA, empleando soluciones de carga de 50 mg/l en BF (0,1M).

pH	HD70/30		HD90/10		HD100/0	
	1 % p/p	3 % p/p	1 % p/p	3 % p/p	1 % p/p	3 % p/p
6,50	4,7	2,7	6,3	5,2	27,4	24,6
7,40	10,4	6,9	15,6	13,9	32,6	31,8
8,40	18,3	15,1	23,7	19,9	31,8	31,4

En la Figura IV.2.2.2.2 se presentan las curvas de la cantidad de R6G incorporada, en función del pH de la solución de carga, en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA, junto con el comportamiento del cambio de CA.

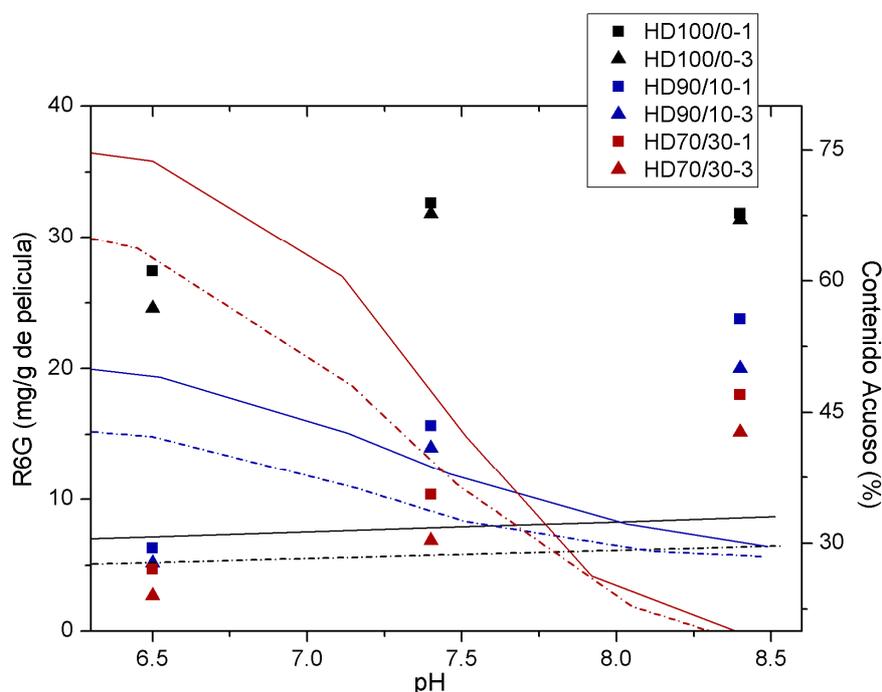


Figura IV.2.2.2.2. Masa de R6G incorporada en las películas HD70/30 (rojo), HD90/10 (azul) y HD100/0 (negro), a partir de una solución de 50 mg/l en BF a diferentes pHs (puntos); y contenido acuoso en función del cambio de pH (líneas) para 1 (línea continua) y 3 (línea punteada) % p/p de entrecruzador obtenidos en la sección III.3.2.

Podemos apreciar que en los copolímeros la incorporación de R6G no sigue el mismo comportamiento que el CA al variar el pH, lo que a su vez difiere de lo observado anteriormente con la DXP. En este caso se presenta una relación inversa entre ambos valores, al aumentar la absorción de agua disminuye la captación de este PA. Para comprender esta diferencia se debe tener en cuenta que a pH ácido, el CA aumenta como consecuencia de la protonación del grupo funcional del DPA, y por consiguiente la incorporación de R6G disminuye por la interacción electrostática entre la amina terciaria del DPA (parcialmente protonada) y el catión de la rodamina. A medida que aumenta el pH, la repulsión electrostática es menos marcada como consecuencia de la disminución del grado de ionización de la matriz, y por ello la incorporación de R6G aumenta en los copolímeros.

De esta forma se puede concluir que en este caso la incorporación del PA depende del pH del medio y se encuentra principalmente relacionada con la interacción entre la R6G y la matriz de los copolímeros. Los valores finales dependerán del equilibrio que se alcance entre el contenido de agua, que favorece la captación del PA, y el grado de protonación de los grupos amino del DPA del copolímero, que desfavorece la incorporación de R6G.

Los resultados indican que es posible modificar la incorporación final de PA variando el pH del medio de carga, en lugar de modificar los tiempos carga. De esta forma se puede regular la cantidad de fármaco incorporada al hidrogel en función de la dosis que se pretende liberar. Esto presenta una ventaja ya que la dosis de tratamiento depende de las características del paciente y del estado de gravedad de la patología (Katzung B.G., 2005). Además emplear películas cargadas en condiciones de equilibrio permite obtener velocidades de liberación más controladas y reproducibles (Leshner G.A. y Gunderson G.G., 1993; Jain M.R., 1988).

IV.2.2.3. Relación entre la concentración de la solución de carga y la cantidad de principio activo incorporado

Con el objetivo de determinar la relación entre la concentración de las soluciones de carga utilizadas y la cantidad de PA incorporado, se realizaron diferentes medidas a diferentes concentraciones. En la Figura IV.2.2.3.1 se muestran los valores máximos de carga obtenidos para la DXP empleando soluciones de 50, 100, 200 y 300 mg/l a pH 6,50 (Figura IV.2.2.3.1). Se puede observar que la cantidad de DXP incorporada aumenta en forma casi lineal con la concentración. En las películas HD70/30-3, la

incorporación es mayor y aumenta hasta un punto donde parece alcanzar una meseta o valor límite (alrededor de una concentración de 200 mg/l de DXP). En el caso de las películas HD90/10-3 y HD100/0-3, se observa un comportamiento lineal en el rango de concentraciones ensayadas. La diferencia que se aprecia entre los diferentes hidrogeles posiblemente se encuentre relacionada con la afinidad de los sitios de adsorción y el volumen interno del hidrogel disponible para la incorporación de PA.

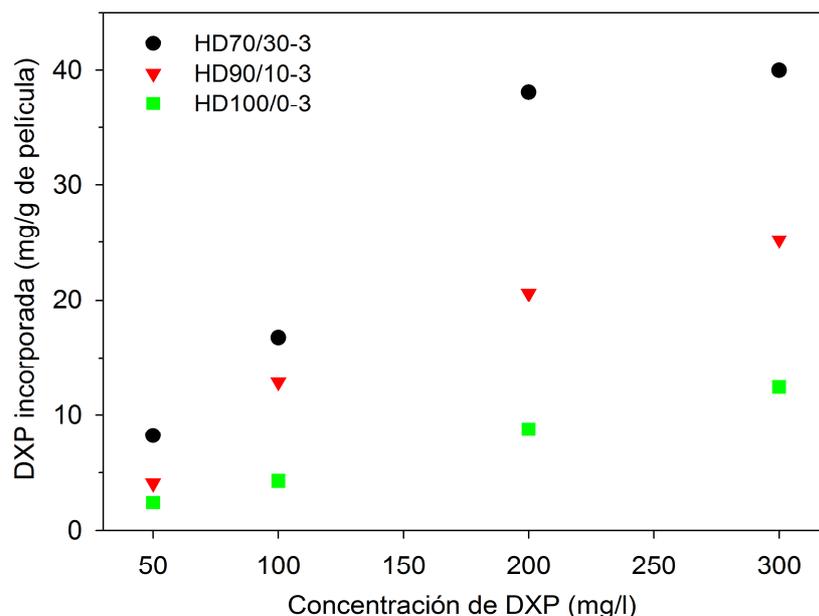


Figura IV.2.2.3.1. Incorporación de DXP en películas de p(HEMA-co-DPA) a partir de soluciones con diferentes concentración a pH 6,50.

A partir de los resultados obtenidos, la concentración de la solución de carga elegida para los ensayos de liberación fue de 200 mg/l, dado que por arriba de esta concentración en los hidrogeles con 30 % p/p de DPA, no se observa un aumento significativo en la cantidad de PA incorporado.

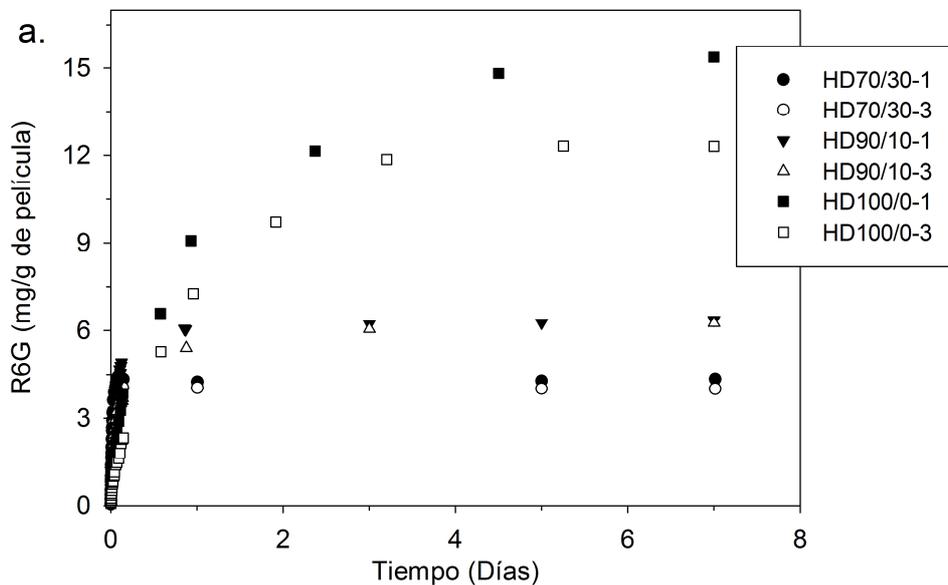
En el caso de la R6G se observa el mismo comportamiento que el obtenido para la DXP, la incorporación aumenta de forma lineal a medida que aumentamos la concentración de la solución de carga (ver apéndice Figura VI.3.3.1) y la concentración elegida para los ensayos de liberación fue de 50 mg/l.

IV.2.2.4. Cinéticas de incorporación de R6G y DXP

En esta sección se analizarán los tiempos de carga y las cinéticas de captación en las condiciones establecidas, para la R6G y DXP, en las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA), las cuales finalmente se emplearán en los ensayos de liberación.

Cinéticas de captación de R6G en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA

Las cinéticas de incorporación de R6G a pH 6,50 para las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA) se muestran en la Figura IV.2.2.4.1. Los tiempos a los cuales se logra el equilibrio varía según la proporción HEMA/DPA, cuanto menor es la cantidad de HEMA, más cortos son dichos tiempos. En las películas de pHEMA el equilibrio se alcanza alrededor de los 7 días, mientras que en los copolímeros se alcanza en 1 día para 30 % p/p de DPA y en 2 días para 10 % p/p de DPA. Esta diferencia se encuentra relacionada con los valores finales de R6G incorporada. Como ya se discutió, las películas con mayor proporción de HEMA incorporan una mayor cantidad de R6G y es por ello que los tiempos de carga son mayores.



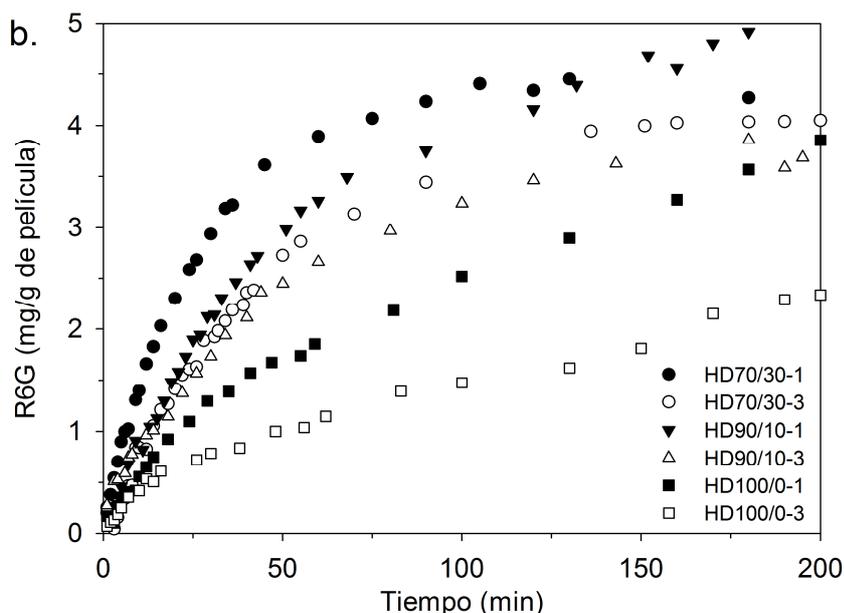


Figura IV.2.2.4.1. Masa de R6G incorporada acumulada (por gramo de película) en función del tiempo de inmersión en una solución de R6G a pH 6,50 y 25,0 °C para las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador: a) Cinética a tiempos largos, b) cinética a tiempos cortos.

Si ampliamos la escala de los primeros 200 minutos de carga (Figura IV.2.2.4.1-b) observamos que la velocidad inicial es mayor en los copolímeros. El grado de hinchamiento de los hidrogeles que contienen DPA a este pH (Figuras III.2.4.1.1 y III.2.4.1.2), favorece la entrada de la R6G al interior de la matriz debido al incremento en el espacio tridimensional de la red y a la difusión de la solución acuosa. Esto conlleva a que el PA soluble en agua ingrese dentro de la matriz.

Por otra parte, cómo se esperaba al tener en cuenta los datos de hinchamiento, con el incremento en el grado de entrecruzamiento de 1 a 3 % p/p decrece la cantidad de R6G incorporada. Al variar el contenido de entrecruzador la cantidad final incorporada disminuye en todos los casos por que decrece la posibilidad de expansión del hidrogel y a su vez el contenido acuoso.

Si por otro lado analizamos que sucede con las cinéticas de captación de R6G al cambiar el pH de carga a 8,40 (Figura IV.2.2.4.2.), observamos que los tiempos a los que se logra el equilibrio en los copolímeros son mayores que aquellos observados para pH 6,50, necesiándose en este caso entre 2 a 6 días. Al aumentar la cantidad de R6G incorporada a este pH (Tabla IV.2.2.4.1) los tiempos de carga se prolongan.

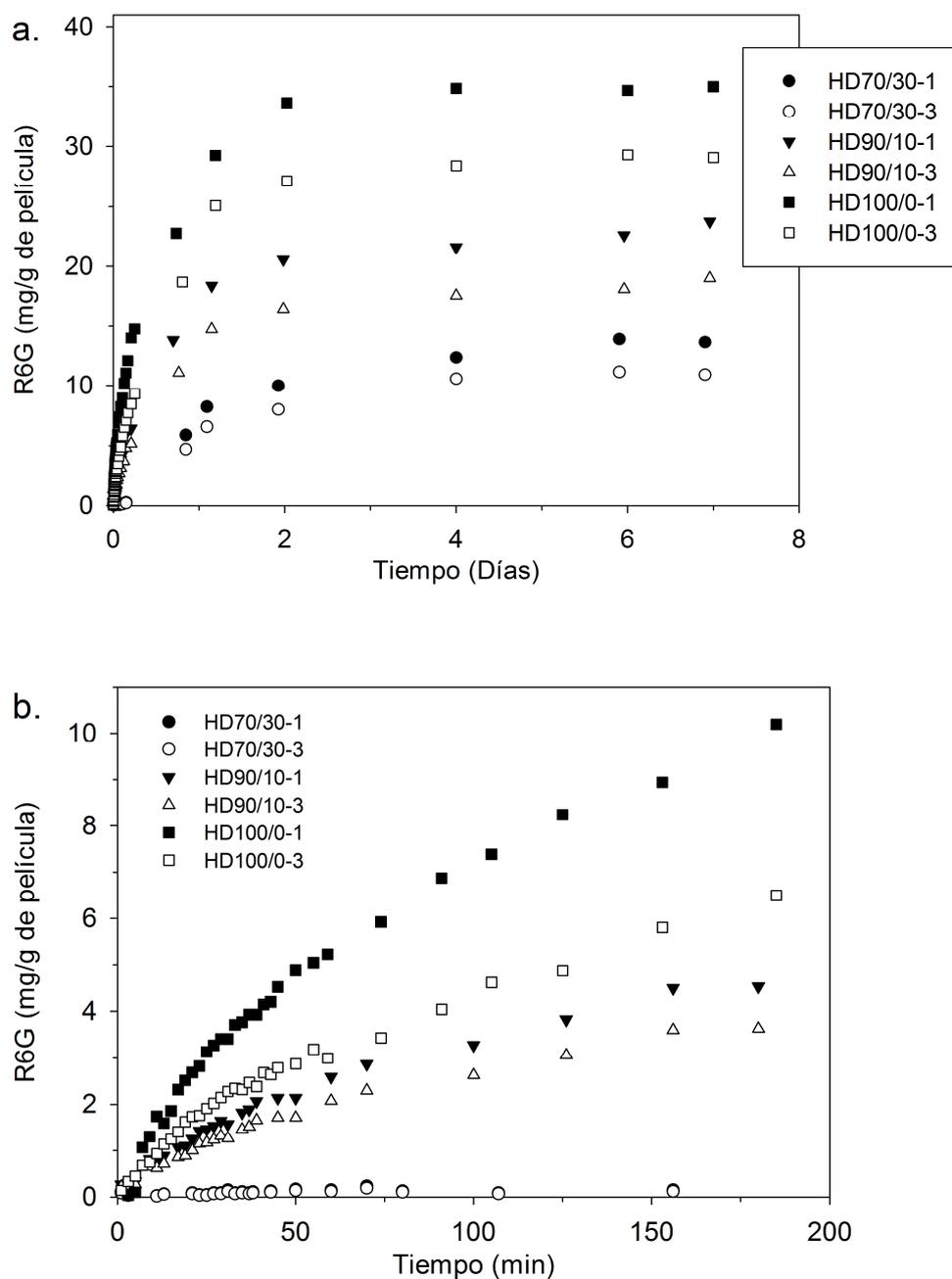


Figura IV.2.2.4.2. Masa de R6G incorporada acumulada (por gramo de película) en función del tiempo de inmersión en una solución de R6G a pH 8,40 y 25,0 °C para las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador: a) Cinética a tiempos largos, b) cinética a tiempos cortos.

Al contrario de lo que sucede a pH 6,50, la velocidad inicial de captación de R6G es más lenta para los copolímeros que para las películas de pHEMA. A pH 8,40 la velocidad de hinchamiento (sección III.3.2.5) es baja, es decir que el pasaje de xerogel a hidrogel es muy lento y por ello retrasa la difusión de la R6G al interior de la matriz. Se

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

puede inferir que el grado de hinchamiento de las películas influye en la velocidad de carga inicial de incorporación de la R6G, pero no en los valores finales incorporados como se discutió anteriormente. Los valores finales obtenidos de R6G para todas las muestras se presentan en la Tabla IV.2.2.4.1.

Tabla IV.2.2.4.1. Valores finales de R6G incorporada en miligramos por gramo de película. Se empleó una solución de carga de 50 mg/l en BF a pH 6,50 y 8,40.

HEMA/DPA	entrecruzador (% p/p)	pH de la solución de carga de R6G (50 mg/l)			
		6,50		8,40	
		mg/g de película	DE (n = 2- 4)	mg/g de película	DE (n = 2- 4)
100/0	1	27,4	0,1	31,8	0,3
	3	24,6	2,0	31,4	0,9
90/10	1	6,3	0,6	23,7	0,8
	3	5,2	1,6	20,0	0,2
70/30	1	4,7	1,1	18,0	0,9
	3	2,7	0,9	15,1	0,2

DE: desviación estándar; n: número de medidas.

Se concluye que al cambiar el pH, se afecta la velocidad inicial de carga para todas las proporciones. Este comportamiento está relacionado con dos factores: la propiedad de difusión del agua al interior de cada matriz y con la afinidad entre la R6G y la matriz.

Por otra parte en todos los casos para las películas de pHEMA se obtienen tiempos de carga más largos que los publicados por otros autores para lentes de contacto blandas comerciales. Podos y col. (Podos S.M. y col., 1972) informaron que para lentes de pHEMA la cantidad de droga incorporada se mantiene constante para tiempos de inmersión mayores a 10 minutos. En otros trabajos sumergir la lente en una solución de droga por un periodo de entre 2 minutos a 24 horas, resulta en valores de incorporación que van de 0,02 a 2,3 mg/lente para materiales iónicos y 0,01 a 5,53 para materiales no-iónicos. (Leshner G.A. y Gunderson G.G., 1993; Veys J. y Davies I., 1996; Lumbroso P. y col., 1996; Momose T. y col., 1997). En este trabajo los valores de R6G incorporada se encuentran entre 0,02 a 0,3 mg/lente o película (siendo la masa de las películas entre 15 y 27 mg).

Cinéticas de captación de DXP en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA

En la Figura IV.2.2.4.3 se presentan las cinéticas de incorporación de DXP a partir de una solución de 200 mg/l a pH 6,50 para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Podemos apreciar que la velocidad de incorporación depende de la composición del hidrogel. En los copolímeros con 30 % p/p de DPA, la velocidad de incorporación inicial es rápida, mientras que los copolímeros con 10 % p/p de DPA poseen una velocidad inicial más lenta. En ambos el equilibrio se alcanza alrededor de las 24 horas. Por otro lado, en las películas de pHEMA la velocidad es mucho más lenta, pero a pesar de ello, el equilibrio se logra antes, entre 5 y 10 horas, debido a la baja incorporación de DXP que presentan estas películas. En un estudio realizado por Karlgard y col. (Karlgard C.C.S y col., 2003) donde la incorporación de DXP en los hidrogeles fue también por inmersión, el máximo de carga se obtuvo dentro de la primera hora, sin embargo las cantidades incorporadas en este caso fueron muy bajas y no se logró cuantificar la liberación a partir de los mismos debido a que éstas se encuentran por debajo del límite de detección.

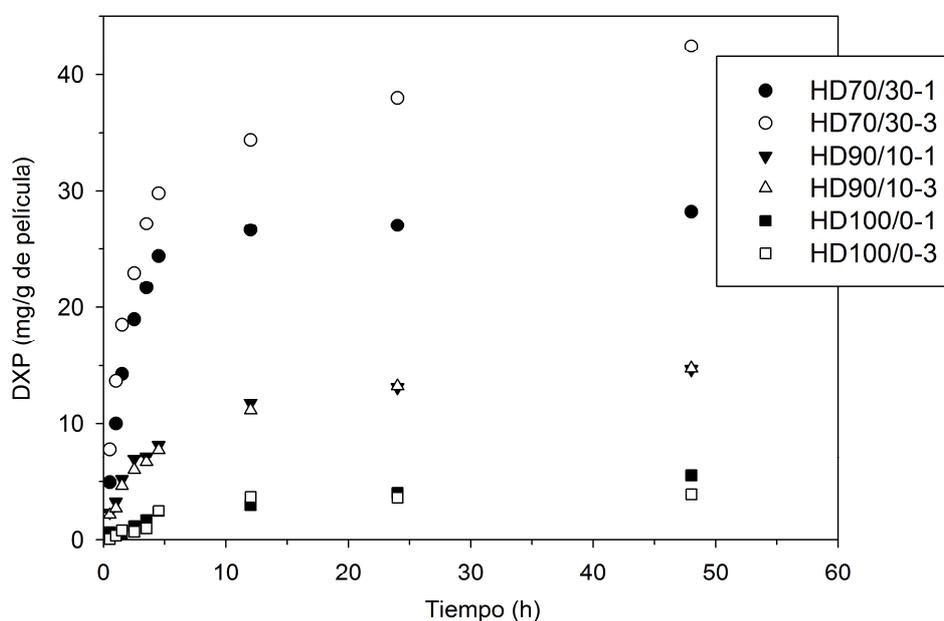


Figura IV.2.2.4.3. Cinéticas de incorporación de DXP a partir de una solución de 200 mg/l a pH 6,50 para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Incorporación de principios activos

Los resultados concuerdan con el comportamiento de hinchamiento de estos hidrogeles (sección III.3.2). Recordemos que para la carga por inmersión el xerogel es colocado en una solución de PA y la difusión del PA al interior del hidrogel se encuentra impulsada por la presión osmótica producto del hinchamiento y el gradiente de concentración. De esta forma cuanto mayor es el hinchamiento, más rápida se espera que sea la velocidad de incorporación del PA. Para analizar la cinética de carga y el mecanismo se ajustaron los datos de M_t/M_e en función del tiempo con el modelo de Ritger-Peppas aplicando la ecuación IV.1.1.4. Los resultados se resumen en la Tabla IV.2.2.4.2. Se puede apreciar que los copolímeros presentan un valor de n entre 0,5 y 1, lo que indica un mecanismo de carga no-Fickiano. Al presentar una mayor tendencia al hinchamiento, por ser el pH del medio menor que el pKa, la expansión del hidrogel juega un rol importante en la incorporación del PA, además de la difusión simple debido al gradiente de concentración, que ocurre generalmente en la carga por inmersión. El valor de k , por otra parte, indica una diferencia en la velocidad de incorporación del PA al aumentar el porcentaje de entrecruzador.

Tabla IV.2.2.4.2. Valores correspondientes al ajuste con la ecuación de Ritger-Peppas (Ec. IV.1.1.4), los parámetros k , n , (calculados con la Ec. IV.1.1.5) pertenecientes a las cinéticas de carga de DXP en BF pH 6,50 y 25 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

	Entrecruzador % p/p	Ritger-Peppas R^2	k (min^{-1}) $\times 10^3$	n
HD100/0	1	0,809	6,98	0,68
	3	0,875	0,11	1,52
HD90/10	1	0,963	14,37	0,62
	3	0,964	22,89	0,60
HD70/30	1	0,982	10,22	0,85
	3	0,978	23,23	0,64

En las películas de pHEMA no se observa un buen ajuste, por lo que este modelo no permite explicar el comportamiento de estos materiales. En este caso el origen de este comportamiento probablemente se encuentre relacionado con la baja incorporación de DXP, la cual sugeriría una baja compatibilidad entre la matriz y este PA.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Interacción entre los principios activos y la matriz del polímero

En la Tabla IV.2.2.4.3 se resumen los valores correspondientes a la carga máxima obtenida para cada composición e indican la cantidad máxima de PA que podría ser liberado en los posteriores ensayos de liberación.

Tabla IV.2.2.4.3. Valores finales de DXP incorporados (en miligramos por gramo de película) empleando una solución de carga de 200 mg/l en BF a pH 6,50.

	1 % p/p		3 % p/p	
	mg/g de película	DE (n = 3)	mg/g de película	DE (n = 3)
HD70/30	27,3	2,5	41,5	3,3
HD90/10	15,1	2,3	17,3	2,6
HD100/0	3,8	1,4	5,5	1,1

DE: desviación estándar; n: número de medidas.

IV.3. INTERACCIÓN ENTRE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y LA MATRIZ DEL POLÍMERO

En esta sección se discuten las posibles interacciones y distribuciones del PA en la matriz polimérica a partir del análisis espectroscópico y microscópico. Para el análisis espectroscópico se utiliza la técnica de FTIR por transmisión, y para el análisis microscópico la técnica de SEM. Los materiales y parámetros utilizados para estos ensayos se explicaron detalladamente en el capítulo III.

IV.3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.3.1.1. Incorporación del PA en la matriz del polímero empleando la técnica de espectroscopía FTIR por transmisión

La Figura IV.3.1.1.1 muestra el FTIR correspondiente a la rodamina 6G y su estructura química.

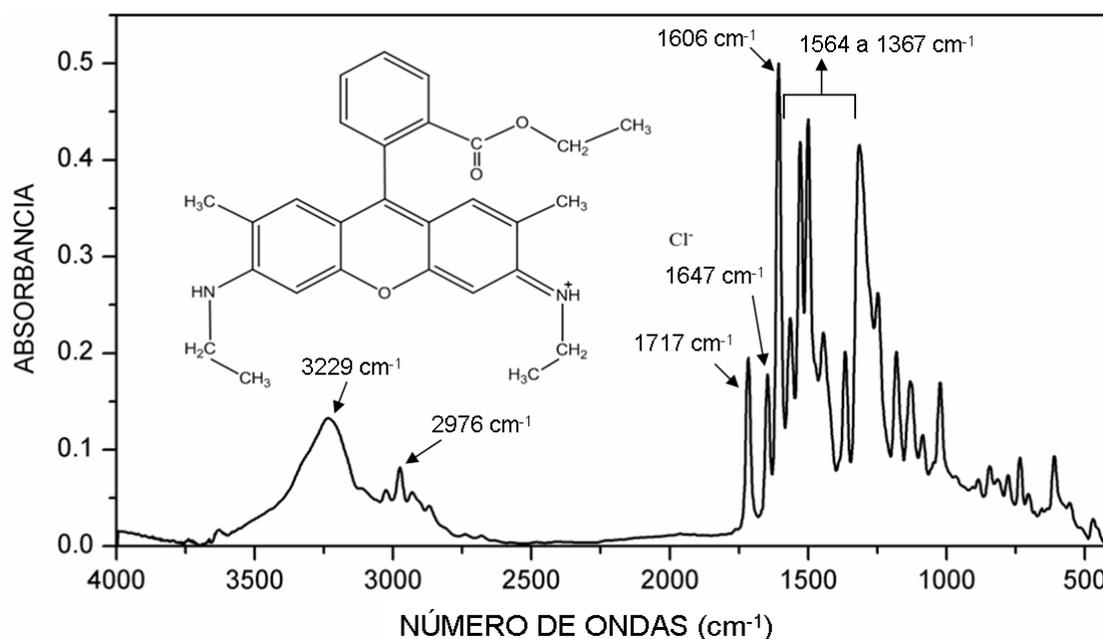


Figura IV.3.1.1.1. Espectro FTIR y estructura química de la rodamina 6G.

La principal banda que aparece en la región alta del espectro es el estiramiento N-H a 3229 cm^{-1} . Una banda débil se observa a 2976 cm^{-1} asignada al estiramiento C-H. En la región por debajo de los 2000 cm^{-1} las principales picos están a 1717 cm^{-1} asignado a la vibración de estiramiento del enlace C=O y la banda a $1647, 1606\text{ cm}^{-1}$ asignadas al anillo xanteno. Las bandas a $1564, 1528, 1501, 1443\text{ cm}^{-1}$ y 1367 cm^{-1} son modos de vibración de este anillo, que involucran los grupos etilamino, metilo y fenilo (Tripathi S.K. y col., 2009; H Watanabe H. y col., 2005).

En la Figura IV.3.1.1.2 se muestra el espectro FTIR de las películas de HD70/30-1 y HD100/0-1 con (R) y sin R6G.

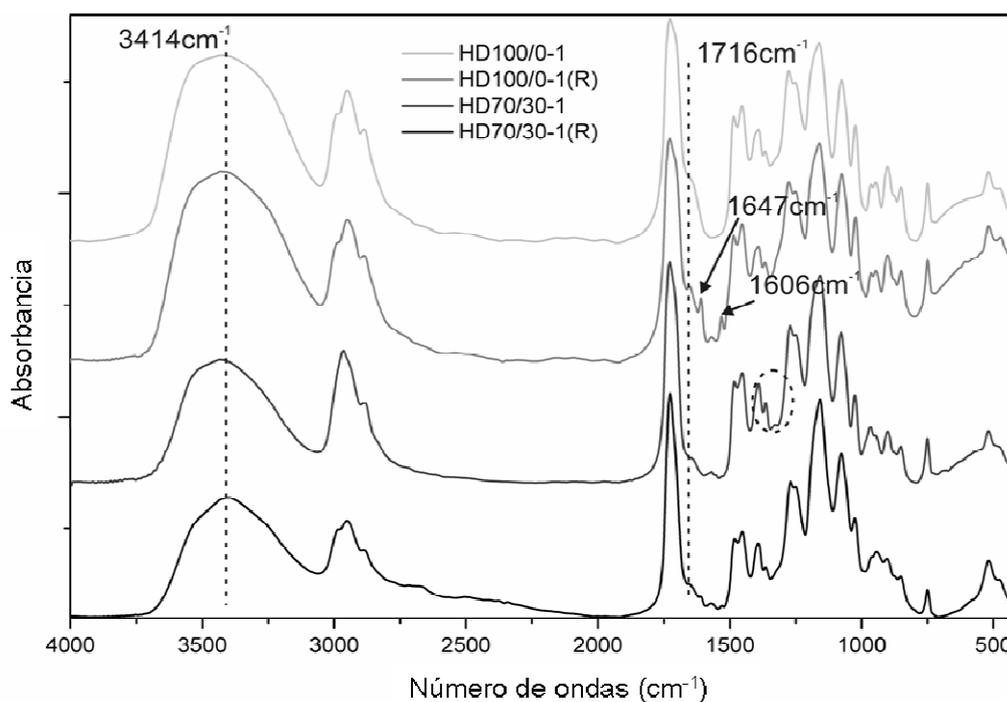


Figura IV.3.1.1.2. Espectro FTIR de las películas HD100/0-1, HD100/0-1(R), HD70/30-1 y HD70/30-1(R).

La principal diferencia al incorporar el PA que se observa en la parte alta del espectro corresponde al incremento de la intensidad de la banda de estiramiento del grupo O-H a 3414 cm^{-1} . Se conoce la existencia de una interacción entre la R6G y los grupos -OH- a través del grupo $\text{=N}^+(\text{H})\text{-}$ (ver Figura II.4.1), por lo tanto se espera que también haya interacciones entre la R6G y el pHEMA (Bakkialakshmi S. y Menaka T. y col., 2011). También aparece en la región de estiramiento C-H un pico de baja intensidad a 2985 cm^{-1} ; y además, el pico a 2884 cm^{-1} se corre a 2888 cm^{-1} luego de la incorporación de la R6G. Cambios más leves se observan en la banda a 2821 cm^{-1} asignada al grupo $\text{-CH}_2\text{-}$ cercano al átomo de nitrógeno en el grupo isopropilo.

En la región de $2000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ se observa principalmente, en una zona del espectro adyacente al pico asignado al estiramiento C=O , un hombro correspondiente a la contribución del grupo carbonilo a 1716 cm^{-1} y los picos a 1647 y 1606 cm^{-1} pertenecientes al anillo xanteno de la R6G. La banda asignada al grupo isopropilo, del DPA observada a 1336 cm^{-1} , en las películas sin carga, muestra una reducción de intensidad luego de la carga. Las diferencias observadas en el espectro FTIR entre las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA), con y sin R6G; y las bajas concentraciones de R6G incorporada en los copolímeros de DPA, indican que las interacciones de la

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Interacción entre los principios activos y la matriz del polímero

R6G con el pHEMA se modifican luego de la incorporación de DPA. Este cambio en la interacción, puede modificar el comportamiento de liberación del PA.

La Figura IV.3.1.1.3 muestra el FTIR correspondiente al dexametasona-21 fosfato y su estructura química.

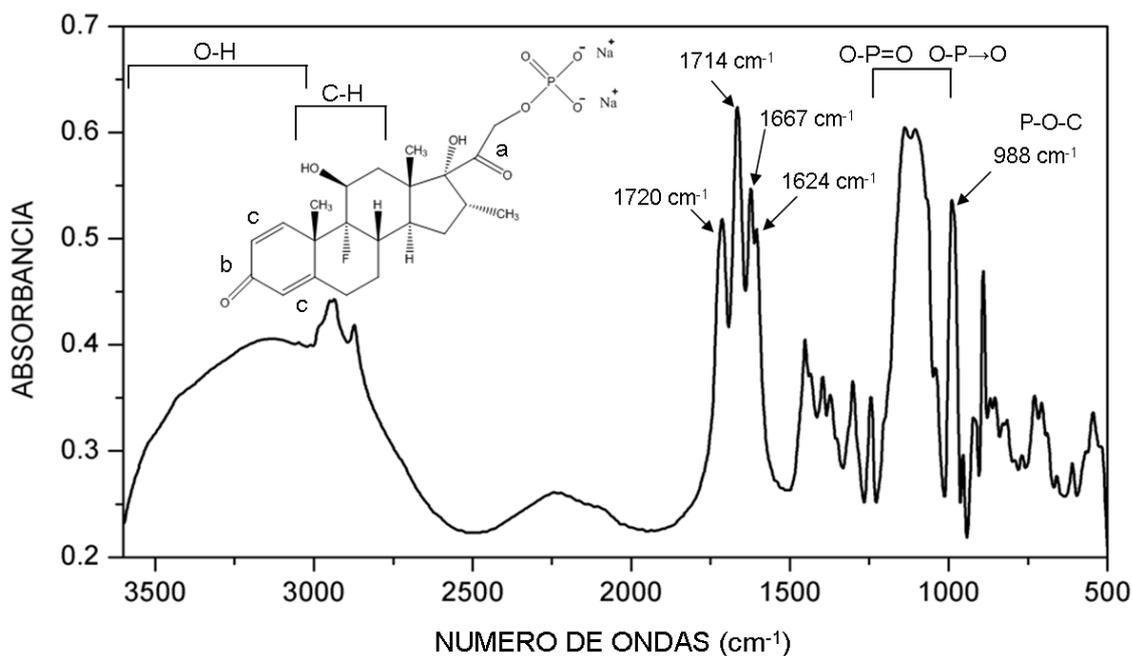


Figura IV.3.1.1.3. Espectro FTIR y estructura química de dexametasona-21 fosfato.

En el espectro de la DXP se observa en la zona comprendida entre 3800 y 3140 cm^{-1} una banda ancha e intensa asignada a la vibración de estiramiento O-H, y en la zona comprendida 3020 y 2500 cm^{-1} varias bandas asignadas a las vibraciones C-H. En la región baja del espectro aparecen las bandas a 1720 y 1714 cm^{-1} que se asignan a la vibración del carbonilo conjugado (a) y no conjugado respectivamente (b), y las bandas a 1667 y 1624 cm^{-1} se asignan a la vibración C=C del los carbonos del anillo (c). La absorción del grupo fosfato en ésteres se presenta en la región comprendida entre 1300 y 870 cm^{-1} (Silverstein R.M. y Webster F.X., 2005). La banda a 988 cm^{-1} se corresponde con las vibraciones de estiramiento y deformación del grupo P-O-C, las cuales han sido reportadas entre 1050 y 970 cm^{-1} (Silverstein R.M. y Webster F.X., 2005). El análisis vibracional del grupo fosfato es complejo debido al acoplamiento de varias modos vibracionales y una asignación de bandas más detallada de esta zona escapa de los objetivos del presente trabajo.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Interacción entre los principios activos y la matriz del polímero

En la Figura IV.3.1.1.4 se muestran las regiones del espectro FTIR de 1800 a 800 cm^{-1} correspondientes a la dexametasona-21 fosfato y a las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con (D) y sin DXP.

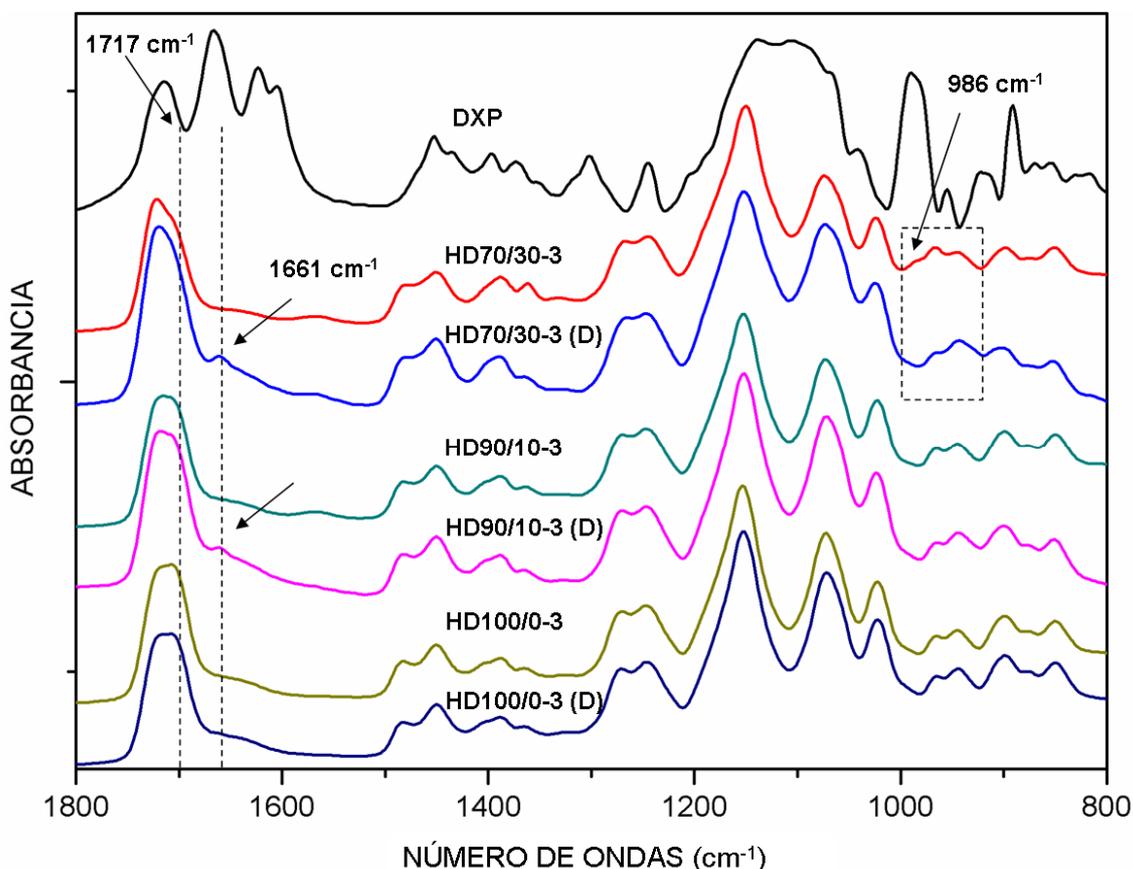


Figura IV.3.1.1.4. Espectro FTIR de DXP, y las películas: HD100/0-1, HD100/0-1(D), HD90/10-1 y HD90/10-1(D), HD70/30-1 y HD70/30-1(D).

Con la incorporación de DXP se observa en el espectro IR de las muestras la aparición de un hombro a 1717 cm^{-1} por la contribución de los carbonilos a 1714 y 1720 cm^{-1} ; y aparece una banda correspondiente a uno de los dobles enlaces de anillo, desplazada a 1661 cm^{-1} lo que indica una interacción entre la matriz de los polímeros y este PA a través de este resto de la molécula.

La contribución correspondiente al grupo fosfato (P-O-C) solamente se aprecia en la muestra con mayor contenido de DXP (HD70/30-3 (D) en la zona de 1000 a 924 cm^{-1} donde se observa una señal adicional a 986 cm^{-1} . Esta señal debe corresponderse con las bandas de mayor intensidad de la molécula, centradas en 1100 cm^{-1} , y que se desplazan al incorporarse a la matriz. Esta observación y los cambios observados en los

estiramientos de los carbonilos, indican la existencia de una interacción entre la matriz y la dexametasona 21-fosfato.

IV.3.1.2. Análisis microscópico (SEM) de los hidrogeles con principios activos incorporados

La incorporación del PA en el hidrogel puede realizarse por varios métodos, entre los más comunes está el método por dispersión del PA en la mezcla de polimerización; o el método por inmersión del polímero en una solución de PA. Dependiendo el método que se utilice, el PA puede quedar mayormente atrapado en el interior del polímero (método por dispersión), o distribuirse de forma aleatoria tanto en el interior como en la superficie del mismo (método de inmersión). Esta última situación es la que se presenta en este trabajo.

La importancia de conocer la distribución del PA radica en que la misma influye en la cinética de liberación. En muchos trabajos se ha atribuido una liberación rápida, tipo pulso, a la liberación del PA que se encuentra en la superficie o en las capas más superficiales del hidrogel; mientras que una liberación más prolongada en el tiempo se le atribuye a la difusión del PA cuando esta ocurre desde el interior del hidrogel a través de los poros (Swami S.N., 2004; Tomic S.J. y col., 2007). Con el método de inmersión, la distribución del PA en uno u otro sitio dependerá: de la ubicación u orientación de los grupos funcionales del polímero durante la carga, y de la afinidad del PA por los grupos que se encuentren en la superficie o en el interior del hidrogel. Además, es importante recordar que, en los copolímeros sintetizados en este trabajo, es posible modificar dicha afinidad al variar el pH de la solución de carga, tal como se discutió anteriormente en la sección IV.2.2.3. En por ello que en este apartado se utilizó la técnica de SEM para analizar la distribución de la R6G en el copolímero más responsivo (HD70/30-1) y la relación entre dicha distribución y el cambio de pH de la solución de carga. A su vez la presente caracterización nos permitirá comprender algunas de las observaciones obtenidas de los estudios cinéticos de liberación para este copolímero y extrapolar a los otros copolímeros.

En la Figura IV.3.1.2.1 se muestran las imágenes de SEM obtenidas para el copolímero HD70/30-1 cargado con una solución de R6G de 50 mg/l a pH 6,50. La presencia de la R6G se encuentra bien definida y diferenciada bajo la observación del microscopio, y se puede observar la distribución a lo largo de toda la superficie porosa

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Interacción entre los principios activos y la matriz del polímero

del copolímero (IV.3.1.2.1- a y b). Se aprecia una organización en cadenas largas con algunos puntos de unión cuando se encuentran apoyadas sobre la superficie (Figura IV.3.1.2.1-b); mientras que sobre los poros presentan una estructura tridimensional en forma de telaraña, que se extiende por arriba del poro como se observa en la Figura IV.3.1.2.1-c. Es importante recordar que durante el proceso de secado en la preparación de la muestras, las moléculas de R6G que se encontraban en solución, pasan a formar estructuras sólidas, las que dependerán de la región en que se encuentren.

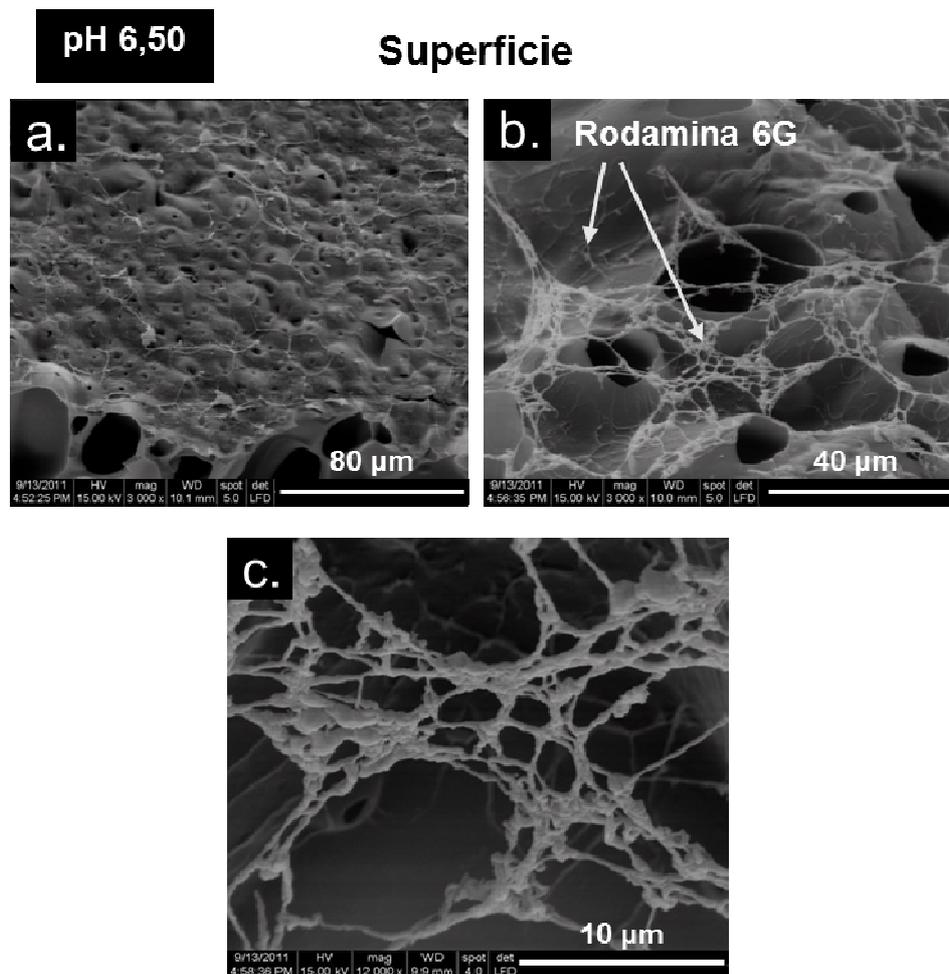


Figura IV.3.1.2.1. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel (a y b, escala 40 μm) HD70/30-1 (R) cargada con R6G, pH 6,50. C: Imagen de la estructura de la R6G (escala 10 μm).

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Interacción entre los principios activos y la matriz del polímero

En la Figura IV.3.1.2.2-a y b se muestra el corte transversal de estos hidrogeles. En este caso se aprecia una menor cantidad de R6G, distribuida de forma heterogénea, y depositada sobre la pared interior de algunos poros del hidrogel (Figura IV.3.1.2.2-b).

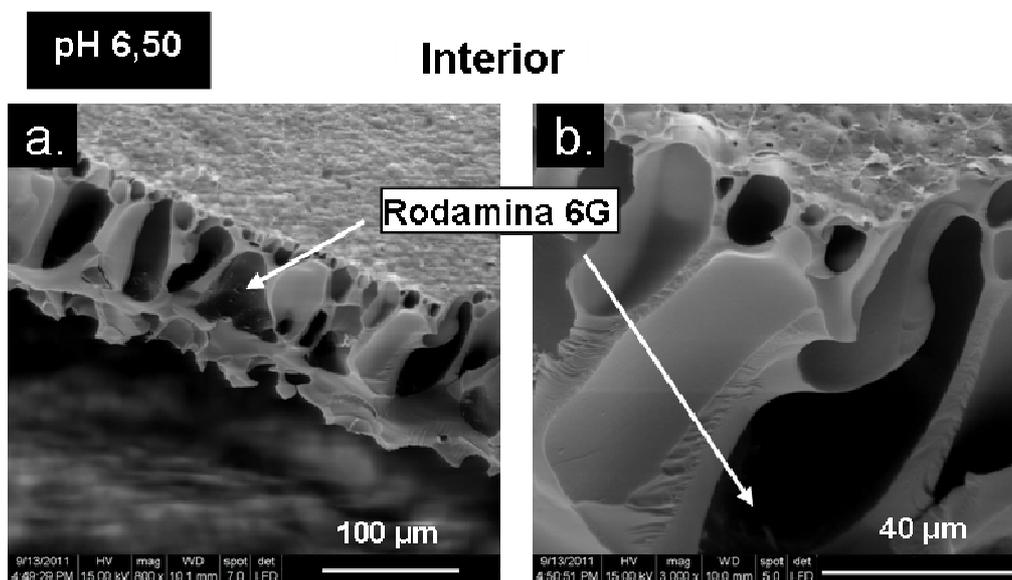


Figura IV.3.1.2.2. Imágenes de SEM del corte transversal del hidrogel HD70/30-1 (R) cargado con R6G a pH 6,50.

Se puede concluir que a este pH, la R6G se encuentra mayormente distribuida en la superficie del hidrogel, más que en su interior. Este hallazgo concuerda con los resultados obtenidos en la carga, debido a que a este pH la R6G presentaba una menor afinidad por la matriz en los copolímeros y por ende su incorporación es menor y predominantemente superficial.

En la Figura IV.3.1.2.3 se muestran las imágenes de SEM obtenidas para el copolímero HD70/30-1 cargado con una solución de R6G de 50 mg/l a pH 8,40. A este pH la matriz se presenta una estructura cerrada, y por ello se observa en la Figura IV.3.1.2.3.-a que la R6G se encuentra distribuída de forma uniforme a lo largo de una superficie más compacta. En este caso no se aprecian las estructuras complejas de R6G en un arreglo tridimensional, posiblemente debido a que la superficie se encuentra colapsada, y la R6G está embebida en la matriz. En la Figura IV.3.1.2.3-b se muestra el corte transversal del hidrogel donde a su vez se observan varias cortes del interior del

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Interacción entre los principios activos y la matriz del polímero

hidrogel (Figura IV.3.1.2.3-c). En ellos se encuentra la presencia de R6G distribuida en el interior de la matriz del copolímero.

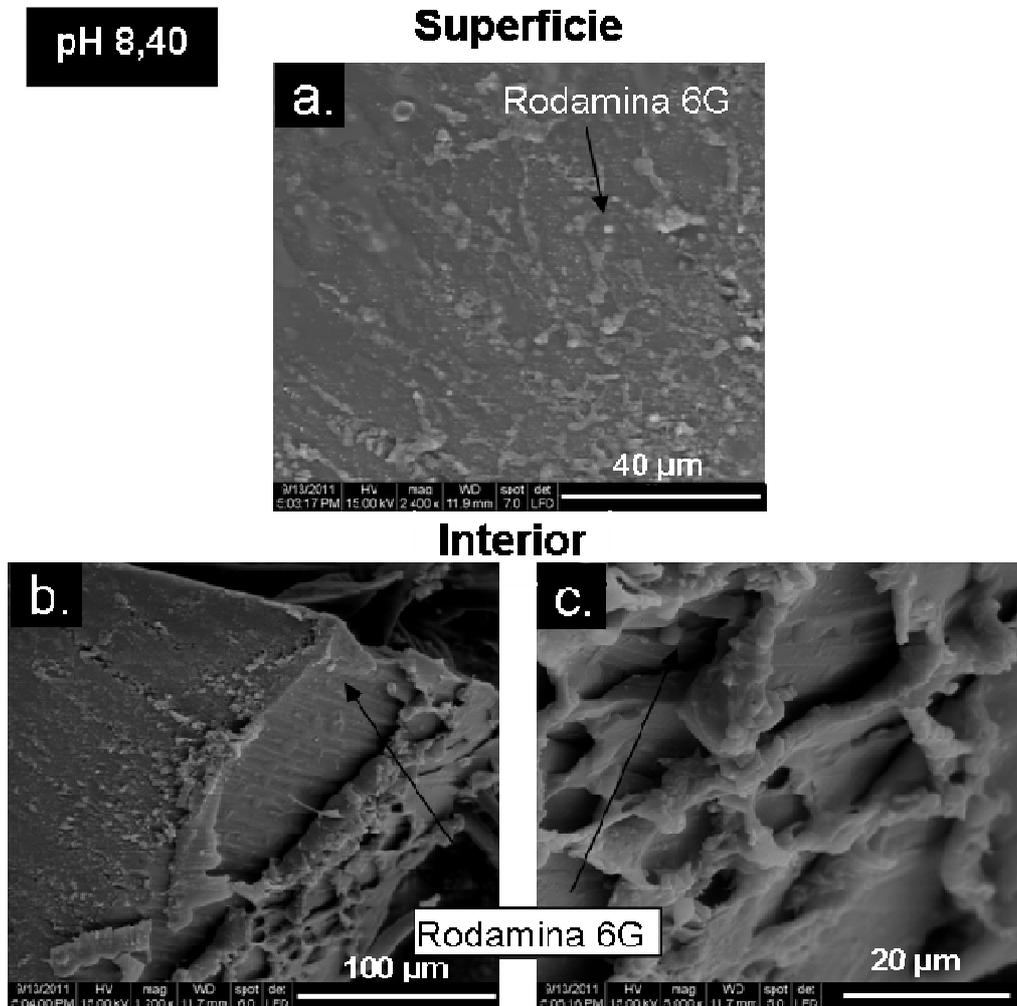


Figura IV.3.1.2.3. Imágenes de SEM de la superficie (a) y corte transversal (b y c) del hidrogel HD70/30-1 (R) cargada con R6G a pH 8,40.

En este caso hay una distribución más uniforme de la R6G en la superficie y en el interior del hidrogel. Como ya se explicó, a pH 8,40 la incorporación de R6G es mayor debido a que la repulsión electrostática entre la R6G y la matriz de los copolímeros es menos marcada como consecuencia de una disminución en su grado de ionización a este pH.

Finalmente, con los resultados obtenidos se espera que la liberación de R6G a partir de las películas cargadas a pH 6,50 presente una mayor velocidad de salida que las películas cargadas a pH 8,40, debido a su distribución con predominancia superficial.

IV.4. ENSAYOS DE LIBERACIÓN

El comportamiento de los sistemas de p(HEMA-co-DPA) como sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos se estudia en esta sección. Para determinar el comportamiento general de estos hidrogeles se utilizó rodamina 6G como PA modelo y para determinar el comportamiento específico con fármacos oculares de utilizó la dexametasona-21 fosfato como PA farmacológico.

IV.4.1. PARTE EXPERIMENTAL

Todos los ensayos de liberación se llevaron a cabo empleando un recipiente como el que se esquematiza en la Figura IV.4.1.1 Este cuenta con dos compartimientos uno superior donde se coloca la película y uno inferior donde se coloca el buzo para obtener una agitación constante en todo el sistema, separados por un separador de Teflón[®]. Las liberaciones se realizaron empleando como medio de liberación 20 ml de solución buffer fosfato 0,1 M estabilizada a una temperatura de 34,5 °C (desviación de $\pm 0,3$ °C) en un baño termostático y con una agitación constante de 200 rpm.

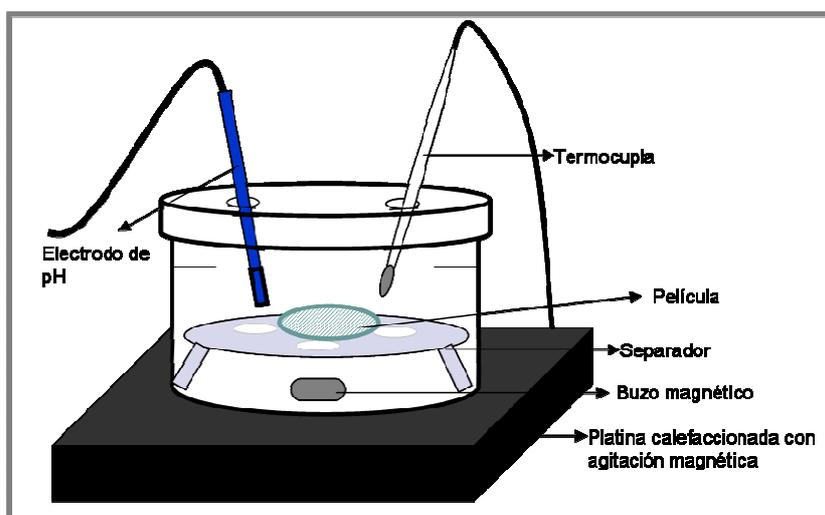


Figura IV.4.1.1.Esquema del recipiente empleado para realizar los ensayos de liberación.

Para los ensayos de liberación, se emplearon por un lado películas cargadas con rodamina 6G en solución BF a pH 6,50 y a pH 8,40 con una concentración de 50 mg/l; y por otro lado películas cargadas con dexametasona-21 fosfato en solución BF a pH 6,50 con una concentración de 200 mg/l. Las características geométricas de las películas se determinaron en una etapa previa a la liberación, el espesor se registró utilizando un espesímetro ($\pm 0,001$ mm) y el diámetro utilizando un calibre ($\pm 0,01$ cm). Para la liberación de los PA, las películas se retiraron de la solución de carga, se les quitó el excedente de solución presente en la superficie con un papel tisú, y a continuación se colocaron en el recipiente de liberación. Luego se midió en función del tiempo la absorbancia en la solución de liberación a 524 nm en los ensayos con R6G y a 242 nm en los ensayos con DXP. Empleando las curvas de calibración que se muestran en el anexo en las Figuras VI.4.1 y VI.4.2 se obtuvo la masa de PA liberada.

Se realizaron tres tipos de ensayos de liberación:

- *Liberación a pH ocular promedio.* En este ensayo las películas se liberaron en BF a pH 7,40, y una vez alcanzado el equilibrio, se colocó nuevamente en solución BF “fresca” manteniendo las mismas condiciones de agitación y temperatura. Este procedimiento se repitió entre dos y tres veces.
- *Liberación a diferentes valores de pH.* En este ensayo las películas se liberaron en BF en un rango de pH entre 6,50 y 8,40 hasta alcanzar el equilibrio.
- *Liberación con cambios de pH dinámicos.* En este ensayo se varió el pH de la solución durante la liberación, previo a alcanzar el equilibrio. Luego de un intervalo de tiempo determinado se extrajo la película de la solución de liberación y se colocó en solución “fresca” a otro pH. Este procedimiento se repitió varias veces utilizando valores de pH en un rango entre 7,00 y 7,80.

IV.4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.4.2.1. RODAMINA 6G COMO PRINCIPIO ACTIVO MODELO

IV.4.2.1.1. Liberación a pH ocular medio

Persiguiendo el objetivo de evaluar el funcionamiento de los hidrogeles sintetizados como sistemas de transporte y liberación sostenida de PA en terapias oftalmológicas, a continuación se estudia la liberación en las condiciones oculares de pH y temperatura promedio, pH 7,4 y 34,5 °C. Para ello se utilizaron las películas

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

cargadas a pH 8,40, ya que demostró ser el pH al cual se incorpora la mayor cantidad de R6G en los copolímeros.

En la Figura IV.4.2.1.1.1 se muestra la masa de R6G liberada por las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador a pH 7,40. Se puede apreciar que todas las películas presentan la capacidad de liberar R6G, pero tanto la velocidad como la masa de R6G liberada, varían en función de la composición y del grado de entrecruzamiento.

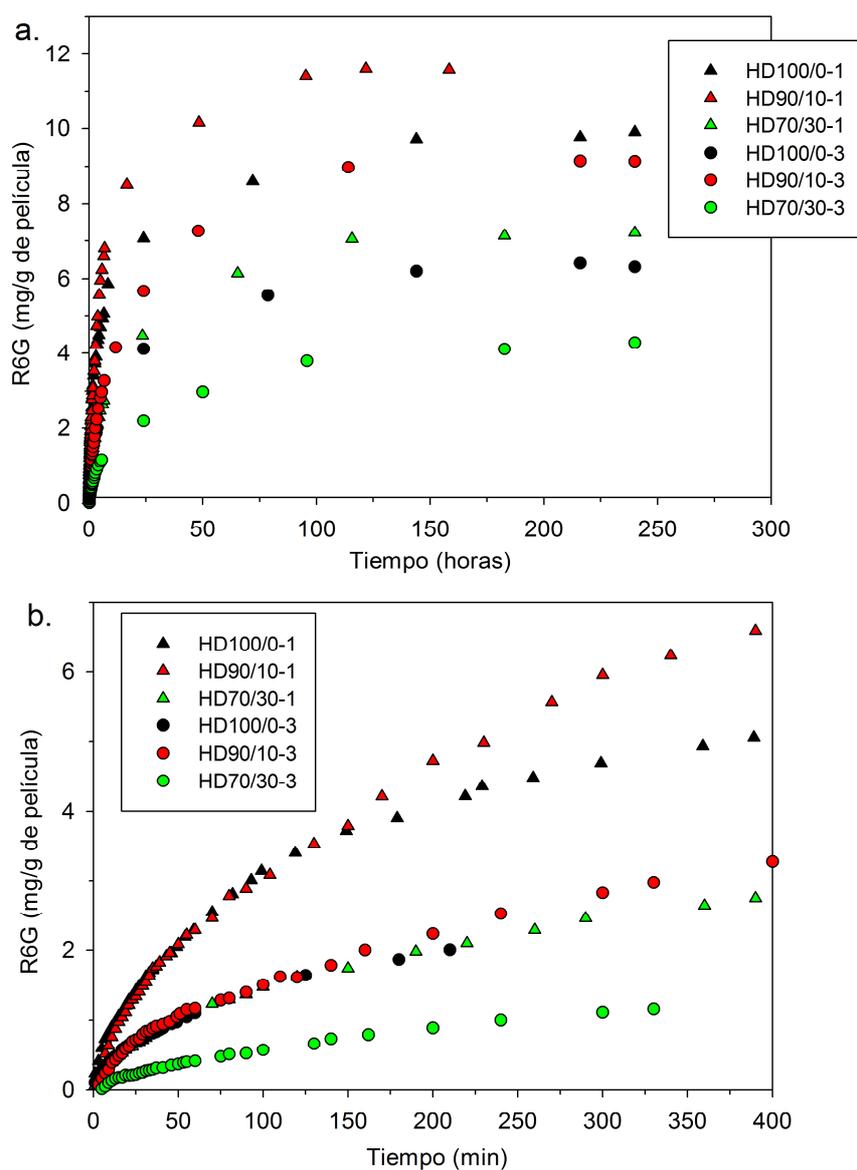


Figura IV.4.2.1.1.1. Curvas de liberación de rodamina 6G acumulada en función del tiempo para las películas HD100/0, HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C: a) tiempos largos (horas); b) tiempos cortos (minutos).

En la Tabla IV.4.2.1.1.1 se resumen los valores correspondientes al tiempo-medio de liberación ($t_{1/2}$) que es el tiempo para el cual se libera el 50 % del PA, y el porcentaje final de R6G liberada.

Tabla IV.4.2.1.1.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$) correspondientes a la cinéticas de liberación de R6G en BF a pH 7,40 y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Porcentajes finales de R6G liberados en la primera (L_1), y segunda (L_2) experiencia de liberación.

	Entrecruzador (%p/p)	$t_{1/2}$ (h)	R6G liberada (%)	
			L_1	L_2
HD100/0	1	4,9	33	29
	3	8,5	53	50
HD90/10	1	4,7	76	90
	3	10,7	70	86
HD70/30	1	8,9	74	98
	3	15,6	61	81

La liberación de las películas HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador es más lenta comparada con los otros hidrogeles para la misma proporción de entrecruzador, como se aprecia en la Figura IV.4.2.1.1.1-b. El $t_{1/2}$ en este caso es mayor, siendo 8,9 horas para HD70/30-1 y 15,6 horas para HD70/30-3. El hinchamiento que presentan los hidrogeles de HD70/30, en estas condiciones, es menor que el presentado por los hidrogeles de pHEMA y HD90/10 (sección III.3.2.2). Lo cual significa que la matriz posee una estructura más compacta con un menor tamaño de poro, situación que desfavorece la salida de la R6G. Además, como se discutió en la sección IV.3, la cantidad de rodamina 6 G incorporada depende de la composición del polímero, cuanto mayor es el porcentaje de DPA, menor es la cantidad que se incorpora. Por lo tanto, la fuerza impulsora que promueve la difusión de la R6G hacia el exterior de la matriz es menor y con ello la velocidad de liberación es también menor.

Al aumentar la proporción de HEMA en las películas, la velocidad inicial de liberación es más rápida como se puede apreciar en la Figura IV.4.2.1.1.1-b, y el tiempo medio disminuye. Sin embargo, no se observa en las curvas de liberación, ni se ve reflejado en los valores de $t_{1/2}$, una diferencia marcada entre las películas de HD100/0 y HD90/10 con igual proporción de entrecruzador. Para comprender esto se debe tener en

cuenta que la velocidad de liberación depende de la concentración inicial, del contenido acuoso, del hinchamiento del hidrogel y de las interacciones entre el PA y la matriz (Ng L.T., 2003; Bajpai A.K. y col., 2008; Karlgard C.C.S., 2003). En estos casos el hinchamiento que presentan estos hidrogeles es similar (Figura III.3.2.2.1, sección III.3.2.2) por lo que su influencia en la liberación no es marcada. Por otro lado, a pesar de que la concentración inicial de R6G en las películas de pHEMA es mayor, lo que debería favorecer la salida de este PA, existe otro factor a tener en cuenta como es la interacción entre el PA y la matriz. Como se discutirá más adelante hay una mayor afinidad entre las moléculas de R6G y las películas de HEMA, lo que contrarresta la fuerza de difusión. Al incorporar DPA esta afinidad disminuye y la difusión se ve favorecida, pero en este caso la fuerza impulsora es menor debido a que la concentración inicial también lo es. De esta forma a pesar de que se varía la composición del material, a este pH no se observa una diferencia marcada entre ambos materiales debido a los factores antes mencionados. Más adelante se analizan los mecanismos de liberación, los parámetros cinéticos de los mismos, y la capacidad de respuesta frente a cambios externos, demostrando que con un 10 % p/p de DPA se puede modificar el perfil de liberación y controlar la velocidad de liberación del PA.

Por otra parte, si analizamos los porcentajes finales de PA liberados (Tabla VI.4.2.1.1.1), podemos observar que es mayor en las películas con DPA, siendo entre 61 y 74 % de R6G para HD70/30, entre 70 y 76 % de R6G para HD90/10 y entre 33 y 53 % de R6G para HD100/0, dependiendo del grado de entrecruzamiento. Este resultado indica que las interacciones entre la matriz de los copolímeros y la R6G, o bien no se encuentran presentes o son más débiles comparadas con las que pueden hallarse en los hidrogeles de pHEMA (Karlgard C.C.S., 2003). Se ha reportado en varios trabajos, liberaciones parciales de varios fármacos como consecuencia de la presencia de interacciones entre estos y la matriz de los hidrogeles (Momose T. y col., 1997; Lumbroso P. y col., 1996; Miranda M.N. y Garcia-Castineiras S., 1983). Tomic y col., observaron valores parciales de liberación de clorhidrato de fenetilina (un precursor de la teofilina) en copolímeros de HEMA y ácido itacónico (Tomic S.J. y col., 2007). Los autores indican que como consecuencia de las interacciones entre los grupos iónicos de la matriz o de los segmentos de las cadenas, una gran cantidad de PA permanece parcialmente atrapada en las tres dimensiones de la red del hidrogel al alcanzar el equilibrio en las cinéticas de liberación. Para evaluar la presencia de

interacciones entre la R6G y los copolímeros se realizó una segunda liberación, en la cual las mismas películas fueron colocadas en solución “fresca” bajo las mismas condiciones. En esta segunda oportunidad las películas de HD70/30 liberaron entre 81 y 98 % de R6G y las películas de HD 90/10 liberaron entre 86 y 90 % de R6G dependiendo del grado de entrecruzamiento. Mientras que en ambas liberaciones, las películas de pHEMA liberaron entre 29 y 33 % para 1 % p/p de entrecruzador y entre 50 y 53 % para 3 % p/p de entrecruzador. La cantidad de R6G que permanece en el interior de la matriz en las películas de pHEMA es mucho mayor que en las películas con DPA, en estas últimas la liberación es casi total. Esta diferencia se debe a las interacciones que se generan entre los grupos =N(+)- de la R6G y los grupos OH del pHEMA (ver FTIR IV.3.1.1). Al aumentar la proporción de DPA, se reduce la cantidad total de grupos OH y por consiguiente los sitios de interacción disponibles para la R6G y con ello el número de moléculas de R6G liberadas aumenta.

Los resultados obtenidos nos indican que las películas con 10 y 30 % p/p de DPA, presentan una liberación más lenta, lo que permitiría prolongar el tiempo de administración del fármaco y de esta forma aumentar el tiempo de permanencia del mismo en contacto con el tejido. A su vez los valores porcentuales de PA liberados en estos casos son mayores que el valor correspondiente al pHEMA, lo que supone una ventaja económica para el sistema. Sin embargo, las masas de PA liberadas son menores que las liberadas por las películas de pHEMA. Por lo tanto para emplear estos sistemas debería verificarse, para un dado fármaco, si es posible incorporar y liberar la dosis terapéutica necesaria.

En la Figura IV.4.2.1.1.1 se observa que al aumentar el grado de entrecruzamiento se afecta la velocidad de liberación. Si analizamos los valores de $t_{1/2}$ en la Tabla IV.4.2.1.1.1 se puede concluir que en todos los casos al aumentar el porcentaje de entrecruzador la liberación es más lenta, necesitándose aproximadamente el doble de tiempo. A su vez las cantidades porcentuales de R6G liberadas son menores y los tiempos en los que se alcanza el equilibrio son mayores.

El aumento de la cantidad de entrecruzador en la matriz afecta el hinchamiento del hidrogel. Como se discutió en la sección III.3.2.1, el aumento del entrecruzamiento entre las cadenas del polímero aumenta la rigidez de la matriz, y en consecuencia aumenta la fuerza elástica que se opone a la presión osmótica, que es la fuerza que favorece el ingreso de líquido al interior de la matriz (Pinzón N. y col., 2002). De esta

forma la expansión del hidrogel se hace más lenta (ver cinéticas en la Sección III.3.2.5) y presenta valores finales de hinchamiento menores. A partir de lo expuesto se deduce que las cinéticas de liberación se ven afectadas por el efecto que el entrecruzador genera en la capacidad de hinchamiento de los hidrogeles. Como se aprecia en los resultados obtenidos, al aumentar el grado de entrecruzamiento, la velocidad de liberación es menor.

Si bien al aumentar el grado de entrecruzamiento las cantidades de PA liberadas disminuyen, como se observa en la TIV.4.2.1.1.1, el tiempo de liberación aumenta, lo que podría prolongar el tiempo de terapia, especialmente en las películas conteniendo DPA.

Con el objetivo de determinar el tipo de mecanismo de liberación que presentan los hidrogeles sintetizados en función del pH del medio, los datos se analizaron empleando el modelo semi-empírico de Ritger-Peppas. (Peppas N.A. y Ritger P.L., 1987). Para ello se graficaron las fracciones de masa liberada M_t/M_e en función del tiempo hasta un valor de 0,6 y los datos fueron ajustados con la Ecuación IV.1.1.4. Los gráficos se presentan en la Figura IV.4.2.1.1.2.

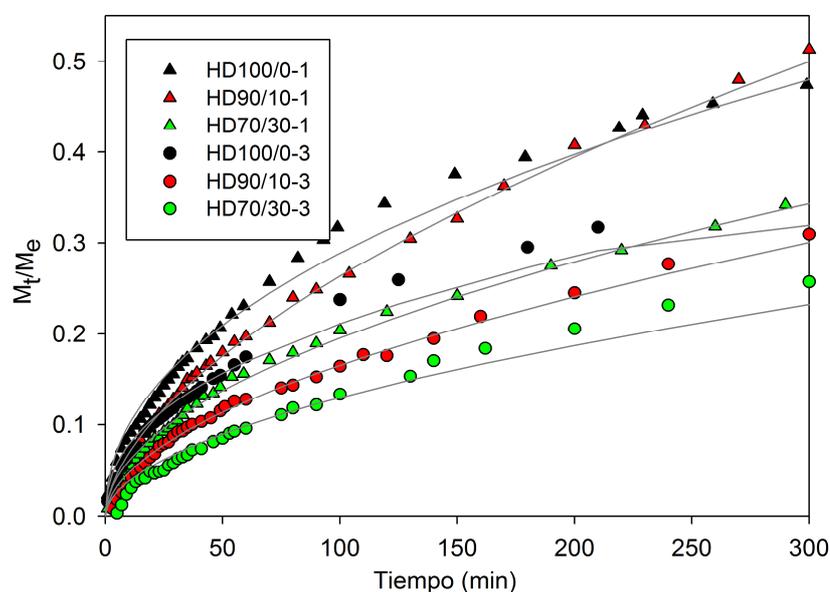


Figura IV.4.2.1.1.2. Fracción másica de rodamina 6G liberada acumulada en función del tiempo para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF pH 7,40 y 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta una liberación de 0,6 con la ecuación de potencia de Ritger-Peppas.

Como ya se indicó anteriormente en la sección III.3.2.5, este modelo propone la combinación de dos procesos que influyen en la cinética de liberación, por un lado el transporte que obedece las leyes de difusión de Fick y por otro lado el cambio en el volumen interno del hidrogel que involucra el movimiento y relajación de las cadenas poliméricas.

Los valores del ajuste obtenido con la ecuación de Ritger-Peppas se muestran en la Tabla IV.4.2.1.1.2. Podemos apreciar que todas las muestras presentan un buen ajuste con éste modelo, obteniéndose un R^2 mayor a 0,98. Los valores correspondientes a k y n se obtuvieron con la Ecuación IV.1.1.5. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla IV.4.2.1.1.2 y el gráfico correspondiente se presenta en la Figura VI.3.3.2 del apéndice.

Tabla IV.4.2.1.1.2. Valores correspondientes al ajuste con la ecuación de Ritger-Peppas pertenecientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a pH 7,40 y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

	Entrecruzador % p/p	Modelo Ritger-Peppas R^2	k (min^{-1}) $\times 10^3$	n
HD100/0	1	0,990	27,28	0,51
	3	0,989	20,72	0,51
HD90/10	1	0,997	15,82	0,61
	3	0,994	10,87	0,59
HD70/30	1	0,996	15,16	0,57
	3	0,980	7,67	0,61

Al analizar los resultados obtenidos, podemos observar que las películas que contienen DPA presentan un mecanismo de liberación no Fickiano o anómalo, con un n entre 0,5 y 1, que está relacionado con su capacidad de hinchamiento. Al pasar de pH 8,40 (pH de la solución de carga) a pH 7,40 la matriz tiende a hincharse y de esta forma la liberación se ve favorecida por los dos procesos, la relajación de las cadenas poliméricas que ocurre cuando la matriz se hincha, y la difusión pasiva que se da por el gradiente de concentración, y que ocurre en todos los sistemas en mayor o menor medida (Díez Peña E., 2002). Las películas de pHEMA presentan un valor de n cercano a 0,5, siendo su principal mecanismo la difusión Fickiana.

Teijón y col. (Teijón J.M. y col., 1997) y Trigo y col. (Trigo R.M. y col., 1994) en sus estudios sobre la cinética de liberación en hidrogeles de pHEMA observaron un mecanismo de liberación Fickiano. Las cinéticas de liberación obtenidas en este trabajo para los hidrogeles de pHEMA coinciden con los datos obtenidos por esos autores. Además, particularmente la R6G presenta una solubilidad alta, de 20 g/l a 25 °C, y los principios activos de alta solubilidad típicamente exhiben una liberación tipo Fickiana y el perfil de liberación es dependiente en gran medida de la solubilidad y de la cinética de difusión del principio activo.

Si comparamos el efecto de la concentración de entrecruzador en el mecanismo podemos ver que la densidad de entrecruzamiento no lo modifica. Sin embargo, tal como se analizó anteriormente, la cantidad de entrecruzador si afecta la velocidad de liberación como puede observarse al comparar los valores de k . Dichos valores disminuyen al aumentar el nivel de entrecruzador, lo que indica un proceso de liberación más lento. Asimismo si analizamos como varía k en función de la composición HEMA/DPA, observamos que al aumentar el DPA el valor de k disminuye. Es decir, a este pH la velocidad de liberación es más lenta cuanto mayor es la proporción de DPA en las películas.

IV.4.2.1.2. Liberación a diferentes valores de pH desde películas en estado colapsado.

Una de las características principales que presentan los copolímeros sintetizados es la capacidad de variar su estructura en respuesta a pequeños cambios en el pH del entorno. A partir de esta propiedad se puede pensar en estos materiales como potenciales sistemas de liberación controlada de fármacos. Ésta aplicación se basa en la posibilidad de ajustar la velocidad de liberación del fármaco frente a los cambios del entorno y las necesidades del tratamiento terapéutico (Kim S.W. y col., 1992; Pillay V. y Fassihi R., 2000; Qiu Y. y Park K., 2001). Por lo tanto es interesante estudiar como varía la velocidad de liberación de los sistemas sintetizados con el cambio del pH del medio.

En la sección anterior se discutieron las cinéticas y los mecanismos de liberación involucrados en la liberación de R6G a pH ocular promedio a partir de películas cargadas a pH 8,40 (en estado colapsado). En esta sección se analiza como influyen los cambios de pH (dentro del rango de tolerancia ocular, 6,50 a 8,40) en la cinética y el mecanismo de liberación, así también como en las cantidades finales de R6G liberadas

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

empleando películas cargadas en las mismas condiciones que en la sección anterior (solución de carga: 200 mg/l a pH 8,40).

En la Figura IV.4.2.1.2.1 se muestran las curvas de liberación de rodamina 6G desde películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador a diferentes valores de pH (6,50; 7,40 y 8,40).

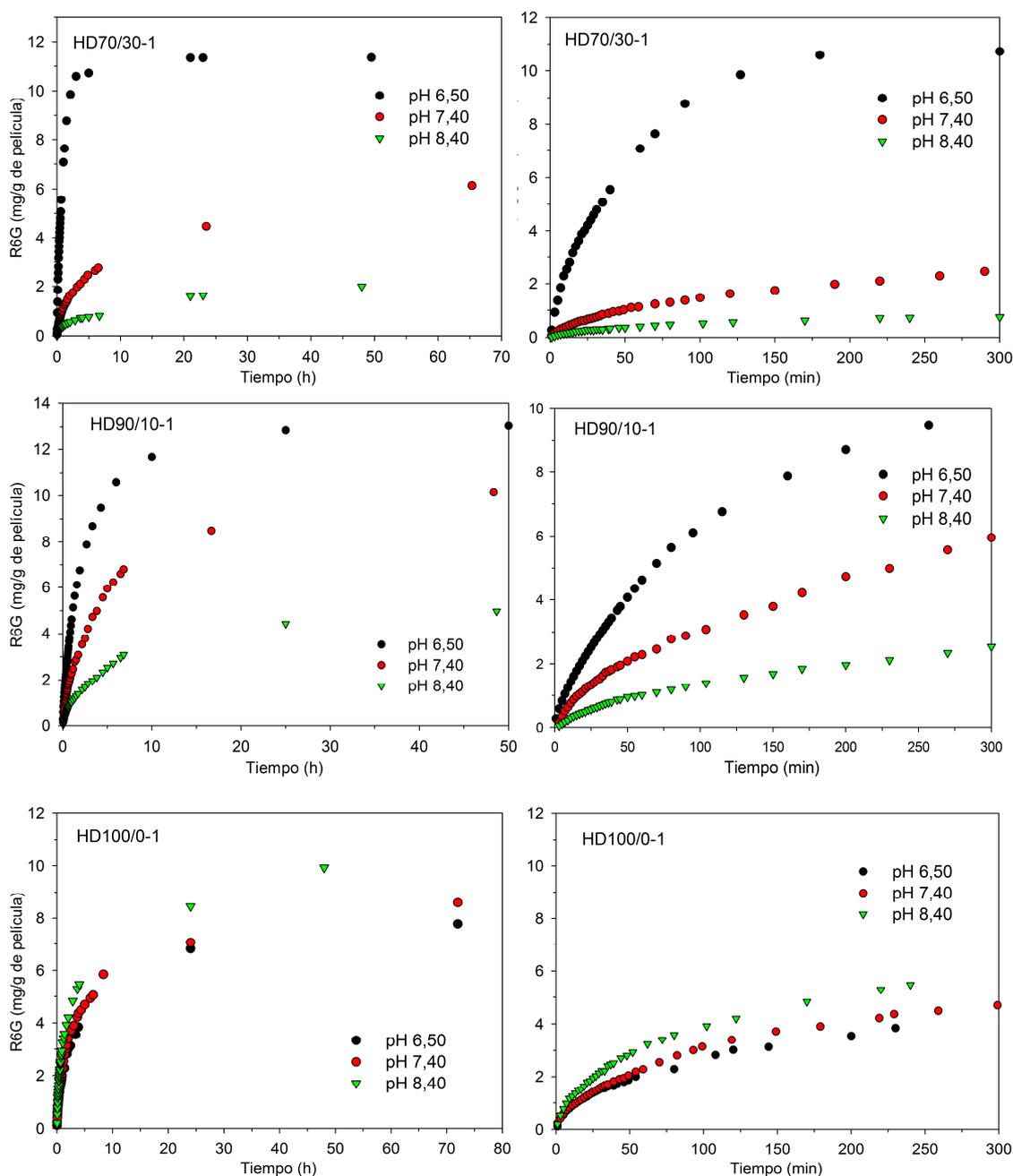


Figura IV.4.2.1.2.1. Curvas de liberación acumulada de rodamina 6G por gramo de película en función del tiempo para las películas HD70/30-1, HD90/10-1 y HD100/0-1 en BF a diferentes pH y 34,5 °C a tiempos largos (izquierda) y a tiempos cortos (derecha).

En todos los casos las curvas de liberación muestran una etapa inicial, rápida, seguida de una segunda etapa lenta, en la cual la velocidad comienza a desacelerarse hasta que se alcanza una meseta.

Podemos observar que en las películas con DPA las cinéticas de liberación (la velocidad de liberación y las cantidades de R6G liberadas) varían significativamente con el cambio del pH del medio. En la Tabla IV.4.2.1.2.1 se muestran los valores de $t_{1/2}$ y los porcentajes de R6G liberados. En las películas HD70/30-1 (Figura IV.4.2.1.2.1-c) se puede apreciar que a medida que el pH se acidifica la liberación se hace más rápida. En este caso el $t_{1/2}$ cambia de 6 horas para pH 8,40 a 0,6 horas para pH 6,50.

En el caso de las películas HD90/10-1 el efecto es similar y el $t_{1/2}$ cambia de 4,6 a 2,0 horas al cambiar de pH 8,40 a 6,50 respectivamente. En ambos copolímeros se observa un aumento en la velocidad de liberación al acidificar el medio, este evento se encuentra relacionado con la capacidad de hinchamiento que presentan estos hidrogeles cuando se pasa de pH básico a ácido. A pH básico la matriz se encuentra cerrada y su hinchamiento es bajo, a medida que acidificamos el medio, el hidrogel comienza a hincharse y la velocidad de liberación de la R6G aumenta como consecuencia de un aumento en el tamaño de poro del hidrogel (Tomic S.J. y col., 2007). En el caso de las películas HD70/30-1 (Figura IV.4.2.1.2.1-c), el efecto del hinchamiento sobre la cinética de liberación es mucho más acentuado. Este comportamiento coincide con el efecto del pH sobre el grado de hinchamiento para esta relación de HEMA/DPA, tal como se observó en la sección III.3.2.2, y con el cambio en el tamaño de poro del hidrogel, como se pudo apreciar en las imágenes de SEM discutidas en la sección III.4.2.4.

Por otra parte en las películas de pHEMA, las cinéticas de liberación de R6G no presentan un cambio tan marcado con la variación del pH a diferencia de las muestras que poseen DPA. Sin embargo se puede observar que hay un aumento en la masa de R6G liberada a pH más básico, lo que concuerda con el ligero incremento en el CA a este pH (ver sección III.3.2). El $t_{1/2}$ es similar para los diferentes valores de pH y se encuentra entre 3,5 y 4,0 horas.

Tabla IV.4.2.1.2.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$) y porcentaje final de R6G liberada correspondientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador.

	pH	$t_{1/2}$ (h)	R6G liberada (%)
HD100/0-1	6,50	5,2	31
	7,40	8,5	33
	8,40	3,6	34
HD90/10-1	6,50	2,0	90
	7,40	4,7	76
	8,40	5,6	37
HD70/30-1	6,50	0,6	89
	7,40	8,9	74
	8,40	17,3	42

Si comparamos los porcentajes de R6G liberados entre las muestras con y sin DPA, podemos observar el mismo comportamiento que el discutido en la sección anterior (sección IV.4.1). Los porcentajes de R6G liberados para las películas de pHEMA (HD100/0-1) son menores (entre 31 y 34 %), que los liberados para las películas con DPA (entre 37 y 90 %). Como se explicó anteriormente, esta diferencia en la liberación se encuentra relacionada con la interacción entre el PA y la matriz (Karlgaard C.C.S y col., 2003; Tomic S.J. y col., 2007). A medida que aumenta la proporción de HEMA en el polímero, aumentan los sitios de interacción disponibles para la R6G y por consiguiente disminuye el número de moléculas de R6G liberadas.

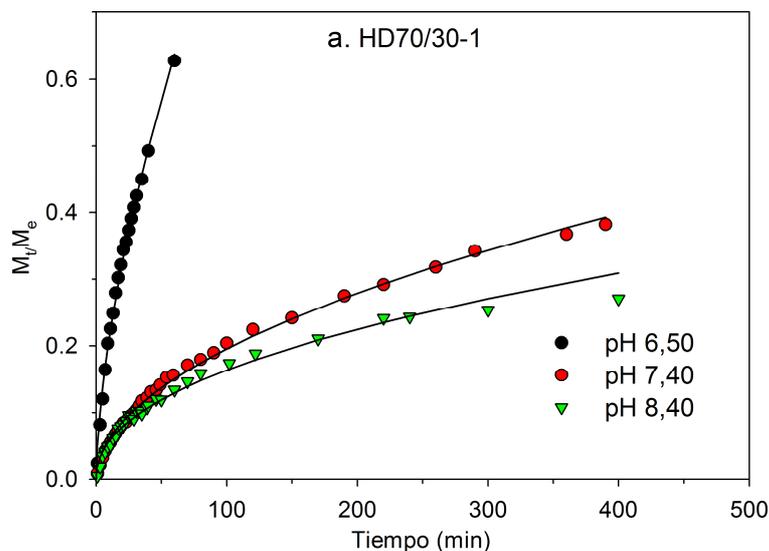
Otro punto importante es que en las películas de pHEMA, la variación del porcentaje de R6G liberado en relación al pH se encuentra entre 1 y 2 %, es decir que prácticamente no varía con el mismo. Sin embargo, en los copolímeros HD90/10-1 y 70/30-1, sí se observa una diferencia de los porcentajes de R6G liberada en función del pH del medio, y en ambas composiciones el porcentaje aumenta a medida que el pH disminuye. Los valores porcentuales finales liberados son para HD70/30-1 42 % a pH 8,40 y 89 % a pH 6,50; y para HD90/10-1 37% a pH 8,40 y 82 % a pH 6,50. Si bien este comportamiento se debe principalmente al cambio en el tamaño de poro del hidrogel, el cual favorece la salida del PA. Adicionalmente a la difusión, la liberación a pH ácido también es promovida por la interacción electrostática entre la amina terciaria del DPA

parcialmente protonada y el catión de la rodamina. A medida que aumenta el pH, la repulsión electrostática es menor como consecuencia de la disminución del grado de ionización de la matriz, y por ello este efecto se reduce. De todas formas la liberación a pH 8,40 es mayor que la observada para las películas de pHEMA debido a que la interacción entre las moléculas de R6G y los copolímeros es menor.

Este resultado coincide con lo reportado por Ng y col., en su estudio sobre la velocidad de liberación de vitamina B1 y vitamina B en hidrogeles iónicos. Ellos sugieren que las interacciones electrostáticas entre las cargas transportadas por la vitamina y la matriz del hidrogel también influyen la forma de liberación del fármaco (Ng L.T. y col., 2003).

En principio la relación entre el pH y el porcentaje de R6G liberado nos indica que, si bien el mecanismo de liberación puede ser similar para los diferentes pHs, la cantidad final de PA liberado depende del pH del medio y del grado de hinchamiento del material. Esto demuestra la capacidad de estos copolímeros de lograr un control de PA liberado en función del pH del medio, lo cual corresponde a materiales pH responsivos, cuyo mecanismo de control es el hinchamiento.

Para poder determinar el tipo de mecanismo de liberación que se presentan en los hidrogeles sintetizados, los datos se analizaron empleando la Ecuación IV.1.1.4. En la Figura IV.4.2.1.2.2 se presentan los gráficos M_t/M_e en función del tiempo para cada curva de liberación, el ajuste se encuentra representado por la línea continua, y los valores del mismo se muestran en la Tabla IV.4.2.1.2.2.



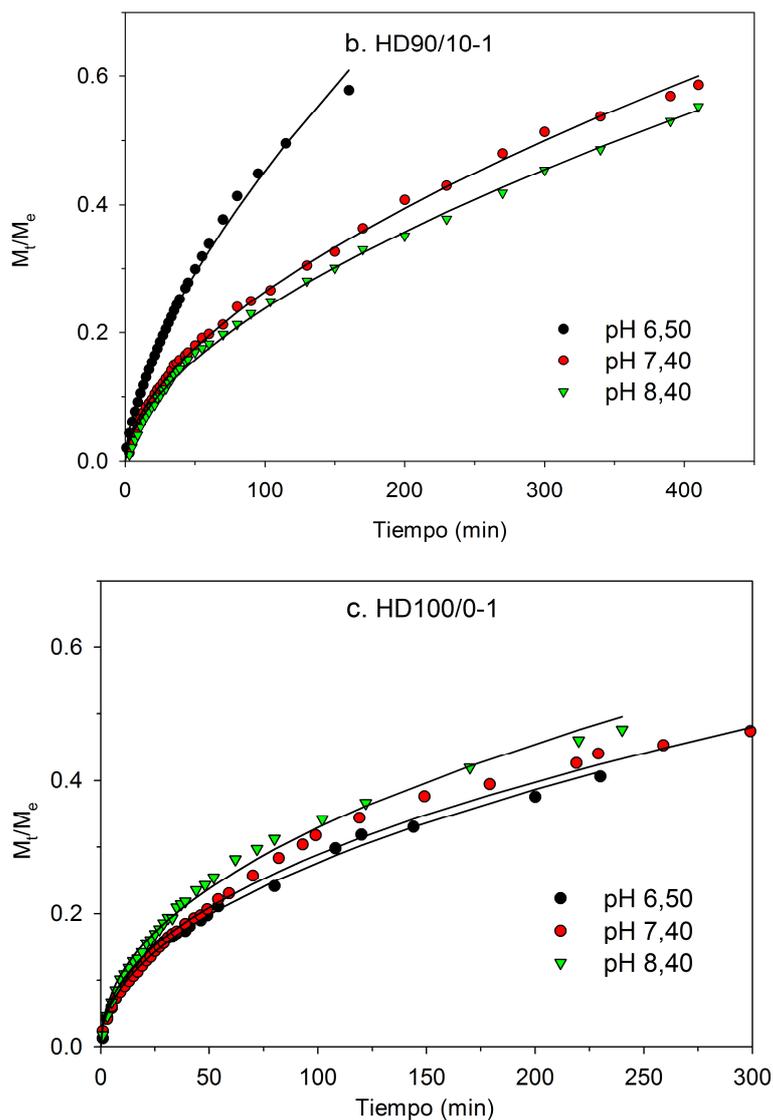


Figura IV.4.2.1.2.2. Fracción de rodamina 6G liberada acumulada en función del tiempo para las películas HD70/30-1 (a), HD90/10-1(b) y HD100/0-1 (c) en BF a diferentes valores de pH y a una temperatura de 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta un valor de M_t/M_e de 0,6, con la ecuación de Ritger-Peppas.

Para obtener los valores de k y n se graficó el $\ln(M_t/M_\infty)$ versus el $\ln(t)$, los resultados se muestran en la Tabla IV.4.2.1.2.2, y las gráficas en el apéndice en la Figura VI.3.3.3.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

Tabla IV.4.2.1.2.2. Valores del coeficiente de determinación (R^2) (Ajuste Ec. IV.1.1.4) y parámetros k , n , (Ec. IV.1.1.5.) y D_{ip} (Ec. IV.1.1.3) pertenecientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador.

	pH	Modelo Ritger-Peppas R^2	k (min^{-1}) $\times 10^2$	n	D_{ip} ($\times 10^9$) cm^2/seg
HD100/0-1	6,50	0,996	2,75	0,51	0,82
	7,40	0,986	2,73	0,51	0,94
	8,40	0,998	3,31	0,50	1.23
HD90/10-1	6,50	0,995	2.10	0,67	-
	7,40	0,995	1,58	0,63	-
	8,40	0,993	1,42	0,61	-
HD70/30-1	6,50	0,978	3,17	0,78	-
	7,40	0,993	1,57	0,56	-
	8,40	0,988	1,84	0,48	-

Como se puede observar en los resultados presentes en la Tabla IV.4.2.1.2.2, todas las muestras presentan un buen ajuste con éste modelo, obteniendo un R^2 mayor a 0,97. Las muestras de pHEMA muestran un valor de n igual a 0,5 para todos los pHs ensayados, indicando un mecanismo de liberación tipo Fickiano. Dicho resultado muestra que el cambio de pH no altera el mecanismo de liberación al igual que sucede en los sistemas no responsivos al cambio del entorno y cuyo principal mecanismo es la difusión (Brannon-Peppas L., 1997). Una de las características que presentan estos sistemas es que su tamaño no varía por hinchamiento o por degradación del mismo, y que la velocidad de liberación es dependiente de tiempo (Kost J. y Langer R., 1987; Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1997; Langer R., 1993; Supersaxo A. y col., 1993).

En las muestras con DPA se puede apreciar que el valor de n varía con el cambio de pH: a medida que el pH disminuye n adopta valores cada vez mayores a 0,5. Por ejemplo en las películas de HD70/30-1, n vale 0,56 a pH 7,4 y 0,78 a pH 6,5. En estos hidrogeles, la disminución del pH promueve la entrada de líquido hacia su interior provocando una expansión de la matriz y un aumento en el volumen libre interno, y de esta forma se favorece la salida del PA (Kost J. y Langer R., 1987; Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1997; Brazel C.S. y Peppas, N.A., 1999). La magnitud de dicho proceso depende del valor del pH inicial y final, y del pKa del hidrogel. En nuestro caso los

copolímeros de HD70/30-1 presentan un pKa de 7,01 a 34 °C. Cuanto mayor sea el cambio del pH, hacia valores de pH decrecientes, mayor será la expansión del hidrogel y por ende la liberación del PA. De esta forma, al disminuir el pH por debajo del pKa, el mecanismo de liberación pasa de ser un mecanismo de transporte Fickiano regulado por la velocidad de difusión; a un mecanismo de transporte anómalo, regulado por velocidad de difusión pasiva y velocidad de relajación de las cadenas poliméricas. A su vez se puede decir que la velocidad de liberación aumenta al disminuir el pH, como se ve reflejado en el cambio de la constante k en función del mismo.

Frente a lo expuesto se puede concluir que el mecanismo de liberación de estos hidrogeles se encuentra regulado por la capacidad de modificar su estructura (su hinchamiento y tamaño) frente a cambios en el pH del entorno, como sucede en sistemas pH estímulo-responsivos. De esta forma acidificando o alcalinizando el medio se puede aumentar o disminuir la velocidad de liberación de la droga, de forma tal de ejercer un control temporal en la administración/cesión del fármaco.

En los casos en que la difusión es Fickiana el coeficiente de difusión está definido mediante la Ecuación IV.1.1.3. A partir de la gráfica de M_t/M_e versus $t^{1/2}$, se obtuvieron los valores de D de la pendiente de la recta (Figura VI.3.3.4 ubicada en el apéndice), los resultados se muestran en la Tabla IV.4.2.1.2.2.

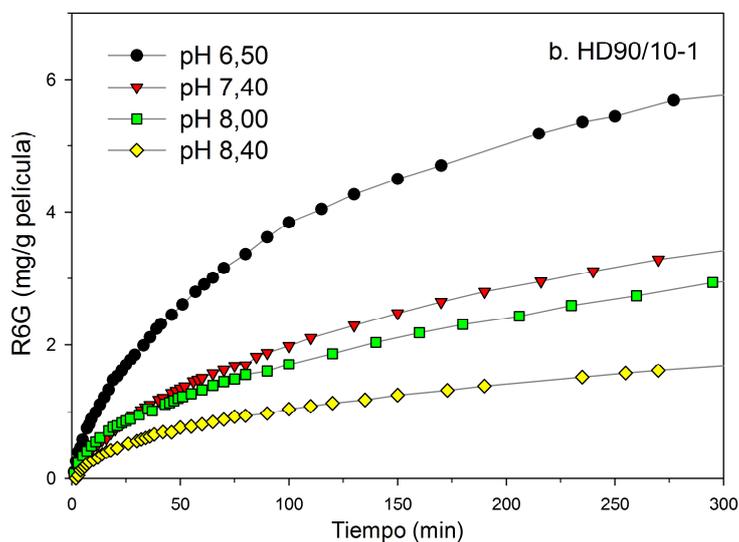
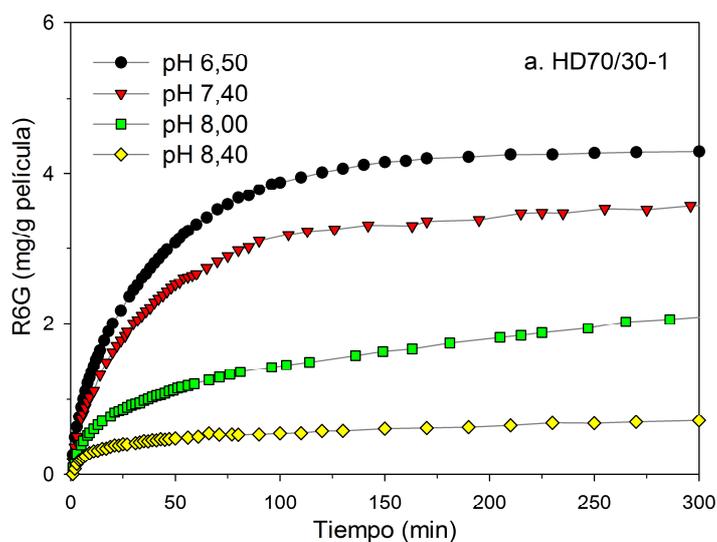
Los valores de los coeficientes de difusión de R6G en las películas de pHEMA son menores que el valor de difusión en agua, cuyo valor a 25 °C es $4,14 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (Gendron P.O. y col., 2008), y presentan un ligero incremento con el aumento del pH. Este resultado concuerda con el ligero incremento en el CA al aumentar el pH, también observado por Brannon-Peppas y Peppas en hidrogeles de pHEMA en el rango de pH de 6,0 a 8,0.(Brannon-Peppas L. y Peppas N.A., 1991).

IV.4.2.1.3. Liberación a varios pH de películas en estado abierto

Para la aplicación de estos materiales como lente de contacto terapéutica es necesario que el material se encuentre en estado hidratado previo a su uso. Por ello debemos considerar cual es el efecto que genera el estado de hidratación inicial en las velocidades y mecanismos de liberación en función del pH. En esta sección se analizan los resultados obtenidos para la liberación de R6G a diferentes valores de pH a partir de películas cargadas a pH 6,50. En esta condición el hidrogel presenta un estado abierto al comienzo de la liberación.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

En las Figura IV.4.2.1.3.1 se muestran las cinéticas de liberación de las muestras HD100/0-1 (Figura a), HD90/10-1(Figura b) y HD70/30-1 (Figura c) a diferentes valores de pH. En un principio en forma general se observa un comportamiento similar al descrito en la sección anterior. En las películas con DPA las cinéticas de liberación varían en función del pH del medio, mientras que en las películas sin DPA no se presenta una diferencia marcada con el pH. En la Tabla IV.4.2.1.3.1 se muestran los valores correspondientes al tiempo-medio de liberación.



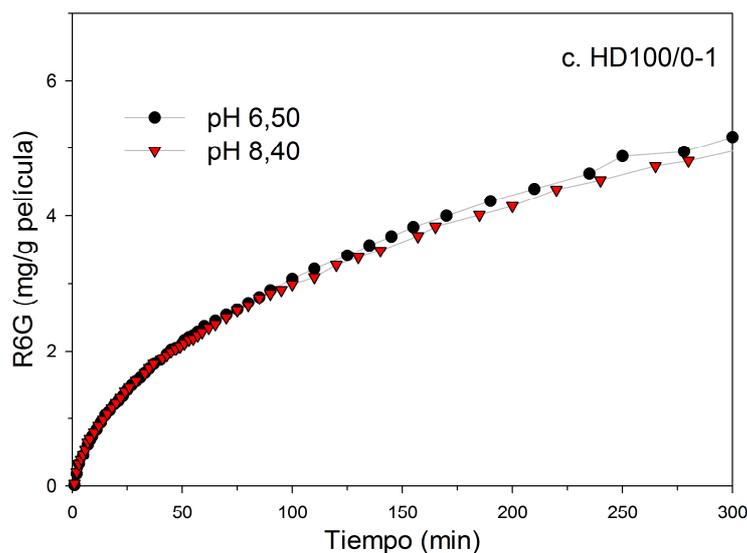


Figura IV.4.2.1.3.1. Curvas de rodamina 6G liberada y acumulada por gramo de película en función del tiempo para las películas HD70/30-1 (a), HD90/10-1 (b) y HD100/0-1 (c) en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C. La rodamina 6G fue incorporada a pH 6,50.

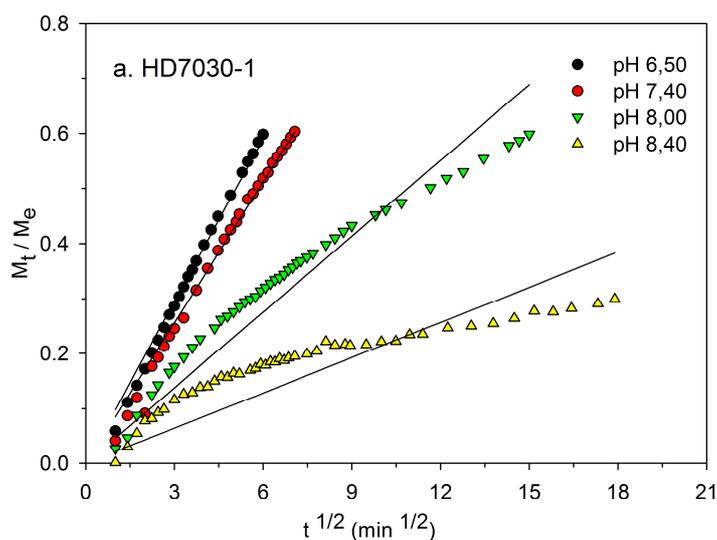
Es de hacer notar que el tiempo-medio en las muestras con DPA aumenta a medida que aumenta el pH lo que indica que la difusión de la R6G se hace más lenta. La diferencia entre los tiempos medios de liberación se acentúa con el agregado de DPA, variando de 1,4 h a 7,3 h para HD90/10-1 y de 0,4 h a 8,8 h para HD 70/30-1 al pasar de pH 6,50 a 8,40. A valores de pH bajos la liberación en los copolímeros se hace más rápida con respecto a las películas de pHEMA; mientras que a pH alto (pH 8,40) la liberación se hace de 2 a 3 veces más lenta. Esto demuestra una diferencia en la velocidad de difusión y permite regular la cantidad de PA liberado en función del pH sin importar que la matriz se encuentre abierta o cerrada al comienzo de la liberación. Sin embargo, a pesar de eso, los tiempos medios obtenidos utilizando películas en estado abierto son menores que los correspondientes al empleo de películas en estado cerrado. En el primer caso la expansión que presenta la matriz, favorece la difusión de la R6G. Es decir el estado inicial del hidrogel no modifica el comportamiento responsivo, pero si la velocidad de liberación.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

Tabla IV.4.2.1.3.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$) correspondientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador cargadas a pH 6,50.

	pH	$t_{1/2}$ (h)
HD100/0-1	6,50	3,2
	8,40	3,8
HD90/10-1	6,50	1,4
	7,40	2,5
	8,00	4,2
HD70/30-1	8,40	7,3
	6,50	0,4
	7,40	0,6
	8,00	2,3
	8,40	8,8

Para analizar los mecanismos de liberación de estas muestras se graficaron las fracciones de liberación en función de la raíz cuadrada del tiempo (Figura IV.4.2.1.3.2). De esta forma, podemos distinguir entre un mecanismo de difusión Fickiano y una difusión de orden cero o también llamada transporte caso II. En el primer mecanismo el gráfico presentará una recta, cuya pendiente está relacionada con el coeficiente de difusión (Hiratani H. y Carmen Alvarez-Lorenzo C., 2002), mientras que en el segundo caso presentará una forma sigmoïdal (Enscore D.J. y Hopfenberg H.B., 1977).



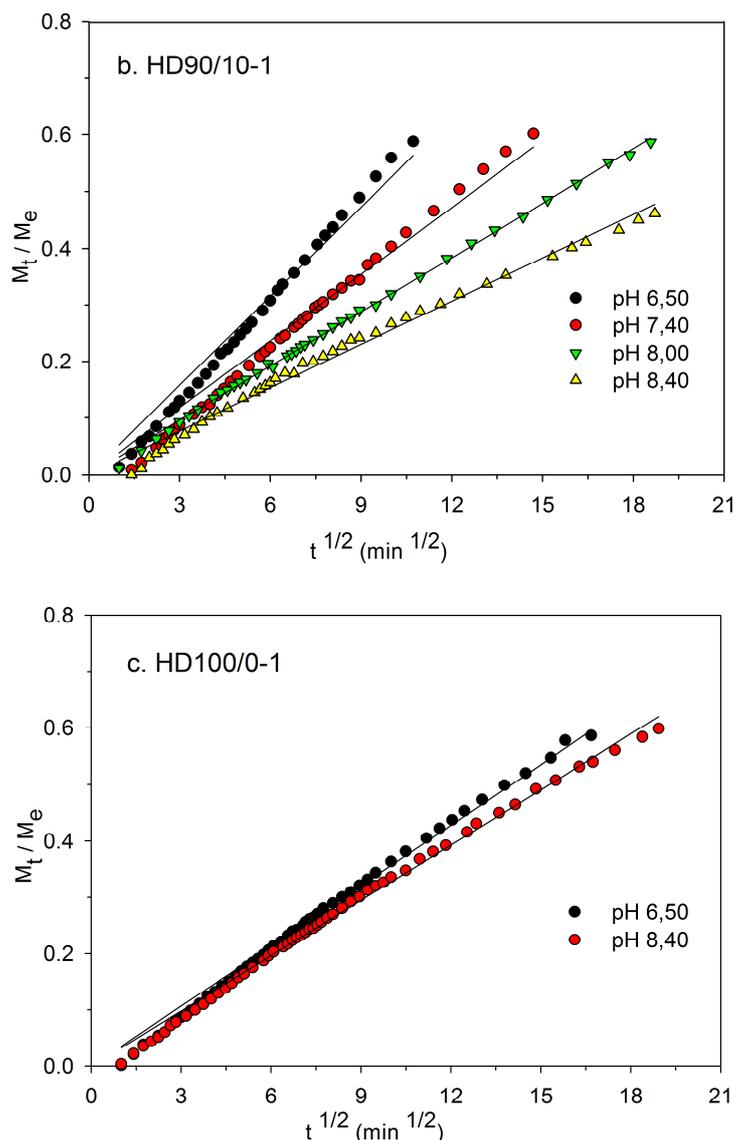


Figura IV.4.2.1.3.2: Fracción másica de rodamina 6G liberada acumulada en función del tiempo para las películas (a) HD70/30-1 (c), HD90/10-1(b) y HD100/0-1 en BF a diferentes valores de pH y a una temperatura de 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta una liberación de 0,6, con la ecuación de Higuchi (Ec. IV.1.1.3).

Podemos ver que en casi todos los casos existe una dependencia casi lineal de la fracción liberada con la raíz cuadrada del tiempo. En función de los resultados obtenidos los datos fueron ajustados hasta una fracción de liberación de 0,6 con el modelo de Higuchi (considerando un mecanismo Fickiano y una dependencia con $t^{1/2}$ Ecuación IV.1.1.3) (Chiappetta D.A. y col., 2006), y el resultado del ajuste se muestra con una línea continua en la Figura IV.4.2.1.3.2, y los coeficientes de determinación R^2 se presentan en la Tabla IV.4.2.1.3.2.

Tabla IV.4.2.1.3.2. Ajuste para los modelos de Higuchi y Ritger-Peppas de las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador cargadas a pH 6,50.

	pH	Higuchi		Ritger-Peppas
		R ²	k (min ⁻¹) x10 ²	R ²
HD100/0-1	6,50	0,993	3,57	0,996
	8,40	0,992	3,27	0,995
HD90/10-1	6,50	0,978	5,25	0,997
	7,40	0,977	3,93	0,993
	8,00	0,999	3,20	0,999
	8,40	0,988	2,56	0,988
HD70/30-1	6,50	0,990	9,93	0,997
	7,40	0,986	8,53	0,991
	8,00	0,909	4,59	0,987
	8,40	0,553	2,14	0,949

Tanto las películas de pHEMA como las del copolímero de HD90/10-1 presentan un comportamiento casi lineal con el tiempo y los datos se ajustan al modelo de Higuchi con un R² entre 0,977 y 0,993. Sin embargo, en el caso HD90/10-1 se observa un cambio en la cinética con relación al pH y el ajuste es menor, 0,978 y 0,977 para los pHs 6,50 y 7,40; comparados con los ajustes para pH 8,00 y 8,40 que son 0,999 y 0,988 respectivamente. En el caso del copolímero HD70/30-1 a pH bajos (por debajo del pKa), se obtiene un gráfico lineal con un buen ajuste del modelo, pero para valores de pH altos la relación lineal con t^{1/2} ya no es válida y el modelo no permite describir el proceso de liberación. Para poder determinar el tipo de difusión a los diferentes pHs y evaluar el mecanismo de liberación del PA, los datos también fueron ajustados empleando el modelo semi-empírico de Ritger-Peppas (Ritger P.L. y Peppas N.A., 1987). El resultado del ajuste se muestra en la Tabla IV.4.2.1.3.2 y los gráficos están presentes en la Figura IV.4.2.1.3.3

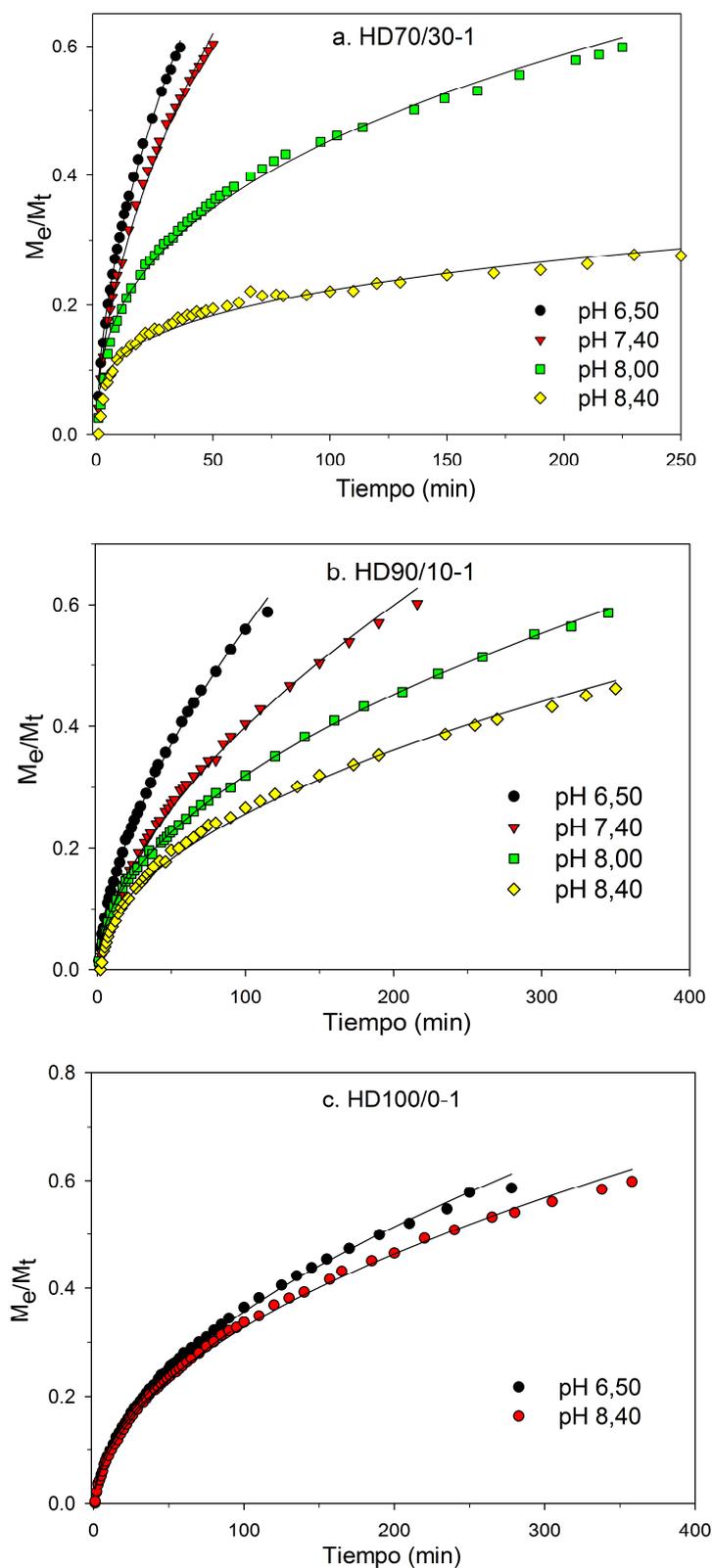


Figura IV.4.2.1.3.3. Fracción másica de rodamina 6G liberada acumulada en función del tiempo para las películas HD70/30-1 (a), HD90/10-1(b) y HD100/0-1 (c) en BF (0,1M) a diferentes valores de pH y a una temperatura de 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta una liberación de 0,6, con la ecuación de potencia de Ritger-Peppas.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

El modelo de Ritger-Peppas presenta un mejor ajuste para los datos obtenidos para las películas de HD70/30-1, especialmente para los valores de pHs por arriba del pKa, y para algunos valores de pH de las películas de HD90/10-1. Los valores de k y n calculados con la Ecuación IV.1.1.5 se recolectan en la Tabla IV.4.2.1.3.3, y las gráficas correspondientes se encuentran en el apéndice en la Figura VI.3.3.5.

Tabla IV.4.2.1.3.3. Valores del coeficiente de determinación R^2 del ajuste de Ritger-Peppas (Ec. IV.1.1.4), los parámetros k , n , (Ec. IV.1.1.5) y D_{ip} (Ec. IV.1.1.5) correspondientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador cargadas a pH 6,50.

	pH	R^2	k (min^{-1}) $\times 10^2$	n	D_{ip} ($\times 10^9$ cm^2/seg)
HD100/0-1	6,50	0,997	3,03	0,52	1,77
	8,40	0,995	3,03	0,51	1,17
HD90/10-1	6,50	0,997	3,19	0,63	-
	7,40	0,995	2,26	0,63	-
	8,00	0,998	3,07	0,51	1,87
	8,40	0,989	2,35	0,52	1,21
HD70/30-1	6,50	0,998	8,59	0,55	22,75
	7,40	0,998	7,51	0,54	27,21
	8,00	0,983	7,18	0,40	-
	8,40	0,965	6,20	0,28	-

Para las muestras de pHEMA, el valor de n indica un transporte del tipo Fickiano cómo ya se había determinado con el ajuste de la ecuación de Higuchi. Dado que estas muestras no presentan cambios estructurales con el cambio de pH (en el rango estudiado), era esperable que el pH inicial no modifique el mecanismo de liberación a ningún pH, tal como se observa.

Para los copolímeros HD 70/30-1 y HD90/10-1, el valor de n a pH 6,50 y 7,40 indica un mecanismo de transporte anómalo, que involucra un proceso de relajación que acompaña en mayor o menor medida al de difusión. En el caso de pHs más alcalinos (8,00 y 8,40) el valor de n indica un mecanismo de difusión Fickiano para las películas

HD90/10-1; mientras que para HD70/30-1, el exponente n adquiere valores por debajo de 0,5 indicando un mecanismo de transporte diferente, con la presencia de otro proceso adicional al de la difusión pasiva. Éste último comportamiento podría explicarse teniendo en cuenta que a pH mayores al pKa, la matriz comienza a perder carga, dando lugar a un deshinchamiento acompañado de un movimiento de las cadenas poliméricas tendiente a disminuir el volumen interno del hidrogel y el solvente del medio que permite la difusión de la R6G soluble en agua. En función de lo mencionado anteriormente, la difusión de la droga es menor y la liberación está determinada en mayor medida por el deshinchamiento y/o el movimiento de las cadenas poliméricas, más que por la difusión de la droga desde el interior de la matriz al medio. Además la difusión simple se ve desfavorecida al cambiar parcialmente la naturaleza hidrofílica a hidrofóbica de la película al aumentar el pH por arriba del pKa. Esto genera que la película se vuelva menos afín a las moléculas de naturaleza polar o con carga neta como es el caso de la rodamina 6G, limitando de esta forma parcialmente la difusión simple. Este comportamiento se encuentra acentuado debido al alto grado de hinchamiento inicial (carga a pH 6,50) que presenta la película antes del ensayo de liberación. Al cambiar de un medio donde la matriz se encuentra totalmente abierta a un medio donde se encuentra colapsada el efecto es mayor.

Los valores de k para los copolímeros son mayores cuando la matriz se encuentra en estado abierto que en estado cerrado, esto coincide con el aumento de la velocidad de liberación para los hidrogeles en un estado inicial abierto. En el caso de las películas de pHEMA los valores de k no presentan diferencias significativas para las dos formas de carga.

En los casos en que la difusión es Fickiana se obtuvo del gráfico de la fracción másica M_t/M_e versus $t^{1/2}/l$, los valores del coeficiente de difusión (D_{ip}), los que se resumen en la Tabla IV.4.2.1.3.3. Las gráficas correspondientes se encuentran en el apéndice en la Figura VI.3.3.6.

Podemos observar que el valor de D_{ip} aumenta con el contenido de DPA en el copolímero, es decir con el aumento del monómero más hidrofílico. Esto coincide con los resultados obtenidos para otros sistemas responsivos, como por ejemplo: en hidrogeles de HEMA y ácido itacónico (AI), al aumentar la proporción de AI el valor de D_{ip} aumenta (Tomic S.J. y col., 2007); o en hidrogeles de N-vinilpirrolidona (NVP) y HEMA, el valor de D aumenta con el incremento de NVP (Swami S.N., 2004). En todos los casos, aumentar la proporción del monómero más hidrofílico en el copolímero

contribuye con el incremento en la eficiencia de hinchamiento, esto provoca un incremento en el volumen interno y el tamaño de poros del polímero; lo que da a lugar a una mayor difusión del PA atrapado en el interior del hidrogel.

IV.4.2.2. DEXAMETAZONA COMO FÁRMACO DE USO TERAPÉUTICO

La dexametasona-21 fosfato es un glucocorticoide sintético con acciones que se asemejan a las de las hormonas *esteroides* secretadas por las glándulas suprarrenales. Es un potente antiinflamatorio que se utiliza para aliviar el dolor, la hiperemia, el edema y el calor causados por productos químicos, infecciones, y/o alergias severas (Kim J. y Chauhan A., 2008). También se emplea en el tratamiento de edema macular persistente, que es una de las principales causas de pérdida visual y ceguera en individuos que presentan diabetes (Clark A.F. y Yorio, T., 2003). La administración prolongada por vía sistémica de este fármaco puede causar efectos secundarios serios como: úlceras estomacales, crecimiento retardado, debilidad muscular, osteoporosis y psicosis (Melby J.C., 1974). Asimismo se ha reportado que la administración por vía tópica, del colirio al 0.1 %, durante períodos largos de tiempo (variando de 3 semanas a 6 semanas) puede incrementar la presión intraocular causando glaucoma acompañado de daño de nervio óptico, defectos en la agudeza visual central y periférica (Schwartz B. 1966; Urbano R.C. y Cotlier E., 1986). También se ha reportado la aparición, irreversible, de catarata subcapsular posterior en tratamientos mayores a 6 meses de duración con altas dosis (Duvall B.S. y Kershner R.M., 2006).

Es por ello que la administración controlada de este fármaco empleando lentes de contacto sería una forma de administración más segura que los colirios ya que reduce la cantidad de fármaco que alcanza los tejidos corporales (Li y Chauhan A. 2006) y de esta forma disminuyen los efectos secundarios no deseados.

En esta sección se estudia la liberación de dexametasona-21-fosfato a fin de evaluar el funcionamiento de los hidrogeles sintetizados como sistemas de transporte y liberación sostenida de fármacos oculares. Dada la baja incorporación de DXP en las películas de HEMA los niveles de liberación fueron también bajos y por tal razón los resultados de esas experiencias no serán discutidos.

IV.4.2.2.1. Liberación a pH y temperatura oculares.

En la Figura IV.4.2.2.1.1 se muestran las curvas de liberación de DXP para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador a pH 7,40 y 34,5 °C. Para todas las proporciones se distinguen tres etapas en el proceso de liberación: la primera corresponde a una liberación acelerada o precipitada, conocida como “burst effect” (Salesh N. Swami S.N., 2004); seguida por una segunda etapa con una liberación más lenta y constante; y finalmente una tercera etapa más lenta, donde la velocidad de liberación comienza a decrecer hasta alcanzar una meseta.

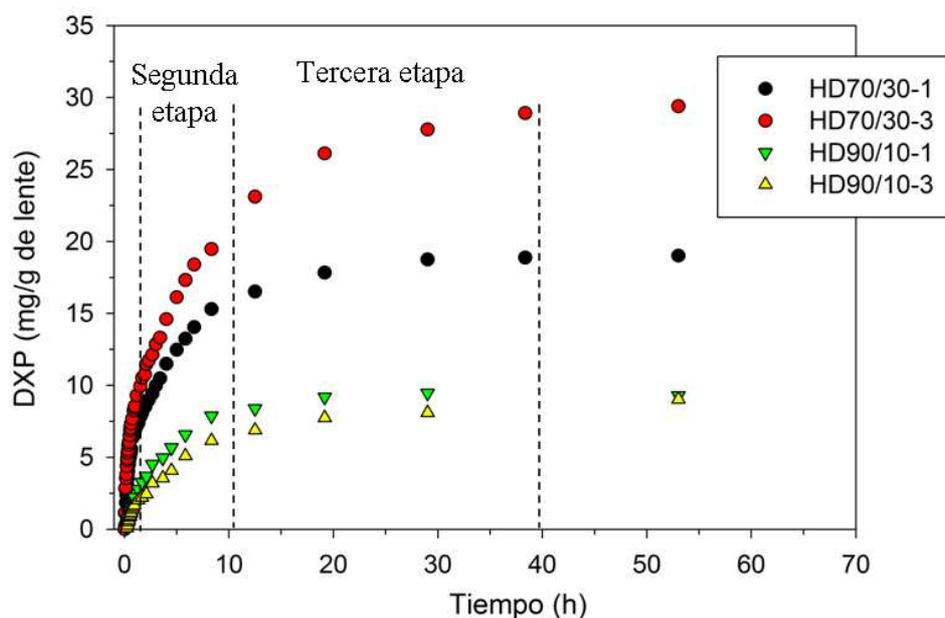


Figura IV.4.2.2.1.1. Curvas de liberación de dexametasona-21 fosfato acumulada en función del tiempo para las películas de HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C.

La primera etapa, que se visualiza con más detalle en la Figura IV.4.2.2.1.1-b, y ocurre en los primeros minutos del experimento, durando aproximadamente de 55 minutos en todos los copolímeros. La aceleración inicial que presentan difiere según la composición, y es mayor en las muestras con mayor proporción de DPA, que por otro lado son las muestras con mayor concentración de DXP inicial. Esta liberación inicial rápida es consecuencia de la difusión de las moléculas del fármaco que se encuentran cercanas a la superficie del hidrogel, tal como se ha reportado en otros trabajos (Tomic S.J. y col., 2007).

Al comienzo del ensayo, las muestras se encuentran en un estado parcialmente abierto (pH de carga 6,50) y el gradiente de concentración, entre el PA en la matriz y el medio de liberación, es muy alto, consecuentemente esta etapa es muy marcada en todas las muestras. Las diferencias observadas en la velocidad inicial entre las diferentes composiciones HEMA/DPA dependen de su estado inicial. Es así que los copolímeros que presentan una morfología inicial más abierta (HD70/30), liberan más rápido el PA que los copolímeros con una morfología inicial más cerrada (HD90/10). Este comportamiento también fue observado en los ensayos con R6G. A su vez, como la película HD70/30-3 posee una mayor cantidad de DXP incorporada en su interior (41,5 mg/g de película), su velocidad predomina sobre la de la película HD70/30-1 cuya incorporación fue de 27,3 mg/g de película. Entre HD90/10-1 y HD90/10-3 no se aprecian estas diferencias dado que la captación de DXP entre ambas es similar, 15,1 y 17,3 mg/g de película respectivamente.

Luego, esta liberación tipo pulso se desacelera, y el tiempo que dura este proceso se encuentra regulado, entre otros factores, por la velocidad de respuesta de estos hidrogeles frente al cambio de pH (de 6,50 a 7,40), y es similar para todas las muestras. A diferencia de lo observado en las cinéticas de R6G, esta etapa presenta una duración mayor (55 minutos contra 5 - 10 minutos) y es más marcada, debido a que la concentración inicial de DXP inicial es mucho mayor (R6G: entre 3 y 7 mg/g de película ; DXP: entre 15 y 41 mg/g de película).

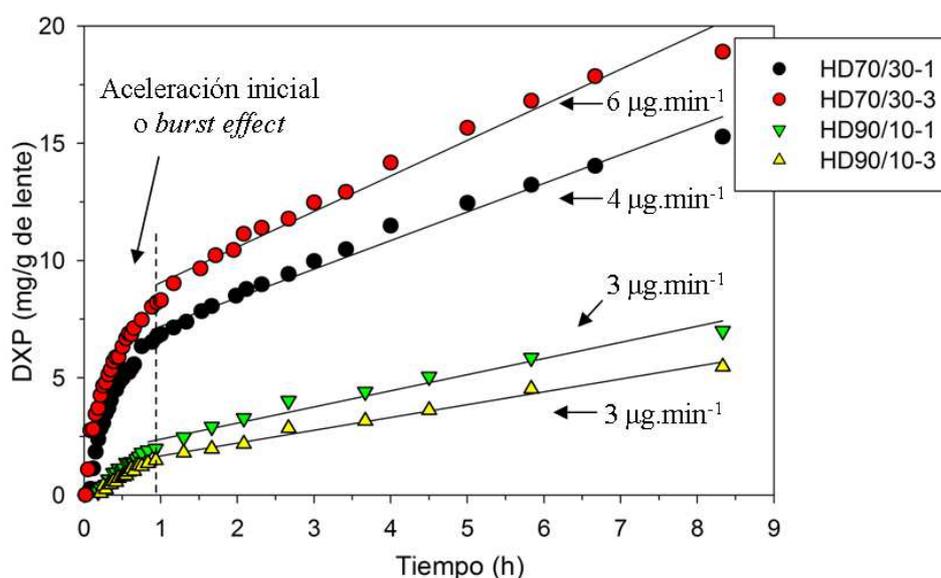


Figura IV.4.2.2.1.2. Curvas de liberación de dexametasona-21fosfato acumulada en función del tiempo, durante las primeras horas de ensayo, para las películas de HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C.

Esta migración rápida del fármaco ha sido observada en muchos estudios *in vivo* e *in vitro* cuando se emplea como vehículos las lentes de contacto blandas comerciales (empleadas principalmente para fines ópticos). Por ejemplo la absorción y liberación *in vitro* de cromolín sódico, ketorolac trometamina, dexametasona, y ketotifeno fumarato a partir de lentes de contacto a base de pHEMA Etafilcon[®], Alphafilcon[®], Polymacon[®], Vifilcon[®], y Omalfilcon[®]) y a base de siliconas (Lotrafilcon[®] y Balafilcon[®]) cocurre de forma rápida y en tiempos menores a 1 hora (para los primeros tres fármacos), y 2 horas (para el ketotifen fumarato) (Karlgaard C.C.S. y col., 2003). Asimismo, en otros trabajos la prednisolona fue enteramente liberada a la hora de lentes benfilcon como reservorio (Hull D.S. y col., 1974; Leshner G.A. y Gunderson G.G., 1993), la pilocarpina fue liberada por lentes lidofilcon (Ruben M. y Watkins R., 1975) y la trobamicina por lentes vifilcon (Podos S.M. y col., 1972), ambos en un período de 8 horas. Los fármacos ciprofloxacina, cormolin sodio, idoxuridina, pilocarpina y prednisolona fueron liberadas a partir de lentes vifilcon, etafilcon y polymalcon, en un tiempo entre los 15 minutos y las 3 horas en solución salina (Leshner G.A. y Gunderson G.G., 1993). En todos estos casos se observó una liberación rápida o acelerada del fármaco incorporado, la cual es indicada por diversos autores como consecuencia del bajo peso molecular de los fármacos y la incorporación finita de los mismos, sumado al contenido acuoso

relativamente alto de las lentes (Xinming L. y col., 2008). El empleo de lentes de contacto como reservorio, si bien mejora la absorción en la córnea, y minimiza la depuración y la absorción por la conjuntiva (en comparación con los colirios) (Smolen V.F. y col., 1975; Ding S., 1998; Mark L. y col., 1989; Hehl E.M. y col., 1999); la liberación en estos casos ocurre de forma muy rápida, y no presenta la capacidad de controlar la velocidad de liberación.

Los copolímeros sintetizados en este trabajo presentan una segunda etapa, en la cual la velocidad de liberación se desacelera y permanece prácticamente constante por un periodo de tiempo, entre los 55 minutos a las 12 horas. Esta liberación ocurre por un mecanismo de difusión a través de los poros (Tomic S.J. y col., 2007), en este caso la contracción de la matriz a pH 7,40, por arriba del pKa, retrasa la salida de la DXP. Es por ello que la velocidad depende de la posibilidad que posea el fármaco, presente en las capas más internas del hidrogel, de migrar hacia la superficie (Tomic S.J. y col., 2007); y la cual, a su vez, dependerá de diversos factores como: la composición del hidrogel, el grado de entrecruzamiento, las interacciones entre la matriz y el fármaco, el CA y la concentración del fármaco en el hidrogel.

Tanto la velocidad como el intervalo dependen de la composición del hidrogel, los valores correspondientes al tiempo que dura esta etapa (t_{f2}) se resumen en la Tabla IV.4.2.2.1.1. Se puede ver que esta liberación es más prolongada al aumentar el entrecruzador y la cantidad de DPA.

En estos casos, al disminuir el hinchamiento, que es el proceso que regula la velocidad de liberación, la cesión de DXP se hace más lenta para las películas de HD70/30 que para las películas de HD90/10 (ver Figura III.3.2.2.1). Por otra parte como la concentración inicial es mayor en los copolímeros con 30 % p/p de DPA, el período de liberación para estos materiales se extiende en el tiempo.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

Tabla IV.4.2.2.1.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$), tiempo final de la segunda (t_{t2}) y tercera (t_{t3}) etapa, y las cantidades de dexametasona-21 fosfato liberada correspondientes a las cinéticas de liberación en BF a pH 7,40 y 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

	Entrecruzador % p/p	t_{t2} (h)	t_{t3} (h)	DXP liberada	
				%	mg/g de película
HD90/10	1	8,2	19,1	62	9,28
	3	9,5	23,0	64	9,02
HD70/30	1	10,5	29,0	69	19,01
	3	11,7	38,3	70	29,39

Luego de esa etapa de liberación sostenida, la liberación comienza a desacelerarse hasta alcanzar una meseta, los tiempos a los cuales se detienen las liberaciones se muestran en la Tabla IV.4.2.2.1.1. El tiempo final de la tercera etapa (t_{t3}) es menor para las películas HD90/10, siendo a 19,1 y 23,0 horas para 1 y 3 % p/p de entrecruzador; mientras que para HD70/30 es 29,0 y 38,3 horas para 1 y 3 % p/p de entrecruzador respectivamente. En ambos copolímeros, cuanto mayor es el porcentaje de entrecruzador, mayor es el tiempo que tarda en alcanzar el equilibrio, posiblemente debido a la presencia de dominios más pequeños.

En la Tabla VI.4.2.1.1.1 se resumen los valores correspondientes al porcentaje final de DXP liberada. Estos valores están entre 62 y 70 %, y no presentan una variación significativa con el cambio de la densidad de entrecruzamiento, pero si aumentan entre un 6 a 7 % para las muestras con 30 % p/p de DPA. Los porcentajes liberados son similares a los obtenidos en la liberación de R6G a pH 7,40 (entre 60 y 72 %).1.

Con el fin de comparar los valores de DXP liberados en la segunda etapa, con la cantidad de DXP biodisponible a partir de una dosis de colirio, se calculó la dosis efectiva de la siguiente forma. Suponiendo que se instila entre 1 a 2 gotas de 30 μ l (valor correspondiente al dosificador de colirios (Alvarez-Lorenzo C. y col., 2006) de una solución 0,1 % p/v de dexametasona, y que se absorbe el máximo estipulado para esta vía de aplicación (que corresponde al 10 %), los valores de DXP absorbidos se encuentran entre 3 y 6 μ g por dosis. A su vez, según el estado de gravedad, la dosis de mantenimiento se aplica cada 2 a 8 horas. Asimismo los valores de DXP liberados por

las películas de forma sostenida son $4 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ para HD70/30-1 (R^2 : 0,98), $6 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ para HD70/30-3 (R^2 : 0,97), $3 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ para HD90/10-1 (R^2 : 0,99) y $3 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ para HD90/10-3 (R^2 : 0,97) por un período de aproximadamente 10 horas, después del cual la concentración liberada disminuye lentamente. Los valores mencionados superan ampliamente la concentración estimada, previamente, del fármaco absorbido, aún suponiendo que solo de absorba el 50 % de la cantidad liberada por película por minuto (valor que corresponde al aumento de la biodisponibilidad empleando como vehículo un lente de contacto (Li C.C y Chauhan A., 2006). Además la concentración de DXP empleada en los ensayos de carga (0,02 % p/v), es menor que la empleada en los colirios.

De esta forma es posible regular la tasa de liberación variando la composición, y por otro lado ajustar las concentraciones finales para finalmente adaptarla a las necesidades del tratamiento.

Para analizar los mecanismos de liberación se graficó la fracción de liberación M_t/M_e en función del tiempo Figura IV.4.2.2.1.3. Los datos se ajustaron con la ecuación de Ritger-Peppas (Ecuación IV.1.1.4). Los valores obtenidos se muestran en la Tabla IV.4.2.2.1.2 y presentan un ajuste aceptable con este modelo, con un R^2 mayor a 0,95.

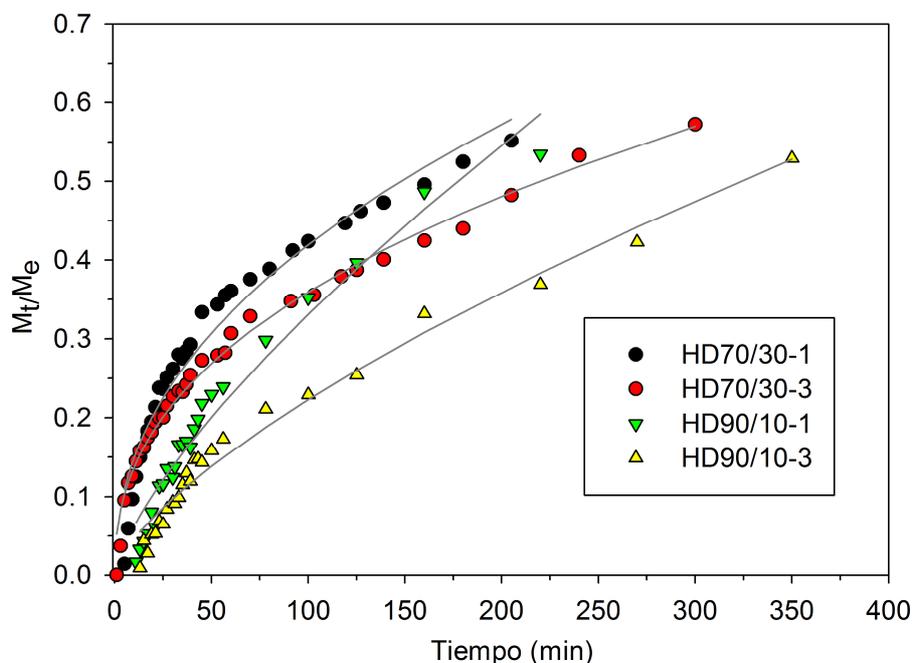


Figura IV.4.2.2.1.3. Fracción M_t/M_e de dexametasona-21fosfato liberada hasta un valor de 0,6, para HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Las líneas representan el ajuste a la ecuación II.4.2.3.1.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

Los valores de k y n se obtuvieron de aplicar el logaritmo a la ecuación que describe el modelo de Ritger-Peppas, los resultados se muestran en la Tabla IV.4.2.2.1.2, y el gráfico correspondiente se presenta en la Figura VI.3.3.6 del apéndice.

Tabla IV.4.2.2.1.2. Valores correspondientes al ajuste con la ecuación de Ritger-Peppas (Ec. 1.1.4) y los parámetros k y n (Ec. IV.1.1.5) pertenecientes a las cinéticas de liberación de DXP en BF a pH 7,4 y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

	Entrecruzador % p/p	Modelo Ritger-Peppas R ²	k (min ⁻¹) x10 ³	n
HD90/10	1	0,960	3,33	1,03
	3	0,976	3,48	0,91
HD70/30	1	0,954	8,13	0,66
	3	0,988	8,90	0,85

Podemos apreciar que las películas con 10 % p/p de DPA presentan un n cercano a 1, lo cual indica que liberación se encuentra regulada por un mecanismo de transporte caso II o de orden cero. En este caso la liberación ocurre independientemente del tiempo impulsada por la movilidad de las cadenas poliméricas. Este mecanismo de transporte es apto para obtener cinéticas de liberación sostenida del fármaco y optimizar el funcionamiento de los sistemas de liberación controlada de fármacos en terapias prolongadas.

En las películas con 30 % p/p de DPA el valor de n se encuentra entre 0,5 y 1, lo cual indica un mecanismo de transporte anómalo, no-Fickiano, en el cual se combinan un proceso de movimiento de las cadenas del polímero y un proceso de difusión que en conjunto regulan la liberación del fármaco. La difusión pasiva es un proceso que generalmente ocurre en mayor o menor medida en todos los mecanismos de liberación. La diferencia observada entre los mecanismos con 10 y 30 % p/ de DPA se explicaría porque las muestras de HD70/30 presentan una concentración de DXP mucho mayor, lo que aumenta el proceso de difusión. De esta forma las velocidades de ambos procesos son de igual orden de magnitud y el mecanismo de liberación pasa a ser un mecanismo combinado. En el caso de las películas HD90/10 predomina el proceso de relajación de las cadenas poliméricas en la regulación de la velocidad de liberación.

Al igual que lo sucedido con la R6G, podemos ver que el aumento del porcentaje de entrecruzador no modifica el mecanismo de liberación. Sin embargo, si afecta la velocidad de liberación como puede apreciarse al comparar los valores de k . Dichos valores aumentan al aumentar la densidad de entrecruzamiento, asimismo si analizamos como varía k en función de la composición HEMA/DPA, observamos que al aumentar el DPA el valor de k aumenta.

IV.4.2.2.2. Liberación con cambios dinámicos de pH

A fin de evaluar la respuesta de los copolímeros frente a cambios pequeños de pH, se realizaron sucesivas liberaciones variando el pH del medio. En la Figura IV.4.2.2.2.1 se muestran los resultados de la masa de DXP liberada para cada pH, con cambios de pH entre 7,00 y 7,80, para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador a 34,5 °C.

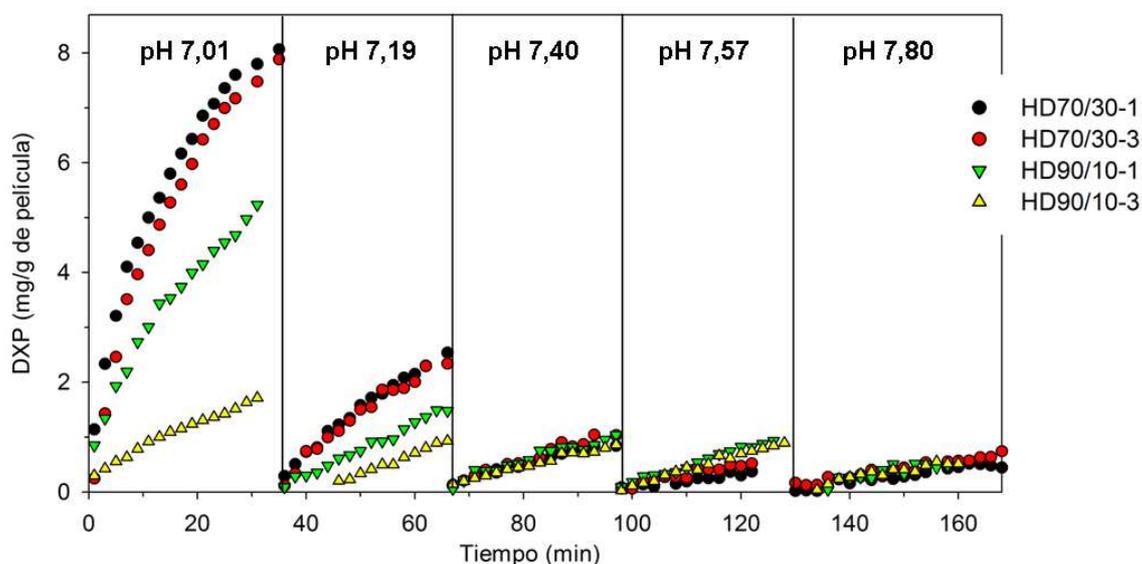


Figura IV.4.2.2.2.1. Curvas de liberación de dexametasona-21fosfato en función del tiempo, con cambios de pH dinámicos, para las películas de HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH entre 7,01 y 7,80 ($\pm 0,03$) y 34,5 °C. Las masas entre cambios de pH no son acumulativas.

Se puede observar que a medida que el pH se torna más alcalino la velocidad de liberación del fármaco disminuye gradualmente. Asimismo no se presenta un tiempo de retraso, al menos en estas condiciones experimentales, de respuesta del material al cambio de pH, cuando éste es gradual (aproximadamente saltos de 0,2 unidades de pH).

Los cambios en la velocidad de liberación al variar el pH son más marcados en los copolímeros con mayor DPA, como era de esperar.

Finalmente se puede concluir que pequeños cambios de pH del medio, pueden modificar y eventualmente controlar la velocidad de liberación de estos copolímeros, los que además pueden mantener una liberación sostenida en el tiempo logrando concentraciones de DXP adecuadas para un tratamiento terapéutico.

IV.5. CONCLUSIONES

Efecto de la estructura química del principio activo en el proceso de carga

En hidrogeles responsivos a cambios de pH, debe tenerse en cuenta que el cambio en el contenido acuoso, como propiedad relevante de los hidrogeles, está acompañado de un cambio en el estado iónico del material y puede modificarse el proceso de incorporación del PA. En nuestro caso particular, dependiendo del PA la incorporación puede aumentar con el CA como es el caso de DXP y RB, o disminuir con el aumento del mismo como es el caso de los demás compuestos (TM, R6G, AM e IBP).

Podemos concluir que en estos hidrogeles la incorporación de PA se encuentra principalmente determinada por la existencia de interacciones entre el hidrogel y el PA, más que con el contenido acuoso y el peso molecular del mismo. Como consecuencia de la estructura química de los copolímeros, éstos presentan una mayor capacidad de carga con compuestos aniónicos que con catiónicos. En los casos en que hay una afinidad similar entre el PA y la matriz, se observa una mayor incorporación de los PA con menor peso molecular.

Efecto del pH de la solución de carga del principio activo

La capacidad de un hidrogel pH-responsivo de incorporar un PA depende también del pH del medio de carga y se encuentra principalmente relacionada con la existencia de interacciones entre el PA y la matriz.

En el caso de la R6G, los valores finales de captación dependen del equilibrio que se logra entre el contenido de agua, que favorece la captación de la R6G y el grado de protonación de los grupos amino del DPA del copolímero, que desfavorece la incorporación.

Los resultados indican que es posible modificar el grado de incorporación del PA variando el pH del medio de carga en lugar de modificar los tiempos de carga. De esta forma se puede regular la cantidad de fármaco incorporada al hidrogel en función de la dosis que se pretende liberar. Esto presenta una ventaja ya que la dosis de tratamiento depende de las características del paciente y del estado de gravedad de la patología. El emplear películas cargadas en condiciones de equilibrio permite obtener velocidades de liberación más controladas y reproducibles.

En cuanto a la cinética de carga, comparando los resultados a pH 6,50 y 8,40 (por debajo y por arriba del pKa) para la rodamina 6G, se concluye que al cambiar el pH, se afecta la velocidad inicial de carga para todas las proporciones HEMA/DPA. Este comportamiento está relacionado con dos factores: con la propiedad de difusión del agua al interior de cada matriz y con la afinidad entre la R6G y la matriz.

Cambios en las cinéticas de liberación con el pH

Cuando el pH de liberación (6,50 - 7,40) está por debajo del pKa de los copolímeros HEMA/DPA se obtiene un valor de n indicativo de un mecanismo de transporte anómalo y/o caso II, que involucran un proceso de relajación que acompaña en mayor o menor medida al de difusión para los principios activos ensayados (DXP y R6G).

A un pH mayor al pKa se observa una liberación más lenta, lo que permitiría prolongar el tiempo de administración del fármaco y de esta forma aumentar el tiempo de permanencia del mismo en contacto con el tejido.

Los cambios en la velocidad de liberación al variar el pH son más marcados en los copolímeros con mayor DPA, como era esperado.

Las películas de pHEMA presentan para la liberación de R6G un valor de n cercano a 0,5 y su principal mecanismo es la difusión Fickiana. Las películas que contienen DPA en alta proporción (30 % p/p) presentan un mecanismo de liberación no Fickiano o anómalo (n entre 0,5 y 1) relacionado con su capacidad de hinchamiento. Al aumentar el contenido de DPA el valor de k disminuye lo que permite de esa manera reducir la velocidad de liberación. En el caso de la DXP con películas con 10 % p/p de DPA se obtiene un n cercano a 1, lo cual indica que liberación se encuentra regulada por un mecanismo de transporte caso II o de orden cero. En este caso la liberación ocurre independientemente del tiempo impulsada por la movilidad de las cadenas poliméricas.

Este mecanismo de transporte es apto para obtener una cinética de liberación sostenida del fármaco y de esa manera optimizar el funcionamiento de los mismos en terapias prolongadas.

En el caso de valores de pH más alcalinos por encima del pKa (8,00 y 8,40) el valor de n para la liberación de R6G indica un mecanismo de difusión Fickiano para las películas con 10 % p/p de DPA; mientras que para 30 % p/p, el exponente n adquiere valores por debajo de 0,5 indicando un mecanismo de transporte diferente, con la presencia de otro proceso adicional al de la difusión pasiva. La liberación está determinada en mayor medida por el deshinchamiento y/o el movimiento de las cadenas poliméricas, más que por la difusión de la droga desde el interior de la matriz al medio. En este caso la difusión simple se ve desfavorecida al cambiar la naturaleza hidrofílica/hidrofóbica de la matriz.

En base a los resultados experimentales a diferentes valores de pH, se concluye que el mecanismo de liberación de un PA en polímeros pH-responsivos puede ser similar, pero la cantidad final de PA liberado depende del pH del medio y del grado de hinchamiento del material, lo que permitiría un control de PA liberado en función del pH del medio.

Frente a lo expuesto se puede concluir que el mecanismo de liberación de estos hidrogeles se encuentra regulado por la capacidad de modificar su estructura (su hinchamiento y tamaño) frente a cambios en el pH del entorno, como sucede en sistemas pH estímulo-responsivos.

Efecto de la morfología inicial del hidrogel

A valores de pH bajos la liberación en los copolímeros se hace más rápida con respecto a las películas de pHEMA; mientras que a pH alto (pH 8,4) la liberación se hace de 2 a 3 veces más lenta. Esto demuestra una diferencia en la velocidad de difusión y permite regular la cantidad de PA liberado en función del pH sin importar que la matriz se encuentre abierta o cerrada al comienzo de la liberación. Sin embargo, a pesar de eso, los tiempos medios obtenidos utilizando películas en estado abierto son menores que los correspondientes al empleo de películas en estado cerrado. En el primer caso la expansión que presenta la matriz, favorece la difusión de la R6G. Es decir el estado inicial del hidrogel no modifica el comportamiento responsivo, pero si la velocidad de liberación.

Efecto del grado de entrecruzamiento

El grado de entrecruzamiento reduce las cantidades de PA liberadas aumentando el tiempo de liberación, lo que podría prolongar el tiempo de terapia, especialmente en las películas conteniendo DPA.

Si comparamos el efecto de la concentración de entrecruzador en el mecanismo de liberación podemos ver que la densidad de entrecruzamiento no lo modifica. Sin embargo se afecta la velocidad de liberación, disminuyendo al aumentar el nivel de entrecruzador (proceso de liberación más lento).

Caracterización morfológica e interacciones PA-matriz

La microscopía electrónica de barrido (SEM) aporta información sobre la distribución del PA en la matriz. A modo de ejemplo, a pH 6,50 la R6G se encuentra mayormente distribuida en la superficie del hidrogel lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos en la carga (menor afinidad por la matriz) y en la liberación (mayor velocidad de salida).

La presencia de interacciones entre las matrices poliméricas y los principios activos puede ser analizada mediante espectroscopía de infrarrojo. En el caso de las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA), con y sin R6G los espectros de infrarrojo junto con las bajas concentraciones de R6G incorporada en los copolímeros con DPA indican que las interacciones de la R6G con el pHEMA se modifican luego de la incorporación de DPA, lo que puede modificar el comportamiento de liberación del PA. En el caso de la DXP el análisis de los espectros indica también la existencia de una interacción entre la matriz y la dexametasona-21 fosfato.

IV.6. BIBLIOGRAFIA

- Ali M, Horikawa S, Venkatesh S, Saha J, Wook Hong J, Byrne ME. Zero-order therapeutic release from imprinted hydrogel contact lenses within in vitro physiological ocular tear flow. *Journal of Controlled Release*, 2007 ; 124 : 154–162.
- Alvarez-Lorenzo C, Hiratani H, Concheiro A, Contact lenses for drug delivery. Achieving sustained released with novel Systems. *Am. J. Drug Deliv.* 2006; 4:131-151.
- -Alvarez-Lorenzo C. Hiratani H. Concheiro. Contact lenses for drug delivery. Archiving sustained release with novel systems. *Am. J. Deliv.* 2006; 4:131-151.
- Aquavella JV. New aspects of contact lenses in ophthalmology. *Adv. Ophthalmol.* 1976; 32:2-34.
- Baeyens V, Gurny R. Chemical and physical parameters of tears relevant for the design of ocular drug delivery formulations. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1997; 72: 191–202.
- Bajpai AK, Shukla SK, Bhanu S, Kankane S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 2008; 33: 1088–1118.
- Bakkialakshmi S, Menaka T. A study of the interaction between rhodamine 6g and hydroxy propyl-cyclodextrin by steady state fluorescente. *Spectrochimica. Acta Part. A*, 2011; 81: 8–13.
- Brannon-Peppas L, Peppas NA. Equilibrium swelling behaviour of dilute ionic hydrogels in electrolytic solutions. *J. Controlled Rel.* 1991; 16: 319–330.
- Brannon-Peppas L, Peppas NA. *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, 1997; pp. 34-46.
- Brannon-Peppas L. *Polymers in Controlled Drug Delivery. Medical Plastics and Biomaterials*, 1997; 4: 34 – 44.
- Brazel CS, Peppas NA. Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable, hydrophilic glassy polymers. *Polymer*, 1999; 40: 3383-3398.
- Butty P. Determination in situ du pH et du pouvoir tampon de la surface comtenne de la souris par epi-microscopic de fluorescence. *These UniversitC de Geneve*. 1995; pp. 1-212.
- Carney LG, Mauger TF, Hill RM. Buffering in human tears: pH responses to acid and base challenge. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1989; 30: 747-754.
- Clark AF, Yorio T. Ophthalmic drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2003; 2: 448–459.
- Coles W, Jaros P. Dynamics of ocular surface pH. *Br. J. Ophthalmol.* 1984; 68: 549-552.
- Díez Peña E. Desarrollo y caracterización de hidrogeles polimericos con aplicación en la liberación controlada de fármacos, Tesis doctoral, Universidad complutense de Madrid, Facultad de farmacia y tecnología farmaceutica, Madrid 2002, ISBN: 84-669-2028-5.
- Ding S. Recent developments in ophthalmic drug delivery. *Pharm. Sci. Technol. Today*, 1998; 1:328–35.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

- Duvall BS, Kershner RM. Ophthalmic medications and pharmacology. Segunda edición, SLACK incorporated, 2006.
- Ensore DJ, Hopfenberg HB. Effect of particle size on the mechanism controlling n-hexane sorption in glassy polystyrene microspheres. *Polymer*, 1977; 18: 793.
- Gendron PO, Avaltroni F, Wilkinson KJ. Diffusion Coefficients of Several Rhodamine Derivatives as Determined by Pulsed Field Gradient–Nuclear Magnetic Resonance and Fluorescence Correlation Spectroscopy, *Journal of Fluorescence*, 2008; 18: 1093-1101.
- Haruyuki Hiratani H, Carmen Alvarez-Lorenzo C. Timolol uptake and release by imprinted soft contact lenses made of N,N-diethylacrylamide and methacrylic acid. *Journal of controlled release*, 2002; 83:223-230.
- Hehl EM, Beck R, Luthard K, Guthoff R. Improved penetration of aminoglycosides and fluoroquinolones into the aqueous humor of patients by means of acuvue contact lenses. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1999; 55: 317–23.
- Hiratani C, Alvarez-Lorenzo C. *Journal of controlled release*, 2002; 83: 2230-230.
- Hull DS, Edelhauser HF, Hyndiuk RA. Ocular penetration of prednisolone and the hydrophilic contact lens. *ARCH Ophthalmol.* 1974; 92: 413–416.
- Jain MR. Drug delivery through soft contact-lenses. *Br. J. Ophthalmol.* 1988; 72: 150-4.
- Karlgard CCS, Wong NS, Jones LW, Moresoli C. In vitro uptake and release studies of ocular pharmaceutical agents by silicon-containing and p-HEMA hydrogel contact lens materials. *International Journal of Pharmaceutics*, 2003; 257: 141–151.
- Katzung BG. *Farmacología básica y clínica*. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. 2005, cap 2 y 3.
- Kim J, Chauhan A. Dexamethasone transport and ocular delivery from poly(hydroxyethyl methacrylate) gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 353: 205–222.
- Kim SW, Bae YH, Okano T. Hydrogels: Swelling, Drug Loading, and Release. *Pharm. Res.*, 1992; 9: 283-290.
- Kost J, Langer R. *Hydrogels in Medicine and Pharmacy - Properties and Applications*. Peppas NA, ed., vol III, CRC Press, Inc., Florida, 1987; pp. 95-108.
- Langer R. Polymer-controlled drug delivery systems. *Accounts Chem. Res.* 1993; 26: 537-542.
- Legaspi MJ, Cantarelli GN, Bregni C, Chiappetta DA., Gergic EP. Comprimidos Bioadhesivos formulados con excipientes hidrofílicos para uso bucofaríngeo. *Acta farmacia bonaerense*, 2006; 25: 360-5.
- Leshner GA, Gunderson GG. 1993. Continuous drug delivery through the use of disposable contact lenses. *Optometry Vision Sci.* 1993; 70: 1012–1018.
- Leshner G.A., Gunderson GG. Continuous drug-delivery through the use of disposable contact-lenses. *Optom. Vis. Sci.* 1993; 70: 1012-8.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

- Li CC, Chauhan A. Modeling ophthalmic drug delivery by soaked contact lenses. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2006; 45: 3718 – 3734.
- Lowman AM, Peppas NA. *Encyclopedia of controlled drug delivery volumen 1*, editado por Edith Mathiowitz, Brown University, Providence, Rhode Island, John Wiley & Sons, Inc. 1999; pp 397-418.
- Lumbroso P, Nhamias M, Nhamias S, Tranche P, 1996. A preliminary study of the adsorption and release of preservatives by contact lenses and collagen shields. *CLAO J.* 1996; 22: 61– 63.
- Mark L, McDermott MD, John W, Chandler MD. Therapeutic uses of contact lenses. *Surv. Ophthalmol.* 1989; 33:381–94.
- Mastman GJ, Baldes EJ, Henderson JW. The total osmotic pressure of tears in normal and various pathologic conditions. *Arch. Ophthalmol.* 1961; 65: 509-513.
- Melby JC. Drug spotlight program: Systemic corticosteroid therapy: Pharmacology and endocrinologic considerations. *Ann. Intern. Med.* 1974; 81: 505–512.
- Miranda MN, Garcia-Castineiras S. Effects of pH and some common topical ophthalmic medications on the contact lens permalens. *CLAO J.* 1983; 9: 43–48.
- Momose T, Ito N, Kanai A, Watanabe Y, Shibata M. 1997. Adsorption of levocabastine eye drops by soft contact lenses and its effects in rabbit eyes. *CLAO J.* 1997; 23: 96–99.
- Moses RA, Hart WM. *Adler Fisiología del ojo. Aplicación clínica*, 8va Ed., Editorial Medica Panamericana S.A., Bs. As. Argentina, 1988; Cap. 2.
- Ng LT, Arsenin A, Nguyen D. *Proc. RadTech Asia'03*, Yokohama, Japan, 2003; 669-672.
- Nom MS. Tear fluid in normals, contact lens wearers, and pathological cases. *Acta Ophthalmol.* 1988; 66: 485-489.
- Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000; 50: 27.
- Pillay V, Fassihi R. A novel approach for constant rate delivery of highly soluble bioactives from a simple monolithic system. *J. Control. Release*, 2000; 67: 67-78.
- Pinzón N, Espinosa A, Perilla J, Hernáez E, Katime I. Modelación del hinchamiento y difusión de solutos en hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 2002; 3.
- Podos SM, Becker B, Asseff C, Hartstein J. Pilocarpine therapy with soft contact lenses. *Am. J. Ophthalmol.* 1972; 73: 336– 341.
- Podos SM., Becker B, Asseff C, Hartstein J. Pilocarpine therapy with soft contact lenses. *Am. J. Ophthalmol.* 1972; 73: 336–341.
- Qiu Y, Park K. Hydrogel microparticles as dynamically tunable microlenses. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2001; 53: 321- 339.
- Ritger PL, Peppas NA. A simple equation for description of solute releaseII. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of controlled release*, 1987; 5:37-42.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

- Ruben M, Watkins R. 1975. Pilocarpine dispensation for the soft hydrophilic contact lens. Br. J. Ophthalmol. 1975; 59: 455– 458.
- Ruben M, Watkins R. Pilocarpine dispensation for soft hydrophilic contact-lens. Br. J. Ophthalmol. 1975; 59: 455-8 66.
- Schwartz B The response of ocular pressure to corticosteroids. Int. Ophthalmol. Clin. 1966; 6: 929–989.
- Silverstein RM, Webster FX. Spectrometric Identification of Organic Compounds , 6ta Ed., John Wiley & Sons Inc. NY, 7ª ed., Chichester, 2005; Capitulo 3, p.142.
- Smolen VF, Vemuri R, Miya TS, Williams EJ. Contact lens—efficient, corneal loading, drug delivery system for anti-glaucoma drugs. Drug Dev. Commun. 1975;1: 479–94.
- Supersaxo A, Kou JH, Teitelbaum P, Maskiewicz R. Preformed porous microspheres for controlled and pulsed release of macromolecules. Controlled Release, 1993; 23: 157-164.
- Swami SN. Radiación Synthesis of polymeric hydrogels for Swelling-controlled Drug Release Studies. Universidad de Western Sydney, Nuevo sur de Gales, Australia. Trabajo de tesis 2004.
- Swami SN. Radiación Synthesis of polymeric hydrogels for Swelling-controlled Drug Release Studies. Universidad de Western Sydney, Nuevo sur de Gales, Australia. Trabajo de tesis 2004.
- Teijón JM, Trigo R.M, García O, Blanco MD. Cytarabine trapping in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels: drug delivery studies. Biomaterials, 1997; 18: 383-388.
- Tomic SL, Micic MM, Filipovic JM, Suljovrujic EH. Swelling and drug release behavior of Poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid)mcopolymeric hydrogels obtained by gamma irradiation. Radiation physics and chemistry, 2007; 76: 801-810.
- Trigo RM, Blanco MD, Teijón JM, Sastre R. Anticancer drug, ara-C, release from pHEMA hydrogels. Biomaterials, 1994; 15:1181-1186.
- Tripathi SK, Alka Monga A, Saini GSS. Characterization of thermally evaporated thin films of Rhodamine 6G, Smart Mater. Struct. 2009; 18: 12.
- Urban RC, Cotlier E. Corticosteroid-induced cataracts. Surv. Ophthalmol. 1986; 31: 102– 110.
- Van Hearingen NJ. Clinical biochemistry of tears. Survey of Ophthalmology, 1981;26: 84-96.
- Veys J, Davies I. Basic contact lens practice. Part 12. Therapeutic contact lenses. Optician, 1996; 212: 32–40.
- Wajs G, Meslard JC. Release of therapeutic agents from contact lenses. Crit. Rev. Ther. Drug. 1986; 2: 275-89.

IV. Estudio de los hidrogeles como sistemas de transporte y liberación controlada de principios activos- Ensayos de liberación

- Watanabe H, Hayazawa N, Inouye Y, Kawata S. DFT Vibrational Calculations of Rhodamine 6G Adsorbed on Silver: Analysis of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy J. Phys. Chem. B, 2005; 109: 5012-5020.
- Winterton LC, Lally JM, Sentell KB, Chapoy LL. The elution of poly(vinyl alcohol) from a contact lens: the realization of a time release moisturizing agent/artificial tear. J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater. 2007;80: 424-32.
- Xinming L, Yingde C, Lloyd AW, Mikhalovsky SV, Sandeman SR, Howel CA, Liewen L. Polymeric hydrogels for novel contact lens-based ophthalmic drug delivery systems: A review. Contact Lens & Anterior Eye, 2008; 31:57-64.

V. CONCLUSIONES GENERALES

El presente trabajo permitió establecer las condiciones experimentales para obtener hidrogeles compuestos por copolimerización de 2-hidroxietil metacrilato y 2-(diisopropilamino)etil metacrilato en forma de películas manipulables, con buenas propiedades ópticas, estabilidad térmica, buena humectabilidad, con un alto a medio contenido de agua y propiedades de responsividad al entorno.

Mediante los ensayos de caracterización fue posible determinar que a partir de las variaciones en la composición del hidrogel, incluyendo el grado de entrecruzamiento, y las condiciones del medio (pH y temperatura) se puede modificar el estado y la distribución del agua en el interior de la matriz, el contenido acuoso, la morfología interna y superficial, el grado de ionización, la humectabilidad y el tamaño de poro.

Los ensayos de captación y liberación de principios activos indican que las variables antes mencionadas afectan, para un dado principio activo, los tiempos de carga, los valores finales incorporados, el mecanismo de transporte y las cinéticas de liberación.

Finalmente con los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que es posible diseñar un sistema, empleando copolímeros de 2-hidroxietil metacrilato y 2-(diisopropilamino)etil metacrilato (o monómeros alternativos), que se adecue a los requerimientos específicos (dosis y tiempos) para una dada estrategia terapéutica a fin de optimizar la eficiencia de la misma.

Teniendo en cuenta que en ciertas patologías oculares el pH lagrimal puede modificarse, y que los sistemas sintetizados presentan una propiedad responsiva ante pequeños cambios de pH en el rango de pH lagrimal; se dispone de un sistema que potencialmente puede regular la velocidad de liberación del principio activo de acuerdo a las necesidades patológicas variables.

Incluyendo otros monómeros es posible modificar los rangos de pH y/o de temperatura a los cuales el sistema es responsivo, de manera de modular la respuesta a los rangos de pH y temperatura necesarios para su aplicación.

VI. Apéndice

VI.1. Material complementario del capítulo II

VI.1.1 Figuras

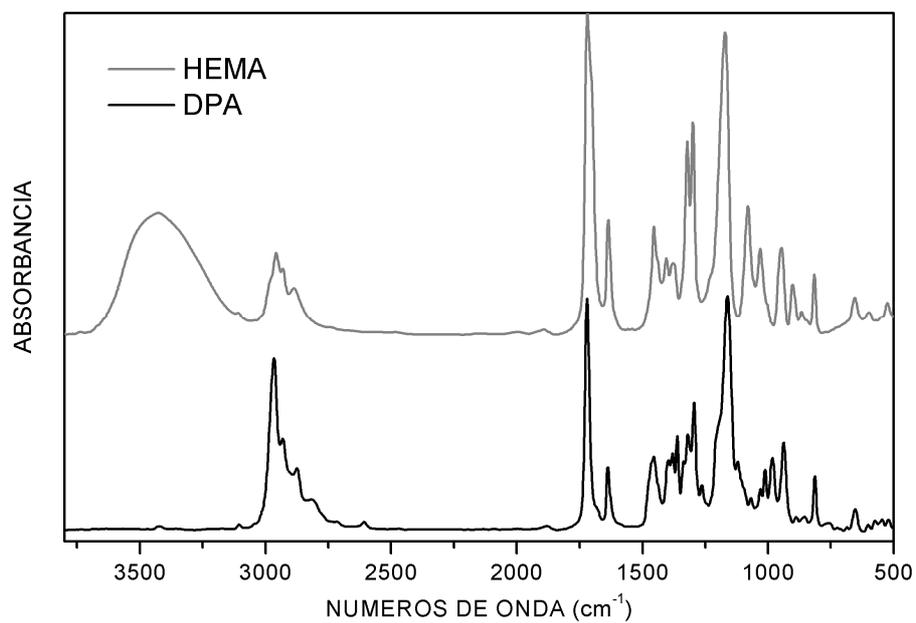
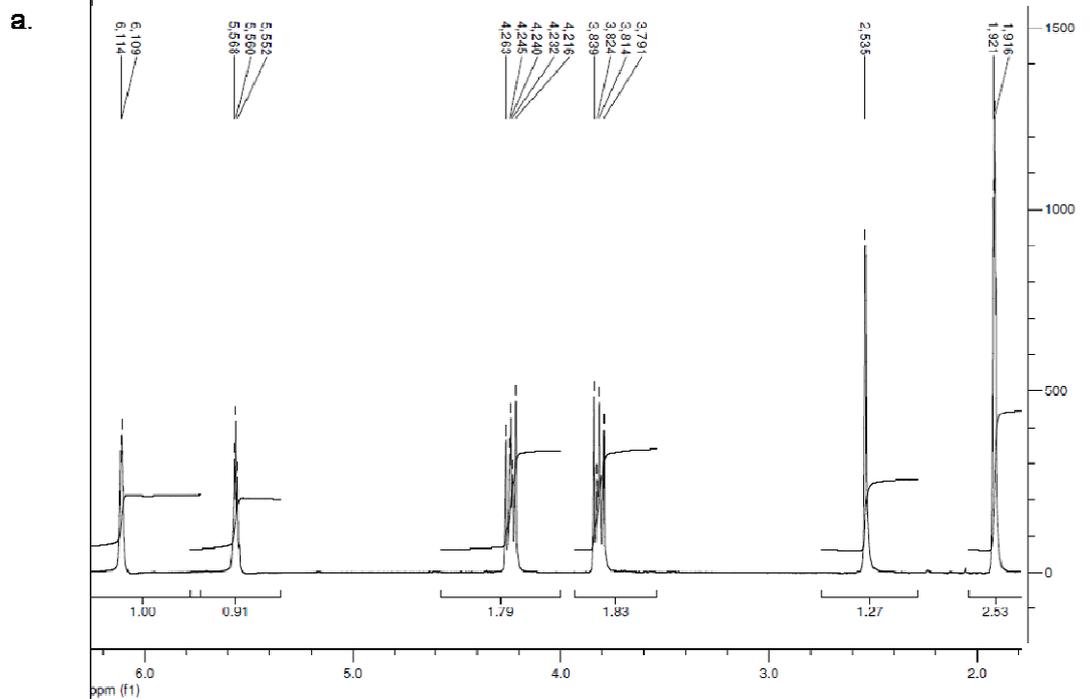


Figura VI.1.1.1. Espectros FTIR de los monómeros purificados.



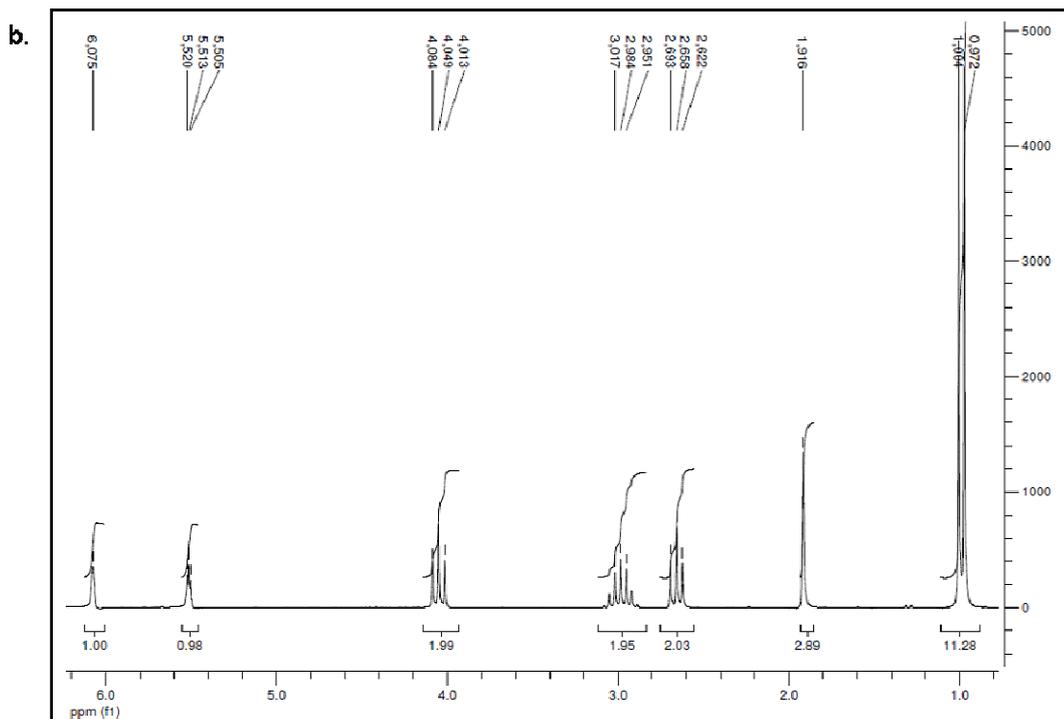


Figura VI.1.1.2. Espectros RMN de los monómeros purificados: a. HEMA, b: DPA.

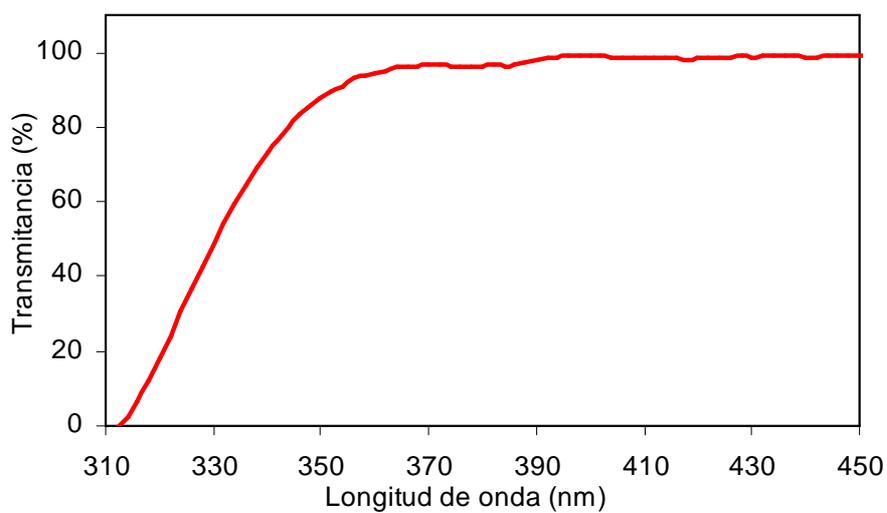


Figura VI.1.1.3. Curva de transmitancia UV-visible para los vidrios del molde de polimerización.

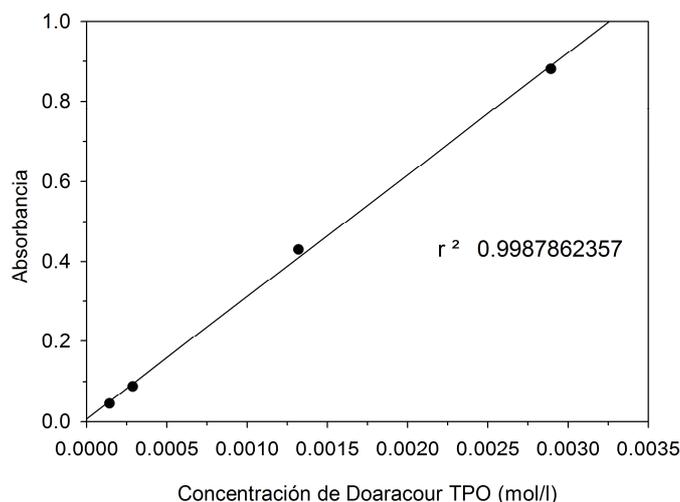


Figura VI.1.1.4. Curva de absorción UV a 350 nm para diferentes concentraciones de Doaracour TPO (iniciador).

VI.1.2. Datos

VI.1.2.1. Receta para preparar soluciones de ferrioxalato de potasio ($K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3H_2O$).

Primero se preparan las siguientes soluciones:

- Solución (a): 1.5 M de $FeCl_3 \cdot 9H_2O$
- Solución (b): 1.5 M de $K_2C_2O_4 \cdot H_2O$

Luego, en un ambiente con luz roja, se mezclan 1 volumen de la solución (a) con 3 volúmenes de la solución (b) y se deja en una placa de petri cubierta con papel aluminio en la oscuridad durante 24 horas.

Preparación de la solución de ferrioxalato de potasio 0,092 M:

Para la solución de ferrioxalato de potasio se disolvieron 5,64033 g de la solución madre en 70,033 g de buffer acético/acetato (0,1 M) a pH 3,98.

VI.1.2.2. Curva de calibración para la determinación de la concentración de iones ferrosos formados durante la actinometría de la lámpara RPR-3500.

Preparación de buffer ácido acético /acetato de sodio (HAc/NaAc) 0,1M, pH 4.00:

Para preparar el buffer se pesaron 2.450 g de acetato de sodio, y se mezclaron con 4,6940 ml de ácido acético. Luego la mezcla se enrazó en un matraz de 1000 ml utilizando agua destilada. El pH resultante de la solución buffer fue de 3,98.

Preparación de la solución de o-fenantrolina 0,0075M:

Se mezclaron 0,75088 g de o-fenantrolina con 250 ml de etanol/agua en una relación 1:4. Esta mezcla se calentó a 65 °C con agitación constante hasta observar una solución homogénea. Finalmente se preparó una solución 1:1 entre la solución de o-fenantrolina y buffer acético acetato.

Preparación de la solución de Fe⁺² 0,0001M:

La solución madre de Fe⁺² para la curva de calibración se preparó utilizando la sal de Mohr, como fuente de ion ferroso debido a su alta estabilidad. La sal de Mohr ó sulfato ferroso amónico, cuya formula molecular es Fe(NH₄)₂(SO₄)₂.6H₂O, tiene un peso molecular de 392.14 g/mol y es un sólido azul-verdoso.

La solución madre se preparó con una concentración de 0,0001 M, a partir de 0,39214 g de sal de Morh y 100 ml de buffer acético/acetato como medio de dilución.

Curva de calibración

Para la curva de calibración se prepararon varias soluciones de Fe⁺² con concentraciones entre 9x10⁻⁴ y 1x10⁻⁵ M, a partir de una solución madre de 0,0001 M de sal de Morh. Luego se prepararon las soluciones del complejo con una relación 1:3 entre cada solución de Fe⁺² y una solución de o-fenantrolina 0,0075 M. La absorbancia correspondiente al complejo formado entre la o-fenantrolina y el Fe⁺² se midió a 510 nm. La curva de calibración obtenida se muestra a continuación, en la Figura IV.1.2.2.1.

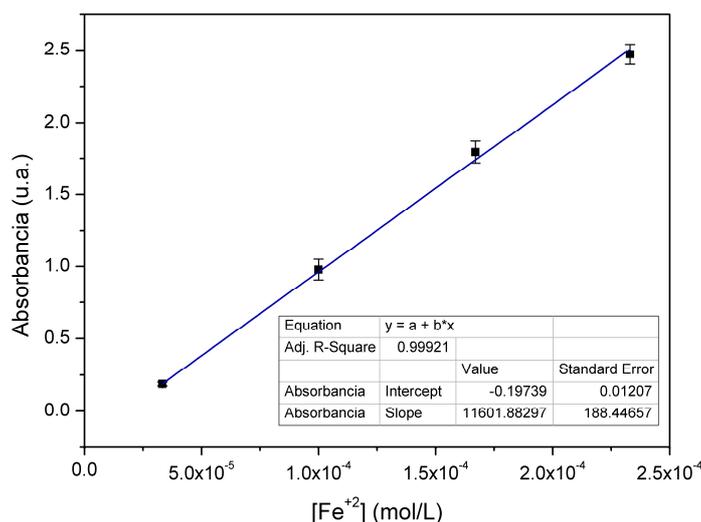


Figura IV.1.2.2.1. Curva de calibración para la formación del complejo ión ferroso/o-fenantrolina

VI.2. Material complementario del capítulo 3.

VI.2.1. Figuras

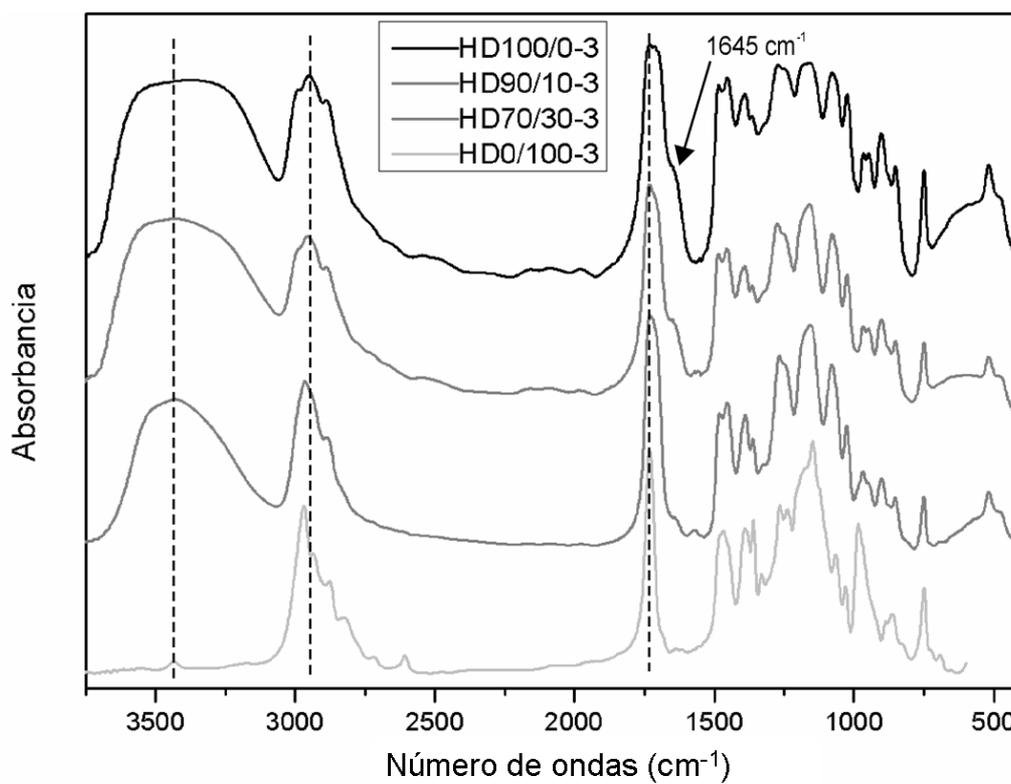


Figura VI.2.1.1. Espectros FTIR de las muestras de p(HEMA-co-DPA), pDPA y pHEMA con 3 % p/p de EGDMA.

VI.2.2 Tablas

Tabla VI.2.2.1. Reactivos y cantidades utilizadas para la preparación de las diferentes soluciones buffer fosfato de sodio (BF).

pH	Na ₂ HPO ₄ 0,1M (ml)	NaH ₂ PO ₄ 0,1M (ml)
6,00	13,15	86,85
6,50	32,37	67,63
7,00	60,22	39,78
7,20	70,58	29,42
7,40	79,17	20,83
7,57	84,90	15,10
7,80	90,52	9,48
8,00	93,80	6,20

8,40	97,44	2,56
------	-------	------

VI.3. Material complementario del capítulo 4.

VI.3.1. Espectros UV-Visibles de compuestos.

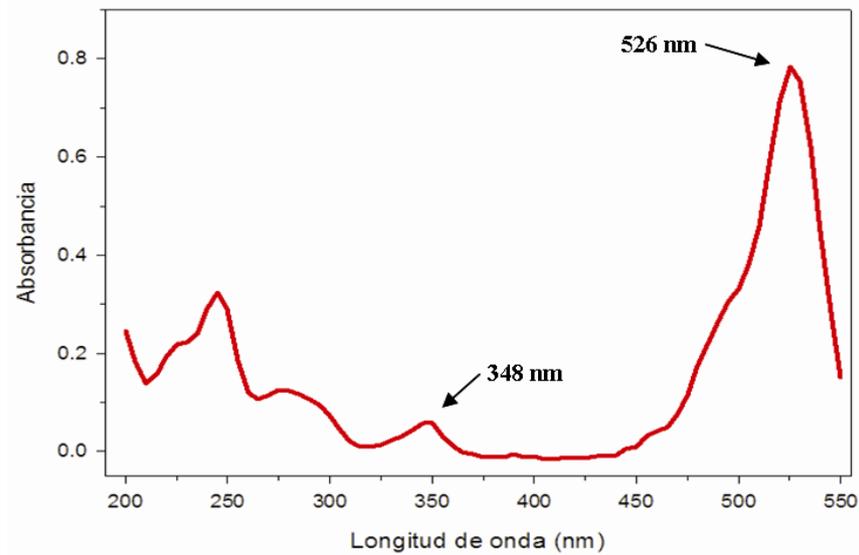


Figura VI.3.1.1. Espectro de absorbancia UV-visible de una solución de rodamina 6G (R6G) con una concentración de 5 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

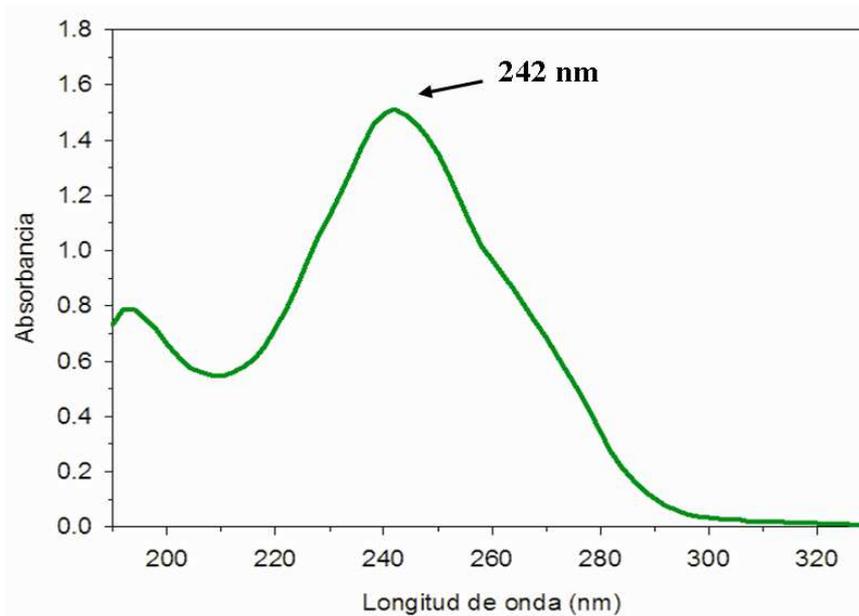


Figura VI.3.1.2. Espectro de absorbancia UV-visible de una solución de dexametasona-21-fosfato, (DXP) con una concentración de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

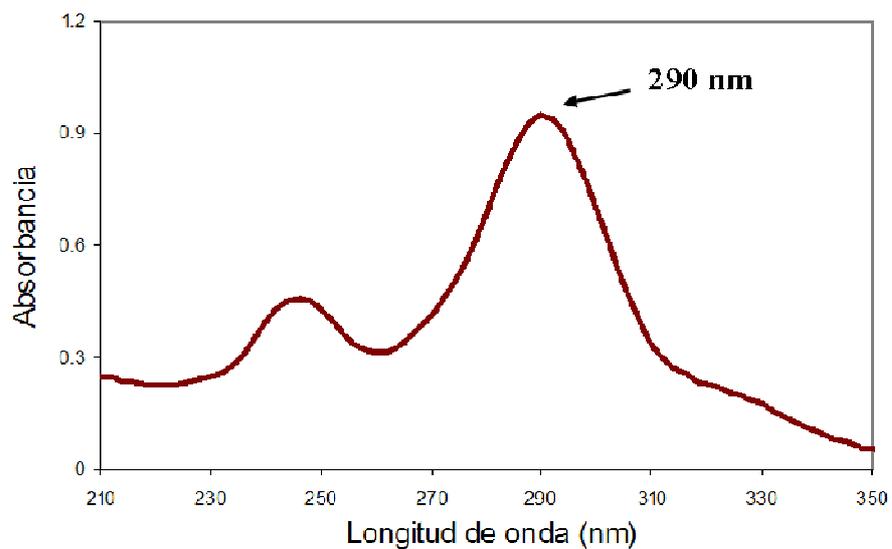


Figura VI.3.1.3. Espectros de absorbancia UV-Visible de una soluci3n de azul de metileno (AM) con una concentraci3n de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 0,2 cm.

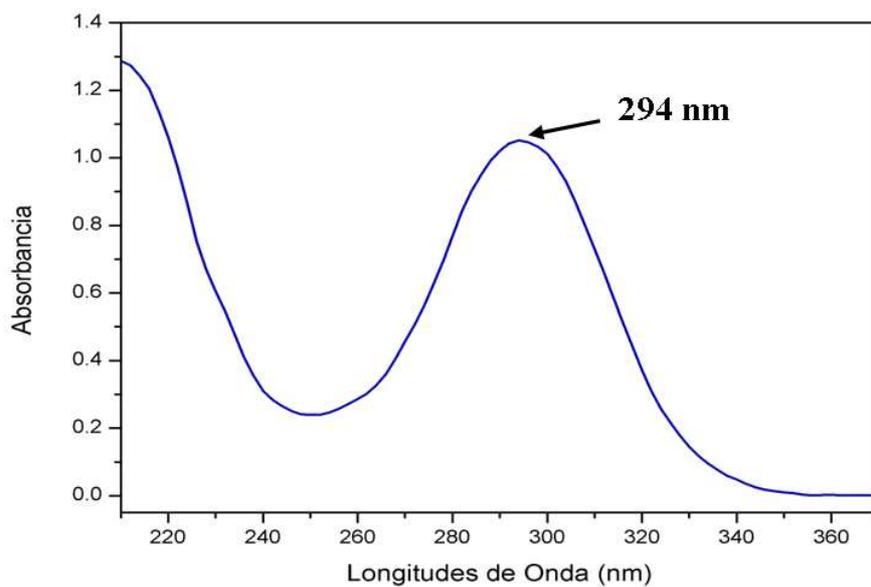


Figura VI.3.1.4. Espectro de absorbancia UV-Visible de una soluci3n de timolol maleato (TM) con una concentraci3n de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

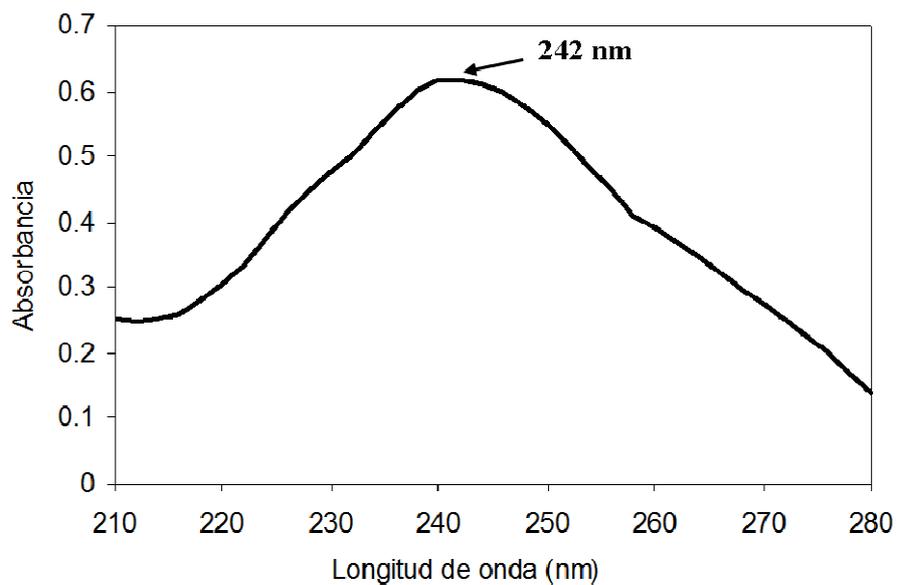


Figura VI.3.1.5. Espectro de absorbancia UV-Visible de una solución de ibuprofeno (IBP) con una concentración de 100 mg/l en preparada con agua destilada y empleando una celda de 0,2 cm.

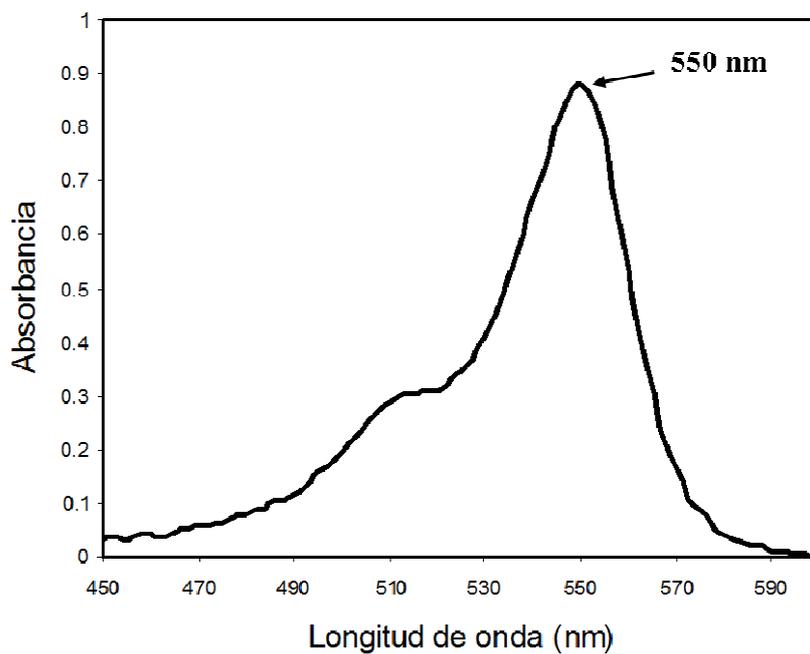


Figura VI.3.1.6. Espectro de absorbancia UV de una solución de rosa de bengala (RB) con una concentración de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

VI.3.2. Curvas de calibración

Para definir las curvas de calibración para los ensayos de carga y liberación, previamente se estudió el efecto del pH sobre las bandas de absorción elegidas, y se llegó a la conclusión de que no se afectaban ni en intensidad ni en la posición al variar el pH. Por tal razón, se utilizó la misma curva de calibración para las medidas a diferentes pH.

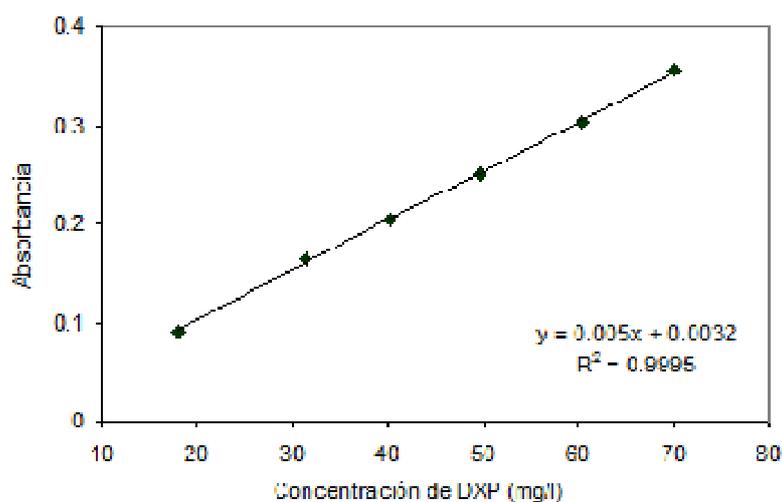


Figura VI.3.2.1. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de DXP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm para soluciones con concentraciones entre 17 y 70 mg/l.

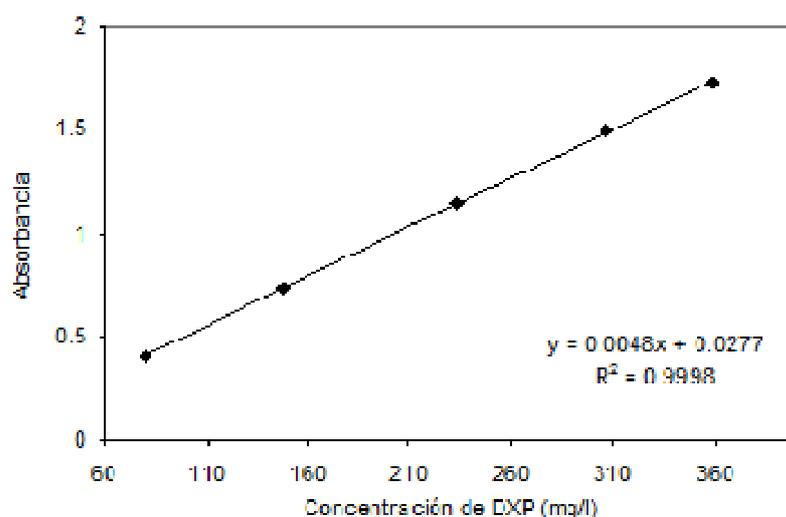


Figura VI.3.2.2. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de DXP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm para soluciones con concentraciones entre 70 a 360 mg/l.

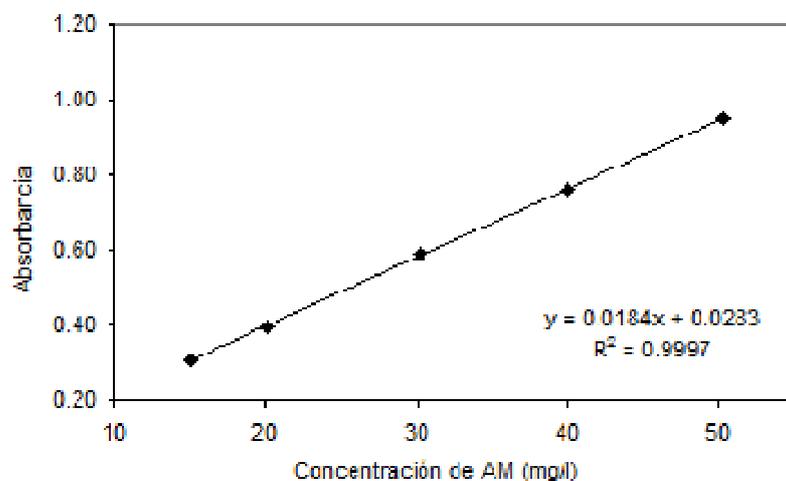


Figura VI.3.2.3. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de AM medida a una longitud de onda de 290 nm en BF a pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm para soluciones con concentraciones entre 15 y 50 mg/l.

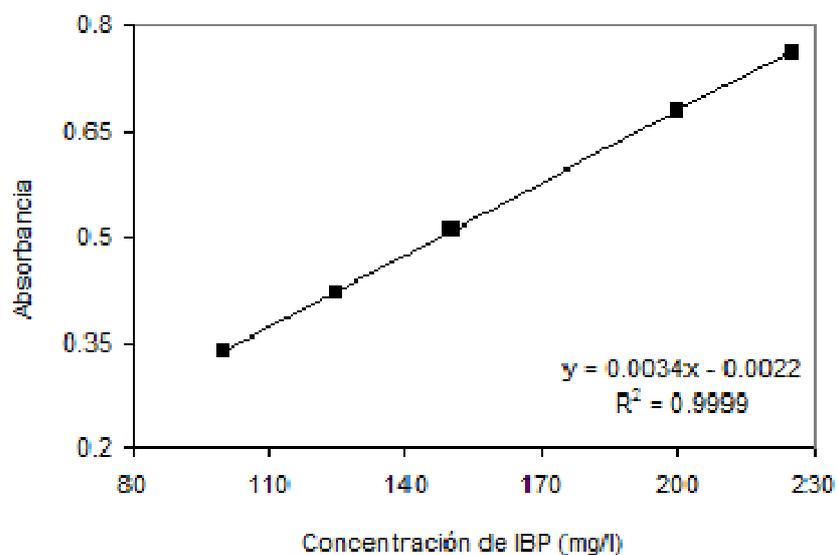


Figura VI.3.2.4. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de IBP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,05 cm para soluciones con concentraciones entre 100 y 225 mg/l.

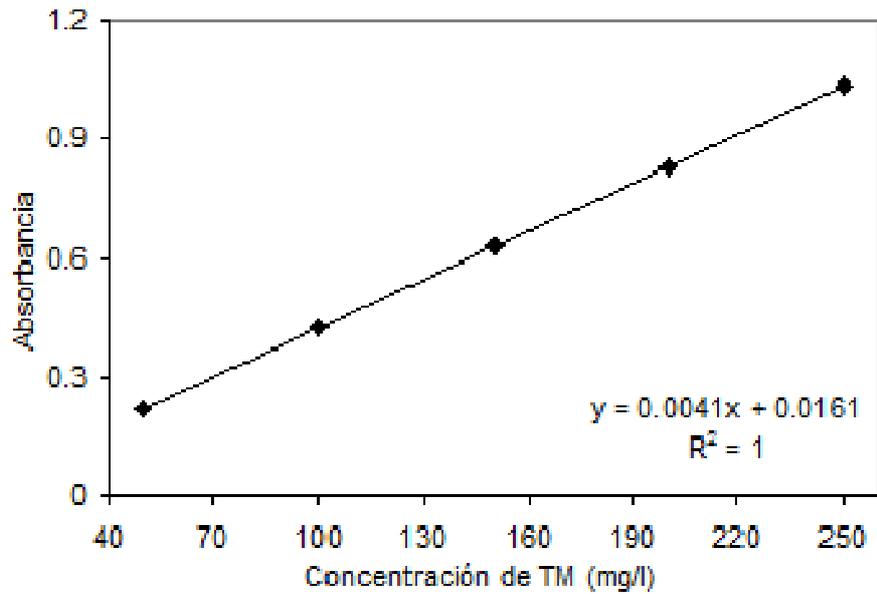


Figura VI.3.2.5. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de TM medida a una longitud de onda de 294 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm. para soluciones con concentraciones entre 50 y 250 mg/l.

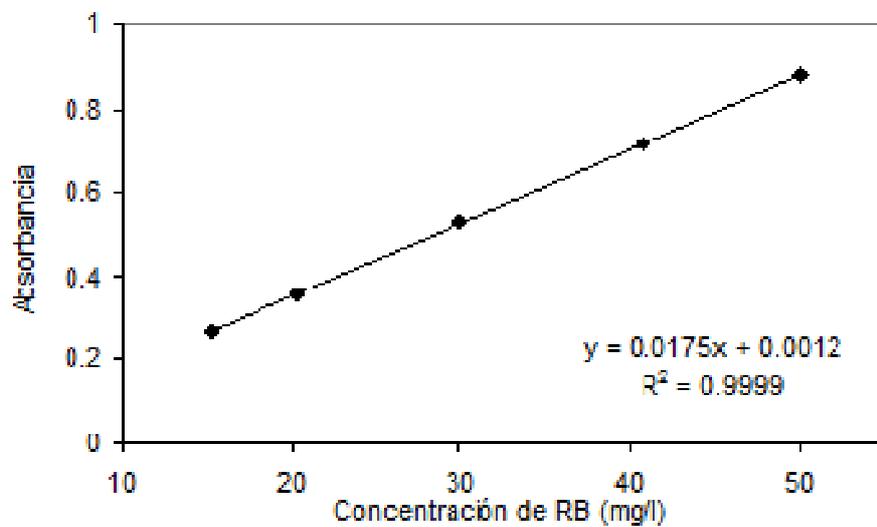


Figura VI.3.2.6. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de RB medida a una longitud de onda de 550 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm. para soluciones con concentraciones entre 15 a 50 mg/l.

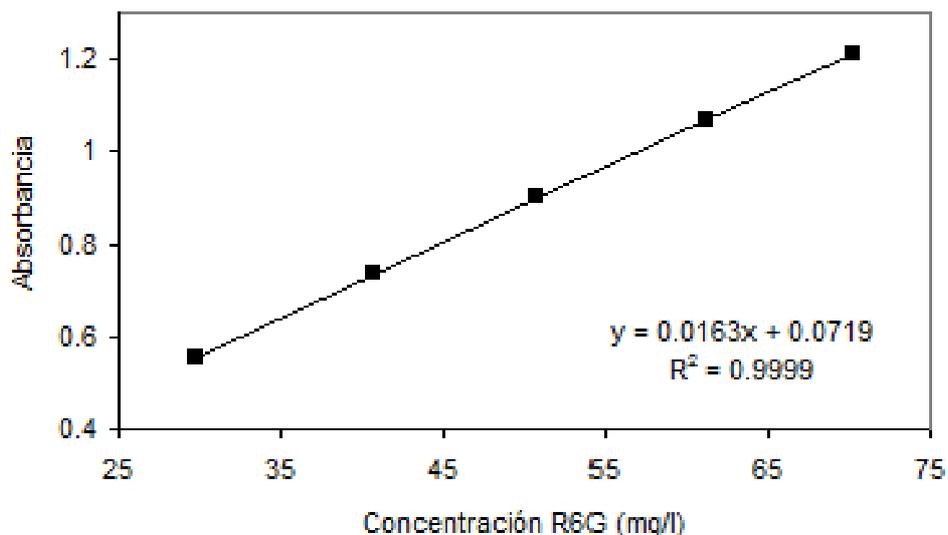


Figura VI.3.2.7. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de R6G medida a una longitud de onda de 348 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 1 cm para soluciones con concentraciones entre 30 y 100 mg/l.

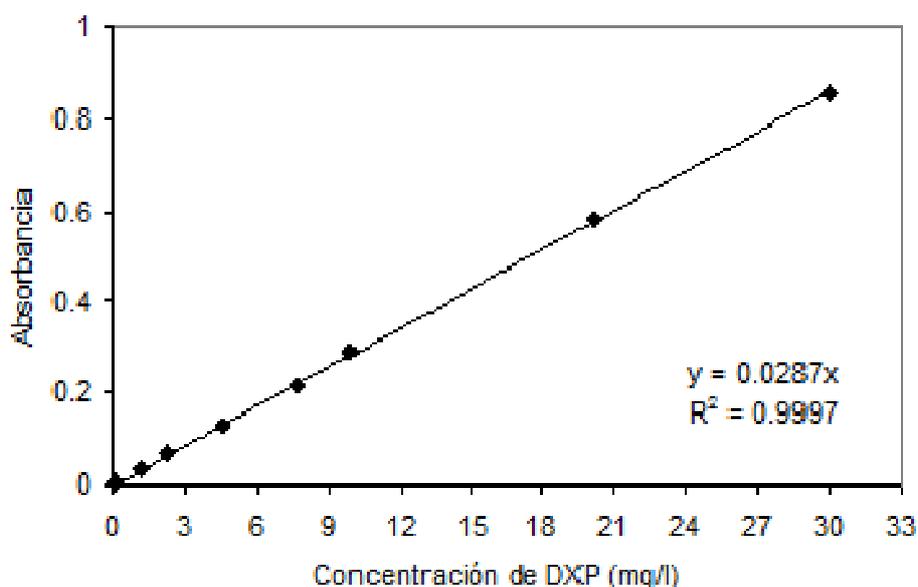


Figura VI.3.2.8. Curva de calibración empleada en los ensayos de liberación de DXP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF a pH 7,40 empleando una celda de 1 cm para soluciones con concentraciones entre 0,06 y 30,00 mg/l.

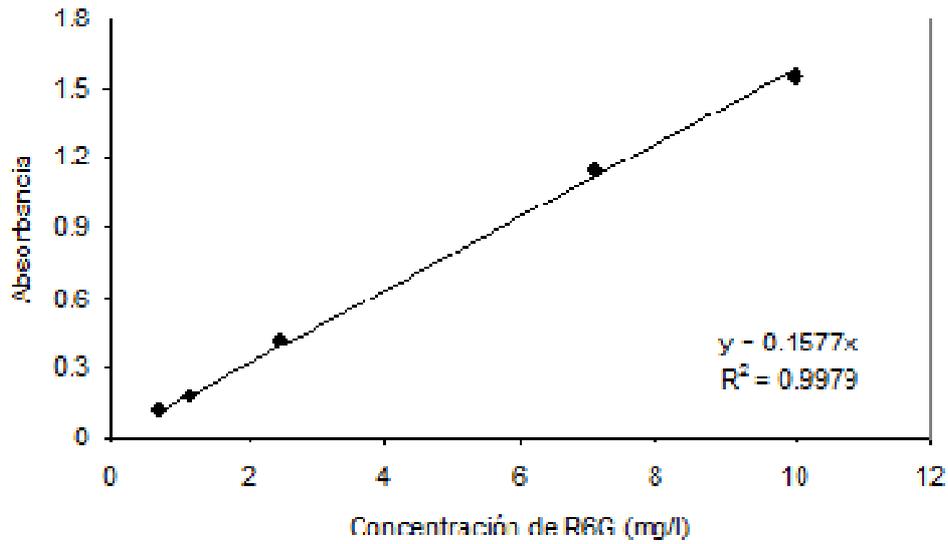


Figura VI.3.2.9. Curva de calibración empleada en los ensayos de liberación de R6G medida a una longitud de onda de 526 nm en BF a pH 7,40 empleando una celda de 1 cm para soluciones con concentraciones entre 0,5 y 10,0 mg/l.

VI.3.3. Figuras

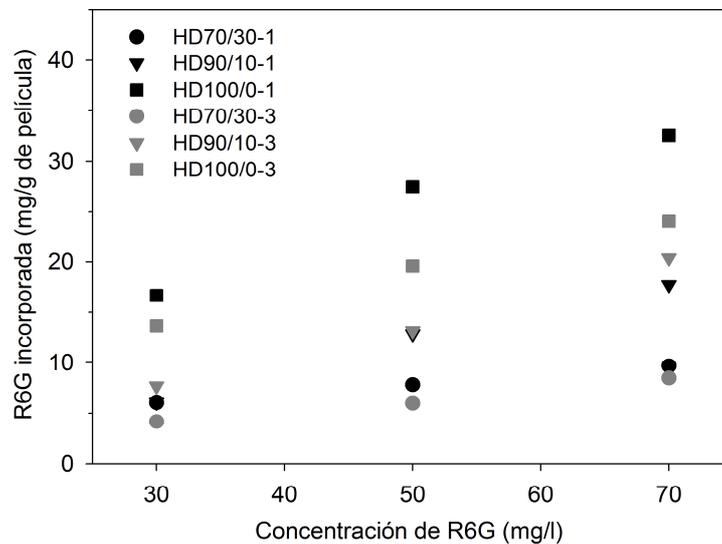


Figura VI.3.3.1. Incorporación de R6G en las películas de p(HEMA-co-DPA) a partir de soluciones con diferentes concentración a pH 6,50.

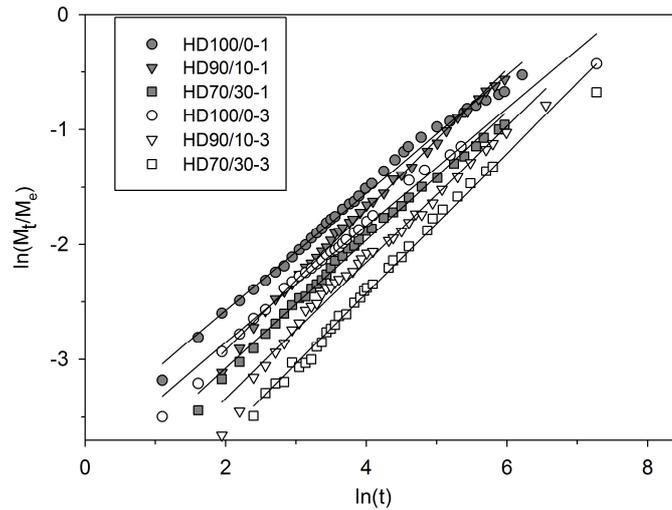


Figura VI.3.3.2. Grafico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de R6G para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF pH 7,40 y 34,5 °C. (pH de carga 8,40).

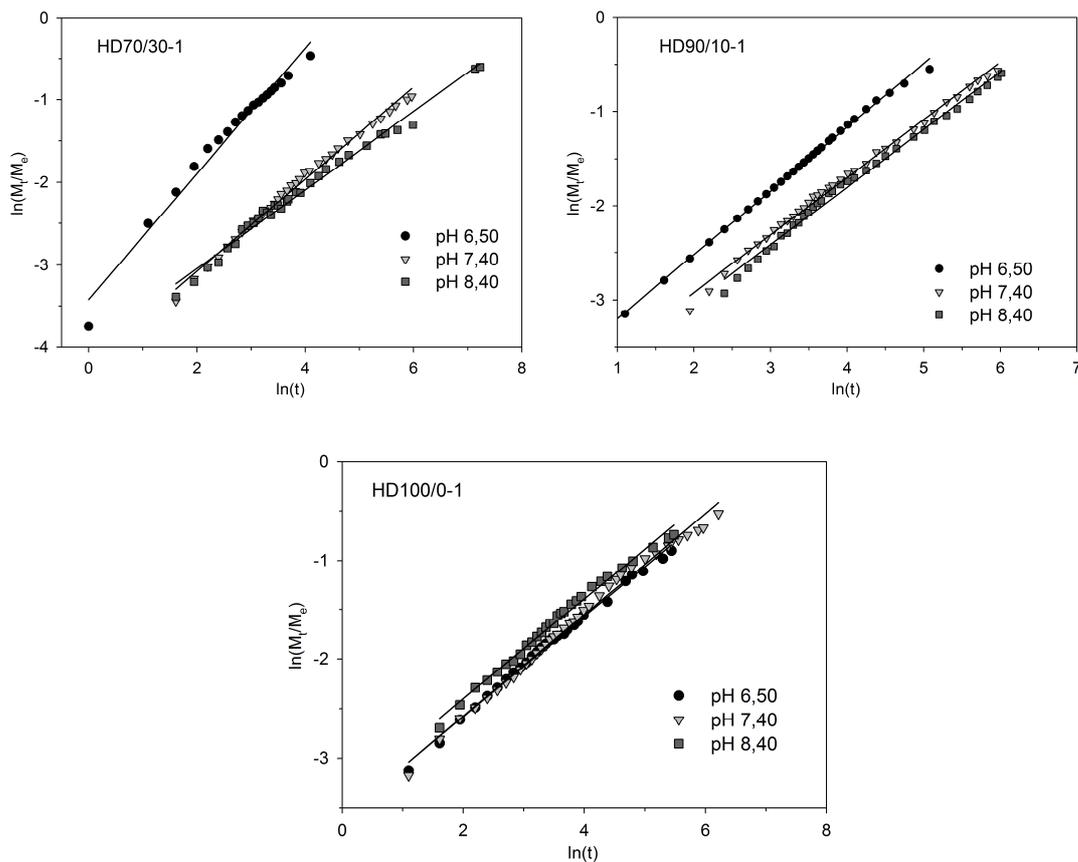


Figura VI.3.3.3. Grafico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de R6G para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 % p/p de entrecruzador en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 8,40).

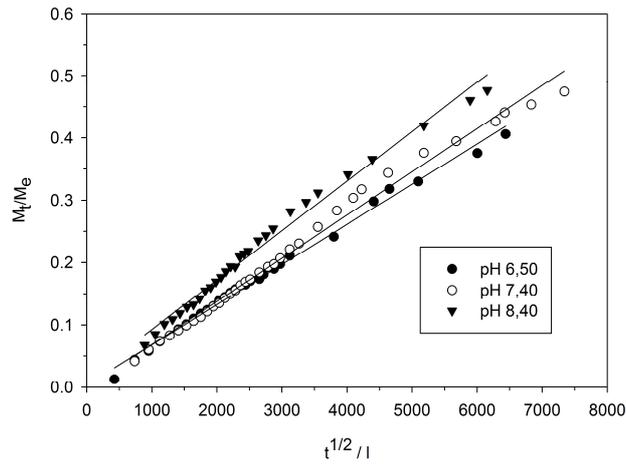


Figura VI.3.3.4. Gráfico de M_t/M_e versus $t^{1/2}/l$ (siendo l el espesor de la película) para las películas que presentaron un mecanismo de liberación Fickiano durante la liberación de R6G en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 8,40). El valor del coeficiente de difusión (D) se obtuvo de la pendiente de la recta.

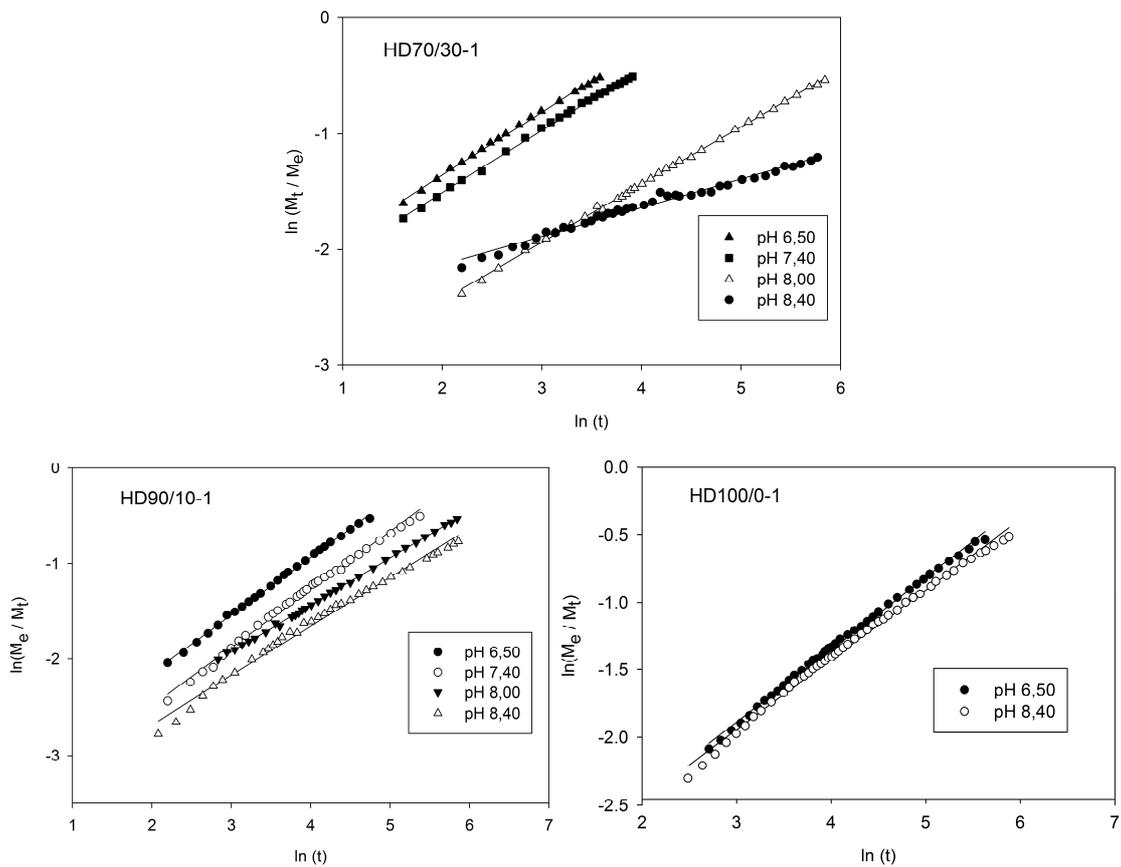


Figura VI.3.3.5. Gráfico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de R6G para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 % p/p de entrecruzador en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 6,50).

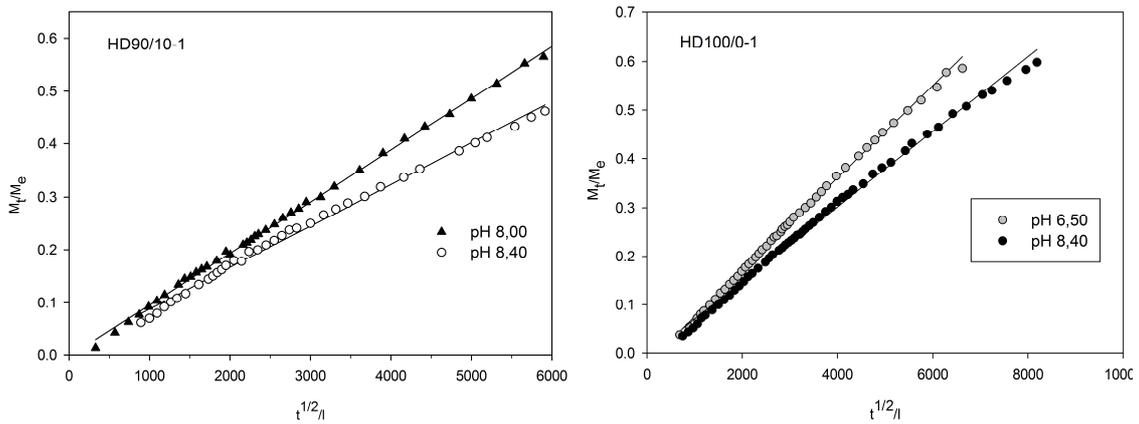


Figura VI.3.3.6. Gráfico de M_t/M_e versus $t^{1/2}/l$ (siendo l el espesor de la película) para las películas que presentaron un mecanismo de liberación Fickiano durante la liberación de R6G en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 6,50). El valor del coeficiente de difusión (D) se obtuvo de la pendiente de la recta.

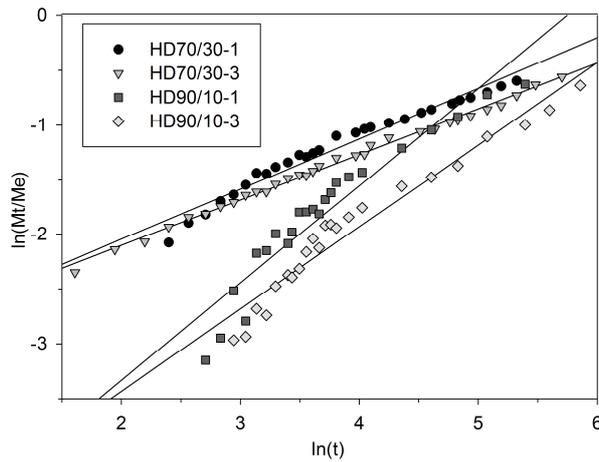


Figura VI.3.3.7. Gráfico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de DXP para las películas HD70/30 y HD90/10 con 1 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C.

VI. LISTA DE REACTIVOS

Los principales reactivos utilizados en el desarrollo de esta tesis fueron los siguientes:

- 2-(diisopropil)amino etilmetacrilato, DPA, Scientific Polymers Products
- 2- hidroxietilmetacrilato, HEMA (97%), Sigma-Aldrich
- Etilenglicoldimetacrilato, EGDMA (98%), Sigma-Aldrich
- Óxido de 2,4,6-trimetilbenzoil-difenilfosfina, Doracur TPO (97%), Sigma-Aldrich.
- Acetona, Cicarelli, p.a.
- Ácido clorhídrico, HCl, Anedra, p.a.
- Hidróxido de sodio, NaOH, Cicarelli, p.a.
- Etanol, EtOH, Cicarelli, p.a.
- Sulfato de potasio, K_2SO_4 , E. Merck, p.a.
- Cloruro de sodio, NaCl, Anedra, p.a.
- Fosfato de sodio monobásico anhidrico, H_2NaPO_4 , Anedra p.a.
- Fosfato de sodio dibásico anhidrico, HNa_2PO_4 , Anedra p.a.
- Cloruro de potasio, KCl, Anedra p.a.
- Bromuro de potasio, KBr, Carlo Erba.p.a.
- Ácido acético, HAc glacial, Cicarelli, p.a.
- Acetato de Sodio, NaAc, Timper.
- Bicarbonato de sodio, $NaHCO_3$, Anedra, p.a.
- Cloruro férrico, $FeCl_3$, Anedra, p.a.
- Oxalato de potasio, $K_2C_2O_4 \cdot H_2O$, Anedra, p.a.
- Sal de Mohr (sulfato ferroso amónico), $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, Carlo Erba.p.a.
- O-fenantrolina monohidrato, Anedra.
- Rodamina 6G (95 %), Sigma.
- Timolol maleato (TM), 99,63 %, Parafarm. Lote # 0.42004.
- Dexametasona-21 fosfato, 100,2 % Parafarm. Lote # 060517.
- Azul de metileno, Merck.
- Rosa de bengala. Cicarelli p.a.
- Ibuprofeno. Parafarm, 98,68 %. Lote # 12049M.
- Nitrógeno (AGA): secado por pasaje a través de un tren de secado conteniendo $H_2SO_{4(conc)}$, cloruro de calcio y silica gel durante su empleo.

VIII. DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

Congresos Nacionales e Internacionales

- V Argentine-Chilean Polymer Symposium, VIII Argentine Polymer Symposium, IX Chilean Symposium of Polymer Chemistry and Physical-Chemistry. Los Cocos, Córdoba, Argentina. 18 al 21 de octubre de 2009. “Síntesis y caracterización de copolímeros de 2-hidroxietil metacrilato pH responsivos, con aplicaciones en terapias oftalmológicas”. P. A. Faccia, M. G. Echeverria, O. R. Pardini, J. I. Amalvy.
- 1ª Reunión Internacional de Ciencias Farmacéuticas, 24 y 25 de junio de 2010. Córdoba, Argentina. “pH-responsive poly(hydroxyethyl methacrylate)/poly(2-(diisopropyl amino) ethylmethacrylate) copolymers for therapeutic ophthalmic applications”. Faccia PA, Amalvy JI.
- 7º Congreso Fedopto Antioquia. 3ª actualización en clínica del cuidado primario ocular. 14 al 16 de Octubre de 2011. Antioquía, Colombia. “Characterization of commercial contact lens for therapeutic applications”. P.A. Faccia and J.I. Amalvy. Trabajo corto, 3 páginas.
- IX Simposio Argentino de Polímeros (SAP2011). 5 - 18 de Noviembre de 2011, Bahía Blanca, Argentina. “Water properties and dynamic swelling of hydrogels of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-2-(diisopropyl amino)ethyl methacrylate)”. P.A. Faccia, and J.I. Amalvy.
- 2da Reunión de Materiales Tecnológicos en Argentina. 28 al 30 de mayo de 2012. San Rafael, Mendoza, Argentina. “Absorción de agua de hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato -co- 2-(diisopropil amino)etil metacrilato) sensibles al pH y a la temperatura”. P.A. Faccia y J.I. Amalvy.
- XIII Simposio Latinoamericano de Polímeros (SLAP 2012) - XI Congreso Iberoamericano de Polímeros (CIP 2012) 23 - 26 de septiembre del 2012. Bogotá, Colombia. “Hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato -co- 2-(diisopropil amino)etil metacrilato) sensibles al pH y a la temperatura.”, Paula A. Faccia y Javier I. Amalvy.

Publicaciones en revistas de difusión internacional

“Synthesis, characterization and swelling behavior of new pH-sensitive hydrogels derived from copolymers of 2-hydroxyethyl methacrylate and 2-(diisopropylamino) ethylmethacrylate”. Paula A. Faccia and Javier I. Amalvy. J.

Appl. Polym. Sci. 127 (3) 1974 – 1980 (2012). Publicado por primera vez on-line 10/05/2012. ISSN 0021-8995.

Artículos terminados pero aún no publicados

“pH-sensitive hydrogels based on a tertiary amine methacrylate. Evaluation of pH-sensitive poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate) hydrogels as drug delivery Systems”. Paula A. Faccia, Javier I. Amalvy

IX. TRABAJOS FUTUROS

Como conclusiones de este trabajo de tesis se plantean los siguientes trabajos a futuros:

- Completar la caracterización de las matrices de p(HEMA-co-DPA), tanto libres como cargadas, empleando técnicas complementarias (AFM, SAXS).
- Determinar otras propiedades de interés como dureza, rugosidad y mecánicas
- Evaluar aspectos relacionados con la citotoxicidad de las matrices de p(HEMA-co-DPA).
- Determinar el valor límite superior de peso molecular que puede ser incorporado/liberado en matrices de p(HEMA-co-DPA)
- Evaluar el efecto de la temperatura tanto durante la carga como en la liberación de PA.
- Evaluar efectos terapéuticos en sistemas modelos
- Evaluar la adhesión de los componentes de la película lagrimal sobre la superficie de los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA)
- Determinar la transmisibilidad al oxígeno.
- Determinar la estabilidad dimensional en diferentes condiciones de pH y temperatura, y eventualmente proponer las modificaciones necesarias para lograrla como puede ser la adición de monómeros aniónicos en pequeñas proporciones.
- Continuar y profundizar los estudios del fenómeno de *overshooting*.
- Estudiar el efecto de la rugosidad y la porosidad sobre el ángulo de contacto.
- Estudios microbiológicos relacionados con la adhesión bacteriana y las técnicas de desinfección y esterilización.

X. LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Listado de figuras

Figura I.1.1.1. Esquema del globo ocular.

Figura I.1.1.2. Imagen de la conjuntiva bulbar, tarsal y el fondo de saco.

Figura I.1.1.3. Anatomía del sistema lagrimal excretor.

Figura I.1.2.1.1. Posibles vías de absorción de un fármaco ocular administrado por vía tópica.

Figura I.1.2.1.3. Representación gráfica de la concentración del fármaco en el humor acuoso (HA) en función del tiempo (A) y su relación con el rango terapéutico. Efecto del incremento de la dosificación (curva B y C) y el tiempo de contacto entre el fármaco y los tejidos (curvas D y E), sobre el nivel de concentración y el tiempo de permanencia en el humor acuoso. (Tomado de Duvall B.S. y col., 2006).

Figura I.1.3.1. Esquema del nivel de droga en sangre obtenido con un dispositivo de liberación controlada.

Figura I.1.3.2. Tipos de sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos según su característica de almacenamiento del principio activo: sistema tipo reservorio (a) y sistema tipo matricial (b).

Figura I.1.3.1.1.2.1. Lente de contacto blanda adaptada en el ojo derecho del paciente. Con permiso de IACLE.

Figura I.1.3.1.1.2.2. Esquema de la lente de contacto colocada sobre la superficie corneal y posición de la película lagrimal pre-lente y pos-lente. Adaptado de Kim J. y Chauhan A. 2008.

Figura I.1.4.1. Esquema del cambio morfológico que sufre un hidrogel responsivo en presencia de un estímulo.

Figura I.1.4.2. Estructura molecular de los reactivos utilizados.

Figura I.5.1. Estructura química del clorhidrato de rodamina 6G (R6G).

Figura I.5.2. Estructura química del azul de metileno (AM).

Figura I.5.3. Estructura química del colorante rosa de bengala (RB).

Figura I.5.4. Estructura química del timolol maleato (TM).

Figura I.5.5. Estructura química de la dexametasona-21 fosfato de sodio (DXP).

Figura I.5.6. Estructura química del ibuprofeno (IBP).

Figura II.1.1. Esquemas de un hidrogel con entrecruzamiento físico, y un hidrogel con entrecruzamiento químico.

Figura II.1.2. Estructura molecular del monómero bifuncional empleado como agente entrecruzante.

Figura II.1.3. Tipos de copolímeros, según el arreglo de los monómeros en la cadena principal del polímero.

Figura II.1.4. Estructura molecular del iniciador empleado.

Figura II.2.2.1. Esquema del molde de polimerización.

Figura II.2.2.2. Relación entre el espesor del espaciador del sistema de reacción y el valor del término $e^{-c[A]b}$ perteneciente a la ecuación de polimerización, para una longitud de onda de 350 nm.

Figura II.2.3.1. Distribución espectral de la densidad de irradiación para lámparas UV Rayonet RPR-3500 (cortesía del Grupo de Fotoquímica de Pteridinas, INIFTA).

Figura II.2.4.1. Esquema del proceso de foto-polimerización

Figura II.3.1.1. Concentración de Fe^{+2} obtenido durante la actinometría empleando la lámpara RPR-3500 y una solución 0,098 M de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, para el molde de polimerización mostrado en la Figura II.2.2.1, con un espesor de 0,2 cm.

Figura II.3.2.1. Espectros de absorbancia IR a distintos tiempo de reacción para la polimerización del homopolímero del HEMA.

Figura II.3.2.2. Evolución de la absorbancia integrada y normalizada en función del tiempo de polimerización para las muestras de HD100/0-1 y HD70/30-1.

Figura II.3.3.1. Espectros de absorbancia UV de la solución de lavado a diferentes días: 1 (azul), 2 (rojo), 3 (verde), 5 (celeste) y 7 (negro) para las películas HD100/0-1, HD 90/10-1, y HD70/30-1.

Figura II.3.3.2. Imágenes fotográficas de las películas obtenidas para el copolímero HD70/30-1: película entera (izquierda) y película cortada con un diámetro de 13,0 mm (derecha).

Figura III.1.2.1.1. Espectro FTIR del pHEMA. Se resaltan las bandas y las regiones más características.

Figura III.1.2.1.2 Espectro de infrarrojo del pHEMA sin entrecruzador, y representación de la segunda derivada para el rango entre 3700 y 3000 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo O-H (a), y entre 1800 y 1500 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo C=O (b).

Figura III.1.2.1.3. Comparación entre los espectros infrarrojo y entre sus segundas derivadas para las muestras: pHEMA-0, pHEMA-1 y pHEMA-3 en el rango de (a) 3700 a 3000 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo O-H; y (b) de 1800 a 1500 cm^{-1} asignado al estiramiento del grupo C=O.

Figura III.1.2.1.4. Espectro FTIR del homopolímero de DPA.

Figura III.1.2.1.5. Espectros FTIR normalizados de p(HEMA-co-DPA) con diferente relación HEMA/DPA y con 1 % p/p de EGDMA.

Figura III.1.2.1.6. Espectros FTIR y sus segundas derivadas para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador ampliada para las regiones: a) 3700 a 3100 y b) 3050 a 2800 .

Figura III.1.2.1.7. Espectros FTIR y sus segundas derivadas para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador ampliada para las regiones: a) 1800 a 1500 y b) 1500 a 800 cm^{-1} .

Figura III.1.2.2.1. Espectros de absorción UV de las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Figura III.1.2.2.2. Espectros de absorción UV de las películas HD70/30-3 y HD100/0-3, hidratadas a pH 6,50, 7,40 y 8,40.

Figura III.2.2.1.1. Modulación de la temperatura alrededor de una velocidad de calentamiento promedio (para la modulación del calor únicamente). Tomado de Menczel J.D., 2009.

Figura III.2.2.1.2. Determinación del ancho de la transición vítrea (ΔW) y el cambio en la capacidad calorífica (ΔC_p) durante la transición de fase alrededor de la temperatura de transición vítrea. Tomado de Navarro Cassu S., 1997.

Figura III.2.2.1.3. Curvas RHF MDSC para las muestras: pDPA, HD0/100-1 y HD0/100-3 (RHF = reversing heat flow).

Figura III.2.2.1.4. Curvas RHF MDSC: a) HD70/30-1, HD90/10-1 y HD100/0-1 (RHF = reversing-heat-flow).

Figura III.2.2.1.5. Representación esquemática de la dependencia de la T_g con la composición en mezclas binarias de polímeros A y B. Tomado de Brostow W. y col., 2008.

Figura III.2.2.1.6. Variación de la T_g con la composición del copolímero. Ajuste empleando la ecuación de Gordon-Taylor (Ec. III.3.2.1.6).

Figura III.2.2.2.1. Curvas de calentamiento obtenidas con MDSC para las muestras de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas a pH 7,40.

Figura III.2.2.2.2. Curvas de calentamiento obtenidas con el MDSC para las muestras de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 % p/p de entrecruzador, hidratadas a pH 6,40, 7,40 y 8,40.

Figura III.2.2.2.3. Esquema de la variación del estado del agua para polímeros con igual composición, y diferente contenido acuoso. Por debajo del valor c^* toda el agua presente en el polímero se encuentra fuertemente unida. Adaptado de Tranoudis I. y Efron N., 2004.

Figura III.2.2.2.4. Determinación del ancho de la transición vítrea (ΔW) y la capacidad calorífica (ΔC_p) en la curva de DSC de una muestra que exhibe cristalización. Tomado de Navarro Cassu S., 1997.

Figura III.2.2.2.5. Fenómeno de regulación de la T_g por cristalización del solvente en sistemas poliméricos. La intersección de la curva de T_g con la curva de T_f define la concentración crítica (c^*) por debajo de la cual el solvente no puede cristalizar. Tomado de Rault y col., 1995.

Figura III 2.2.3.1. Curvas de TGA para los homopolímeros pHEMA-0 y pDPA-0.

Figura III.2.2.3.2. Esquema de la degradación térmica del pHEMA propuesto por Demirelli K. y col., 2001.

Figura III.2.2.3.3. Curvas de TGA de pHEMA, HD90/10, HD70/30 y pDPA con 1 % p/p (a) y 3 % p/p (b) de entrecruzador.

Figura III.2.2.3.4. Curvas de DTA de pHEMA, HD90/10 y HD70/30 con 1 % p/p y 3 % p/p de entrecruzador.

Figura III.2.2.3.5. Valores de temperatura máxima para cada proceso de descomposición obtenido (T_1 , T_2 y T_3) de la curva de DTA en función del porcentaje de DPA para las muestras con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Figura III.2.2.3.6. Relación entre la pérdida de peso en cada etapa de degradación (P_T) y la pérdida de peso total (P_T) en función del porcentaje de DPA para las muestras con 1 (negro) y 3 (rojo) % p/p de entrecruzador.

Figura III.3.2.1.1. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA, con 1 % p/p de entrecruzador, hidratadas a varios valores de pH y a 25,0 °C.

Figura III.3.2.1.2. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA con 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas a varios pHs y a 25,0 °C.

Figura III.3.2.2.1. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas a varios pHs y a 34,5 °C.

Figura III.3.2.3.1. Variación esquemática del hinchamiento relativo de los hidrogeles iónicos en función del pH. Tomado de Lin C.C., 2006.

Figura III.3.2.3.2. Esquema del hinchamiento de los de los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) con el pH.

Figura III.3.2.4.1. Valores del contenido acuoso para diferentes proporciones HEMA/DPA con 1 % p/p de entrecruzador, hidratadas a diferentes temperaturas en buffer BF pH 7,40.

Figura III.3.2.5.1. Curvas de hinchamiento para las películas de HD70/30-3, primero hidratadas a pH 6,50, deshidratadas y luego hidratadas en medios de diferentes pHs a 25,0 °C.

Figura III.4.2.5.2. Esquema del fenómeno de *oversooting*.

Figura III.2.2.5.3. Curvas de hinchamiento para las películas de p(HEMA-co-DPA), hidratadas a pH 6,50 y luego a pH 7,40 a 25,0 °C.

Figura III.3.2.5.4. Curvas de hinchamiento para las películas de HD90/10-1, a pH 7,40 antes y después de hidratarlas a pH 6,50 a 25,0 °C (verde) y a 34,5 °C (azul).

Figura III.4.1.1.1. Imagen fotográfica del goniómetro Rame-Hart 500 utilizado para medir el ángulo de contacto.

Figura III.4.2.1.1. Esquema de las fuerzas interfaciales involucradas en la medida del ángulo de contacto formado entre un líquido (gota) y un sólido (sustrato).

Figura III.4.2.1.2. Baja humectabilidad de la lente de contacto. a. Esquema de la dispersión de la luz sobre la superficie irregular de la película lagrimal pre-lente. b. Imagen de la dispersión de la luz sobre la superficie de una lente de contacto con baja humectabilidad, observada con luz difusa (Con permiso de IACLE, 2000).

Figura III.4.2.1.3. Imágenes del método de gota sesil obtenidas para las películas secas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA.

Figura III.4.2.1.4. Esquemas: a. organización de los grupos no polares del pHEMA en el aire (baja energía de superficie); b. organización de los grupos funcionales del pHEMA en la interface sólido-líquido (baja energía interfacial).

Figura III.4.2.1.5. Imágenes del método de gota sesil obtenidas para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA hidratadas en solución de NaCl 0,9 % p/v.

Figura III.4.2.1.6. Esquemas de la organización de los grupos polares y no polares del hidrogel de pHEMA: a. en el aire (baja energía de superficie); b. en la interface sólido-líquido (baja energía interfacial).

Figura III.4.2.1.7. Ángulo de contacto (θ_{App}) para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA con 1 (a) y 3 % (b) p/p de entrecruzador, hidratadas en BF a diferentes valores de pH.

Figura III.4.2.2.1. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel HD70/30-1 hidratado previamente a: (a) pH 6,50; (b) pH 7,00; (c) pH 7,40 y (d) pH 8,40. Imágenes tomadas con ángulo de observación no perpendicular.

Figura III.4.2.2.2. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel HD70/30-1 hidratado a: (a) pH 6,50; y (c) pH 7,40.

Figura III.4.2.2.3. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel HD90/10-1 hidratado a: pH 6,50 (izquierda); pH 7,40 (centro), y pH 8,40 (derecha).

Figura III.4.2.2.4. Imagen de SEM de la superficie del hidrogel HD100/0-1 a pH 7,40.

Figura III.4.2.2.5. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD70/30-1 hidratado a pH; a. 6,50; b. 7,00; c. 7,40 y d. 8,40; con aumento entre 600 y 1000x (izquierda), y 2000 y 4000x (derecha).

Figura III.4.2.2.6. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD70/30-3 hidratado a pH 6,50 (izquierda) y 7,50 (derecha); con una magnificación de 1000X (superior) y 2000X (inferior).

Figura III.4.2.2.7. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD90/10 con 1 % p/p (superior) y 3 % p/p (inferior) de entrecruzador, hidratadas a pH 6,50 (izquierda) y 7,40 (derecha).

Figura III.4.2.2.8. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD90/10 con 1 % p/p de entrecruzador: a) pH 6,50 y b) pH 7,40. En ambas imágenes se puede diferenciar entre la morfología rugosa presente en la superficie, y la morfología compacta hallada en el interior del hidrogel.

Figura III.4.2.2.9. Imágenes de SEM correspondientes al corte transversal del hidrogel HD100/0 con 1 % p/p (superior) y 3 % p/p (inferior) de entrecruzador, hidratadas a pH 6,50 (izquierda) y 7,40 (derecha).

Figura IV.2.2.1.1 Estructuras químicas de las moléculas modelo.

Figura IV.2.2.1.2. Imágenes fotográficas de la películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA cargadas con rosa de bengala, azul de metileno y rodamina 6G.

Figura IV.2.2.1.3 Estructuras químicas de los fármacos.

Figura IV.2.2.2.1. Masa de DXP incorporada en las películas HD70/30 (rojo), HD90/10 (azul) y HD100/0 (negro), a partir de una solución de 50 mg/l en BF a diferentes pHs (puntos) y contenido acuoso (líneas) en función del cambio de pH, obtenidos en la sección III.3.2 para 1 (línea continua) y 3 (línea punteada) % p/p de entrecruzador.

Figura IV.2.2.2.2. Masa de R6G incorporada en las películas HD70/30 (rojo), HD90/10 (azul) y HD100/0 (negro), a partir de una solución de 50 mg/l en BF a diferentes pHs (puntos) y contenido acuoso en función del cambio de pH (líneas) para 1 (línea continua) y 3 (línea punteada) % p/p de entrecruzador obtenidos en la sección III.3.2.

Figura IV.2.2.3.1. Incorporación de DXP en películas de p(HEMA-co-DPA) a partir de soluciones con diferentes concentración a pH 6,50.

Figura IV.2.2.4.1. Masa de R6G incorporada acumulada (por gramo de película) en función del tiempo de inmersión en una solución de R6G a pH 6,50 y 25,0 °C para las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador: a) Cinética a tiempos largos, b) cinética a tiempos cortos.

Figura IV.2.2.4.2. Masa de R6G incorporada acumulada (por gramo de película) en función del tiempo de inmersión en una solución de R6G a pH 8,40 y 25,0 °C para las películas de pHEMA y p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador: a) Cinética a tiempos largos, b) cinética a tiempos cortos.

Figura IV.3.1.1.1. Espectro FTIR y estructura química de la rodamina 6G.

Figura IV.3.1.1.2. Espectro FTIR de las películas HD100/0-1, HD100/0-1(R), HD70/30-1 y HD70/30-1(R).

Figura IV.3.1.1.3. Espectro FTIR y estructura química de dexametasona-21 fosfato.

Figura IV.3.1.1.4. Espectro FTIR de DXP, y las películas: HD100/0-1, HD100/0-1(D), HD90/10-1 y HD90/10-1(D), HD70/30-1 y HD70/30-1(D).

Figura IV.3.1.2.1. Imágenes de SEM de la superficie del hidrogel (a y b, escala 40 μm) HD70/30-1 (R) cargada con R6G, pH 6,50. C: Imagen de la estructura de la R6G (escala 10 μm).

Figura IV.3.1.2.2. Imágenes de SEM del corte transversal del hidrogel HD70/30-1 (R) cargado con R6G a pH 6,50.

Figura IV.3.1.2.3. Imágenes de SEM de la superficie (a) y corte transversal (b y c) del hidrogel HD70/30-1 (R) cargada con R6G a pH 8,40.

Figura IV.4.1.1. Esquema del recipiente empleado para realizar los ensayos de liberación.

Figura IV.4.2.1.1.1. Curvas de liberación de rodamina 6G acumulada en función del tiempo para las películas HD100/0, HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C: a) tiempos largos (horas); b) tiempos cortos (minutos).

Figura IV.4.2.1.1.2. Fracción másica de rodamina liberada en función del tiempo para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF pH 7,40 y 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta una liberación de 0,6 con la ecuación de potencia de Ritger-Peppas.

Figura IV.4.2.1.2.1. Curvas de liberación acumulada de rodamina 6G por gramo de película en función del tiempo para las películas HD70/30-1, HD90/10-1 y HD100/0-1 en BF a diferentes pH y 34,5 °C a tiempos largos (izquierda) y a tiempos cortos (derecha).

Figura IV.4.2.1.2.2. Fracción de rodamina 6G liberada en función del tiempo para las películas HD70/30-1 (a), HD90/10-1(b) y HD100/0-1 (c) en BF a diferentes valores de pH y a una temperatura de 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta un valor de M_t/M_e de 0,6, con la ecuación de Ritger-Peppas.

Figura IV.4.2.1.3.1. Curvas de rodamina 6G liberada y acumulada por gramo de película en función del tiempo para las películas HD70/30-1 (a), HD90/10-1 (b) y HD100/0-1 (c) en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C. La rodamina 6G fue incorporada a pH 6,50.

Figura IV.4.2.1.3.2. Fracción másica de rodamina 6G liberada en función del tiempo para las películas (a) HD70/30-1 (c), HD90/10-1(b) y HD100/0-1 en BF a diferentes valores de pH y a una temperatura de 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta una liberación de 0,6, con la ecuación de Higuchi (Ec. IV.1.1.3).

Figura IV.4.2.1.3.3. Fracción másica de rodamina 6G liberada en función del tiempo para las películas HD70/30-1 (a), HD90/10-1(b) y HD100/0-1 (c) en BF (0,1M) a diferentes valores de pH y a una temperatura de 34,5 °C. La línea continua representa el ajuste de los datos experimentales, hasta una liberación de 0,6, con la ecuación de potencia de Ritger-Peppas.

Figura IV.4.2.2.1.1. Curvas de liberación de dexametasona-21 fosfato acumulada en función del tiempo para las películas de HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C.

Figura IV.4.2.2.1.2. Curvas de liberación de dexametasona-21fosfato acumulada en función del tiempo, durante las primeras horas de ensayo, para las películas de HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C.

Figura IV.4.2.2.1.3. Fracción M_t/M_e de dexametasona-21fosfato liberada hasta un valor de 0,6, para HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Las líneas representan el ajuste a la ecuación II.4.2.3.1.

Figura IV.4.2.2.2.1. Curvas de liberación de dexametasona-21fosfato en función del tiempo, con cambios de pH dinámicos, para las películas de HD90/10 y HD70/30 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF a pH entre 7,01 y 7,80 ($\pm 0,03$) y 34,5 °C. Las masas entre cambios de pH no son acumulativas.

Figura VI.1.1.1. Espectros FTIR de los monómeros purificados.

Figura VI.1.1.2. Espectros RMN de los monómeros purificados: a. HEMA, b.:DPA.

Figura VI.1.1.3. Curva de transmitancia UV-visible para los vidrios del molde de polimerización.

Figura VI.1.1.4. Curva de absorbancia UV a 350 nm para diferentes concentraciones de Doracour TPO (iniciador).

Figura IV.1.2.2.1. Curva de calibración para la formación del complejo ión ferroso/o-fenantrolina

Figura VI.2.1.1. Espectros FTIR de las muestras de p(HEMA-co-DPA),pDPA y pHEMA con 3 % p/p de EGDMA.

Figura VI.3.1.1. Espectro de absorbancia UV-visible de una solución de rodamina 6G (R6G) con una concentración de 5 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

Figura VI.3.1.2. Espectro de absorbancia UV-visible de una solución de dexametasona-21-fosfato, (DXP) con una concentración de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

Figura VI.3.1.3. Espectros de absorbancia UV-Visible de una solución de azul de metileno (AM) con una concentración de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 0,2 cm.

Figura VI.3.1.4. Espectro de absorbancia UV-Visible de una solución de timolol maleato (TM) con una concentración de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

Figura VI.3.1.5. Espectro de absorbancia UV-Visible de una solución de ibuprofeno (IBP) con una concentración de 100 mg/l en preparada con agua destilada y empleando una celda de 0,2 cm.

Figura VI.3.1.6. Espectro de absorbancia UV de una solución de rosa de bengala (RB) con una concentración de 50 mg/l preparada con agua destilada y empleando una celda de 1 cm.

Figura VI.3.2.1. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de DXP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm para soluciones con concentraciones entre 17 y 70 mg/l.

Figura VI.3.2.2. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de DXP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm para soluciones con concentraciones entre 70 a 360 mg/l.

Figura VI.3.2.3. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de AM medida a una longitud de onda de 290 nm en BF a pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm para soluciones con concentraciones entre 15 y 50 mg/l.

Figura VI.3.2.4. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de IBP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,05 cm para soluciones con concentraciones entre 100 y 225 mg/l.

Figura VI.3.2.5. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de TM medida a una longitud de onda de 294 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 0,2 cm. para soluciones con concentraciones entre 50 y 250 mg/l.

Figura VI.3.2.6. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de RB medida a una longitud de onda de 550 nm en BF pH 6,5 empleando una celda de 0,2 cm. para soluciones con concentraciones entre 15 a 50 mg/l.

Figura VI.3.2.7. Curva de calibración empleada en los ensayos de incorporación de R6G medida a una longitud de onda de 348 nm en BF pH 6,50 empleando una celda de 1 cm para soluciones con concentraciones entre 30 y 100 mg/l.

Figura VI.3.2.8. Curva de calibración empleada en los ensayos de liberación de DXP medida a una longitud de onda de 242 nm en BF a pH 7,40 empleando una celda de 1 cm para soluciones con concentraciones entre 0,06 y 30,00 mg/l.

Figura VI.3.2.9. Curva de calibración empleada en los ensayos de liberación de R6G medida a una longitud de onda de 526 nm en BF a pH 7,40 empleando una celda de 1 cm para soluciones con concentraciones entre 0,5 y 10,00 mg/l.

Figura VI.3.3.1. Incorporación de R6G en las películas de p(HEMA-co-DPA) a partir de soluciones con diferentes concentración a pH 6,50.

Figura VI.3.3.2. Grafico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de R6G para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 y 3 % p/p de entrecruzador en BF pH 7,40 y 34,5 °C. (pH de carga 8,40).

Figura VI.3.3.3. Grafico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de R6G para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 % p/p de entrecruzador en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 8,40).

Figura VI.3.3.4. Gráfico de M_t/M_e versus $t^{1/2}/l$ (siendo l el espesor de la película) para las películas que presentaron un mecanismo de liberación Fickiano durante la liberación de R6G en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 8,40). El valor del coeficiente de difusión (D) se obtuvo de la pendiente de la recta.

Figura VI.3.3.5. Gráfico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de R6G para las películas HD70/30, HD90/10 y HD100/0 con 1 % p/p de entrecruzador en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 6,50).

Figura VI.3.3.6. Gráfico de M_t/M_e versus $t^{1/2}/l$ (siendo l el espesor de la película) para las películas que presentaron un mecanismo de liberación Fickiano durante la liberación de R6G en BF a diferentes pH y 34,5 °C. (pH de carga 6,50). El valor del coeficiente de difusión (D) se obtuvo de la pendiente de la recta.

Figura VI.3.3.7. Gráfico del $\ln(M_t/M_e)$ versus el $\ln(t)$ para los datos pertenecientes a la liberación de DXP para las películas HD70/30 y HD90/10 con 1 % p/p de entrecruzador en BF a pH 7,40 y 34,5 °C.

Listado de tablas

Tabla I.1.4.1. Naturaleza de las posibles respuestas del polímero frente a diferentes tipos de estímulos.

Tabla I.1.4.2. Grupos sensibles al cambio de pH.

Tabla II.2.4.1. Porcentajes nominales de los reactivos utilizados para las síntesis de películas de p(HEMA-co-DPA).

Tabla II.3.3.1. Valores de conversión finales obtenidos por gravimetría.

Tabla III.1.2.1.1. Asignaciones de bandas del espectro infrarrojo del pHEMA (Faria M.D.G y col., 1991; Kulbida A. y col., 1995), donde ν es la vibración de estiramiento s (simétrica) y as (asimétrica); δ , deformación angular; γ , flexión *rocking*; ω , flexión *wagging*; y τ , flexión *twisting*.

Tabla III.2.2.1.1. Valores de temperatura, capacidad calorífica y ancho para la transición vítrea de las muestras de pDPA con diferentes porcentajes de entrecruzador.

Tabla III.2.2.1.2. Valores de temperatura, capacidad calorífica y ancho para la transición vítrea de los copolímeros de HEMA/DPA con diferentes porcentajes de entrecruzador.

Tabla III.2.2.1.3. Temperaturas de transición vítrea experimentales y predichas por la ecuación de Gordon-Taylor (Ec. III.2.2.1.6) en copolímeros HEMA/DPA con 1 % p/p de entrecruzador.

Tabla III.2.2.2.1. Valores de los porcentajes de agua fuertemente enlazada (W_{nc}), agua libre (W_c), y contenido acuoso (CA) para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador a pH 7,40.

Tabla III.2.2.2.2. Temperaturas máximas ($^{\circ}\text{C}$) correspondientes los picos endotérmicos observados en la Figura III.3.2.2.1, para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA hidratados en BF a pH 7,40.

Tabla III.2.2.2.3. Valores correspondientes al porcentaje de agua fuertemente enlazada (W_{nc}) y de agua libre (W_c); y porcentaje total de agua o contenido acuoso para los copolímeros de p(HEMA-co-DPA) y el homopolímero de pHEMA hidratados en BF a pH 6,50, 7,40 y 8,40.

Tabla III.2.2.3.1. Valores obtenidos a partir de las curvas de DTA y TGA de los homopolímeros pHEMA y pDPA sin entrecruzador.

Tabla III.2.2.3.2. Valores de temperatura máxima (T_v) y porcentaje de pérdida de masa (P_v) para los compuestos volátiles obtenidos a partir de las curvas de DTA y TGA.

Tabla III.2.2.3.3. Valores obtenidos a partir de las curvas de DTA y TGA de copolímeros de HEMA y DPA con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Tabla III.3.2.3.1. Valores de pK_a para las películas de p(HMEA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, calculados a partir de la ecuación III.2.4.3 aplicada a las curvas de las Figuras III.4.2.1.1, III.4.2.1.2 y III.4.2.2.1 a 25,0 y 34,5 $^{\circ}\text{C}$.

Tabla III.4.2.1.1. Diferentes valores de ángulos de contacto y sus correspondientes grados de humectabilidad e interacciones sólido/líquido y líquido/líquido (Adaptado de Eustathopoulos, N. y col, 1999)

Tabla III. 4.2.1.2. Valores de ángulo de contacto (θ_{App}) para los xerogeles de p(HEMA-co-DPA).

Tabla III.4.2.1.3. Valores de ángulo de contacto (θ_{App}) para los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) hidratados en solución salina de NaCl 0,9 % p/v.

Tabla III.5.2.1.1. Valores de transmitancia a 400, 555 y 700 nm, para las películas de p(HEMA-co-DPA) hidratadas a pH 7,40.

Tabla III.5.2.2.1. Índices de refracción para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador, hidratadas en solución salina fisiológica a 34,0 $^{\circ}\text{C}$.

Tabla III.5.2.2.2. Coeficiente de reflexión óptica para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador; y las lentes comerciales: Etafilcon A (Johnson y Johnson) y Lotrafilcon A (Ciba Vision).

Tabla III.6.2.1.1. Valores de densidad (δ) y desviación estándar (SD), obtenidos para los hidrogeles de p(HEMA-co-DPA) a 20 $^{\circ}\text{C}$.

Tabla IV.1.1.1. Concentración de los electrolitos presentes en la lágrima.

Tabla IV.1.1.2. Relaciones entre el valor del exponente n y el mecanismo y tipo de liberación en el modelo semi-empírico de Ritger-Peppas.

Tabla IV.1.1.3. Longitudes de onda seleccionadas para la cuantificación por espectroscopia UV-Visible de los principios activos empleados.

Tabla IV.2.2.1.1. Propiedades de los principios activos empleados en este trabajo.

Tabla IV.2.2.1.2. Valores finales de principios activos modelos incorporados (en miligramos por gramo de película) empleando una solución de carga de 25 mg/l en BF a pH 6,50 y 25 °C.

Tabla IV.2.2.1.3. Valores finales de PA incorporados (en miligramos por gramo de película) empleando una solución de carga de 200 mg/l en BF pH 6,50 y 25 °C.

Tabla IV.2.2.1.4. Contenido acuoso para las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA en BF a pH 6,50 y 25,0 °C.

Tabla IV.2.2.2.1. Valores finales de DXP incorporada (mg/g de película) en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA, empleando soluciones de carga de 50 mg/l en BF (0,1M).

Tabla IV.2.2.2.2. Valores finales de R6G incorporados (mg/g de película) en las películas de p(HEMA-co-DPA) y pHEMA, empleando soluciones de carga de 50 mg/l en BF (0,1M).

Tabla IV.2.2.4.1. Valores finales de R6G incorporada en miligramos por gramo de película. Se empleó una solución de carga de 50 mg/l en BF a pH 6,50 y 8,40.

Tabla IV.2.2.4.2. Valores correspondientes al ajuste con la ecuación de Ritger-Peppas (Ec. IV.1.1.4), los parámetros k , n , (calculados con la Ec. IV.1.1.5) pertenecientes a las cinéticas de carga de DXP en BF pH 6,50 y 25 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Tabla IV.4.2.1.1.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$) correspondientes a la cinéticas de liberación de R6G en BF a pH 7,40 y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador. Porcentajes finales de R6G liberados en la primera (L_1), y segunda (L_2) experiencia de liberación.

Tabla IV.4.2.1.1.2. Valores correspondientes al ajuste con la ecuación de Ritger-Peppas pertenecientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a pH 7,40 y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Tabla IV.4.2.1.2.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$) y porcentaje final de R6G liberada correspondientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador.

Tabla IV.4.2.1.2.2. Valores del coeficiente de determinación (R^2) (Ajuste Ec. IV.1.1.4) y parámetros k , n , (Ec. IV.1.1.5.) y D_{ip} (Ec. IV.1.1.3) pertenecientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador.

Tabla IV.4.2.1.3.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$) correspondientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador cargadas a pH 6,50.

Tabla IV.4.2.1.3.2. Ajuste para los modelos de Higuchi y Ritger-Peppas de las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador cargadas a pH 6,50.

Tabla IV.4.2.1.3.3. Valores del coeficiente de determinación R^2 del ajuste de Ritger-Peppas (Ec. IV.1.1.4), los parámetros k , n , (Ec. IV.1.1.5) y D_{ip} (Ec. IV.1.1.5) correspondientes a las cinéticas de liberación de R6G en BF a diferentes valores de pH y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 % p/p de entrecruzador cargadas a pH 6,50.

Tabla IV.4.2.2.1.1. Valores de tiempo-medio ($t_{1/2}$), tiempo final de la segunda (t_{f2}) y tercera (t_{f3}) etapa, y las cantidades de dexametasona-21 fosfato liberada correspondientes a las cinéticas de liberación en BF a pH 7,40 y 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Tabla IV.4.2.2.1.2. Valores correspondientes al ajuste con la ecuación de Ritger-Peppas (Ec. 1.1.4) y los parámetros k y n (Ec. IV.1.1.5) pertenecientes a las cinéticas de liberación de DXP en BF a pH 7,4 y a 34,5 °C para las películas de p(HEMA-co-DPA) con 1 y 3 % p/p de entrecruzador.

Tabla VI.2.2.1. Reactivos y cantidades utilizadas para la preparación de las diferentes soluciones buffer fosfato de sodio (BF).

XI. LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

A	absorbancia
A	especie foto-excitada
AC, θ	ángulo de contacto
AM	azul de metileno
ATR	reflectancia total atenuada
BF	buffer fosfato de sodio
c^*	concentración crítica
CA	contenido acuoso
C_i, C_o	concentración de la droga en solución
$C_{p,rev}$	capacidad calorífica reversible
D	coeficiente de difusión
D_{ip}	coeficiente de difusión de la droga en el polímero
DMAEMA, DMA	2- (dimetilamino)etil metacrilato
Doracur TPO	óxido de 2,4,6-trimetilbenzoil-difenilfosfina
DMA	ensayo dinámico-mecánico
DSC	calorimetría diferencial de barrido
DPA	2-(diisopropilamino) etilmetacrilato
DXP	Dexametasona-21 fosfato
ΔC_p	variación en la capacidad calorífica específica
ΔH	variación de entalpía de fusión del agua
ΔW	rango de temperatura en transición térmica
ε	coeficiente de absorción molar
E	módulo elástico
EGDMA	etilenglicoldimetacrilato
F	factor de corrección en refractometría
FTIR	espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
HEMA	2-hidroxietilmetacrilato
HQ	hidroquinona
IBP	ibuprofeno
n	índice de refracción
J_i	flujo molar de la droga
k_{GT}	parámetro de interacción
HR	humedad relativa
I_a	intensidad de la luz absorbida
I_o	intensidad de luz incidente
k_d	constante de velocidad para la disociación catalítica de un iniciador
k_i	constante de velocidad para el paso de iniciación.
k_p	constante de propagación
k_{tc}	constante de terminación
LC	lente(s) de contacto
LCT	lentes de contacto terapéuticas

M_e	masa del fármaco liberada en el equilibrio a tiempo infinito
M_t	cantidad de masa del fármaco liberada luego de un tiempo t
MC	contenido de humedad total
MDSC, MTDSC	calorimetría diferencial de barrido modulada
MAA	ácido metacrílico
N-iPAAm	N-isopropil acrilamida
$N_{t_i}D$	índice de refracción medido a la temperatura de referencia T_i
PA	principio activo
R6G	rodamina 6G
R_p	velocidad de polimerización
P_0	velocidad de los fotones incidentes
$P_{h,t}$	peso hidratado de la película en el tiempo t
P_i	peso de película sin lavar
P_j	porcentaje de pérdida de masa para la etapa de degradación j
P_f	Peso de película lavada
P_x	peso del xerogel
Q_t	grado de hinchamiento al tiempo t
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RB	rosa de bengala
SEM	microscopía electrónica de barrido
T_j	temperatura máxima para la etapa de degradación j
TM	timolol maleato
T_g	temperatura de transición vítrea
TGA	análisis termogravimétrico
THF	flujo de calor total
$t_{1/2}$	tiempo medio de liberación
t_{f2}	tiempo final de la segunda etapa de liberación
t_{f3}	tiempo final de la tercera etapa de liberación
URF	promedio de la rampa de velocidad
Φ	número de cadenas de propagación iniciadas por fotón de luz absorbido
V_s	volumen en la fase acuosa del hidrogel,
W_c	masa total de agua cristalizable o libre
W_{nc}	masa total de agua no cristalizable
W_p	peso del hidrogel seco
W_t	porcentaje total de agua