



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Farmacia y Bioquímica

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO
CENTRO ATOMICO EZEIZA

TITULO: OBTENCION DE HIDROGELES PARA SU UTILIZACION
COMO DISPOSITIVOS BIOMEDICOS APLICANDO RADIACIONES
IONIZANTES

AUTOR: LIC. MARIA LUCIANA CERCHIETTI

DIRECTOR: DR. EDUARDO SMOLKO

CONSEJERO DE ESTUDIOS: DR. DIEGO CHIAPPETTA

2017

INDICE

Capítulo 1.	ANTECEDENTES	
1.1 Bioadhesivos		3
Formas farmacéuticas bioadhesivas de administración oral		
1.2. Sistemas conformados por hidrogeles		5
1.2.1 Conceptos generales		5
1.2.2 Clasificación		6
1.2.3 Características		8
a) Hinchamiento		8
b) Biocompatibilidad		9
c) Propiedades mecánicas		10
1.2.4 Métodos para producir un hidrogel		12
a) Entrecruzamiento físico		12
b) Entrecruzamiento químico		13
1.3. Uso de la tecnología de radiación ionizante para la formación de un hidrogel		15
1.3.1 Entrecruzamiento		16
1.3.2 Degradación		17
1.3.3 Fundamentos de las radiaciones ionizantes		18
a) Clasificación de las radiaciones ionizantes		19
b) Tipos de radiaciones ionizantes		19
c) Interacción de las radiaciones con la materia		21
d) Radiólisis		23
e) Definiciones y unidades de magnitudes aplicadas a radiaciones ionizantes y dosimetría		25
f) Irradiación industrial		25
Proceso de irradiación		
1.4. Aplicaciones biomédicas más comunes		28
1.4.1 Aplicación de hidrogeles en la administración de fármacos		28
Aplicación tópica en mucosa oral		
1.4.2 Apósitos para cubrir heridas		31
Capítulo 2:	OBJETIVOS	35
Capítulo 3:	EXPERIMENTAL	36
3.1 Descripción del método de irradiación		36
3.1.1 Irradiación		36
3.1.2 Irradiadores		36

3.1.3. Diseño	40
3.1.4 Modo de irradiación	42
3.1.5 Dosimetría. Laboratorio de altas dosis	44
3.2 Materiales y Métodos	45
3.2.1 Monómeros	45
a) Acrilamida	45
b) Acido acrílico	46
3.2.2 Entrecruzadores	46
a) Trimetacrilato de trimetilol propano	46
b) Glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato	47
c) Dimetacrilato de dietilenglicol	48
d) Dimetacrilato de glicerol	48
3.2.3 Polisacáridos	49
a) Alginatos	49
Producción en el país	
Estructura química y propiedades	
b) Carragenanos	54
3.2.4 Reactivos generales	55
a) Glicerol	55
b) Polivinilpirrolidona	56
c) Polivinilalcohol	57
d) Polietilenglicol	58
e) Carboximetilcelulosa	59
f) Hidroxietilcelulosa	60
3.2.5 Mediciones reológicas	60
Medición de fuerza de adhesión y resistencia al corte	
3.2.6 Medición de viscosidad	63
a) Determinación de la masa molecular	64
b) Viscosimetría	64
c) Procedimiento estándar	66
d) Cálculos	67
3.2.7 Mediciones por espectroscopia ultravioleta-visible	67
3.2.8 Mediciones por espectroscopia infrarroja	68
3.3 Preparación de hidrogeles instantáneos	70
3.3.1 Preparación de mezclas básicas	70
a) Estudios preliminares	70
b) Variaciones de composición de mucoadhesivos	73
c) Composiciones binarias	73
d) Composiciones terciarias	75
e) Composiciones cuaternarias	76
3.3.2 Estudio de la modificación de alginato bajo irradiación	76
a) Determinación de la masa molecular a distintas dosis por medio de la viscosidad	77
b) Determinación del rendimiento de la ruptura de cadenas y del grado de degradación	84

c) Espectroscopia UV-vis	86	
d) Espectroscopia FTIR: degradación de alginato	90	
e) Espectroscopia FTIR: degradación de carragenano	92	
3.3.3 Irradiación en estado pastoso	93	
a) Preparación de muestras alginato-ácido acrílico	94	
b) Estudios de gelificación post irradiación	95	
3.3.4 Irradiación en estado líquido	96	
a) Preparación de las muestras alginato-acrilamida	97	
b) Evaluación de los parámetros de adhesión	99	
c) Evaluación de la viscosidad	104	
d) Espectroscopia FTIR	107	
3.4 Hidrogeles con aplicación en curación de heridas	110	
3.4.1 Formación de hidrogeles en base acrilamida, agua y glicerol	110	
Estudio de hinchamiento		
3.4.2 Incorporación de entrecruzadores	114	
a) Preparación de muestras	114	
b) Variación de las composiciones	115	
c) Irradiación de las muestras	122	
d) Estudio de hinchamiento	123	
e) Cinética de hinchamiento	133	
f) Consideraciones matemáticas	133	
g) Obtención de materiales diversos	142	
3.4.3 Estudio de la formulación final	145	
a) Estabilidad pre-irradiación	146	
b) Evaluación con respecto a la temperatura	146	
Capítulo 4:	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	151
4.1 Resultados hidrogeles para mucosa bucal		151
4.2 Resultados hidrogeles como cobertores de heridas		156
Capítulo 5:	CONCLUSIONES	161
Capítulo 6:	RESUMEN	163
Capítulo 7:	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	167

RESUMEN

En este trabajo se presentan dos nuevas formulaciones farmacéuticas en la forma de hidrogeles con acción tópica. Una de ellas está conformada por una solución acuosa de acrilamida:alginato 1.2 molar tratada con radiaciones ionizantes a una dosis absorbida de 2 kGy a 1 kGy/día en aire.

Los hidrogeles obtenidos forman películas transparentes y adhesivas con mejores propiedades mecánicas que el alginato sin modificar y se obtienen instantáneamente en contacto con una solución de calcio aportada en forma separada en la forma de spray. Este sistema puede contener un analgésico y se emplearía en pacientes con lesiones de la mucosa oral.

Con la utilización de radiaciones ionizantes se obtuvo otro hidrogel con una formulación novedosa en base a dos solventes. La solución de acrilamida, glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato, agua y glicerol se irradia a 25kGy, con una tasa de 10kGy/hora y se obtiene un hidrogel transparente, elástico, suavemente adherente, con capacidad de hinchamiento y permeable al pasaje de humedad y oxígeno. La tecnología de radiación permite variar la forma y tamaño, logrando la esterilidad del producto final. Se forma un material que cumple características tales que pueda usarse como apósito y acción tópica en curación de heridas.

ABSTRACT

Hydrogels are widely used in a variety of biomedical devices. Here we present to new ones produced with the use of radiation technology.

A solution of acrylamide: alginate to 1.2 molar at 2kGy, dose rate of 1kGy/day and air atmosphere, a new material is formed with higher mechanical properties than those of unmodified alginate. The hydrogels obtained are transparent and adhesive films, which are formed instantly in contact with a calcium solution separately applied. The system containing an analgesic drug with topical action could be used in patients with mucositis.

Another hydrogel was obtained with a new formulation based on two solvents under gamma radiation. The solution of acrylamide, glycerol 1,3 diglycerolate diacrylate, water and glycerol was exposed to 25kGy, at 10kGy/hour. A transparent, elastic, gently adhesive, swellable and permeable hydrogel is obtained. Radiation technology allows varying the shape and size while achieving the sterility of the final product. Hence a material is formed, that meets the adequate characteristics, so that it can be used as a dressing with topical wound healing actions.

AGRADECIMIENTOS

Mi especial agradecimiento a mi Director de Tesis, Dr. Eduardo Smolko por su inmensa generosidad, sincera vocación y permanente entusiasmo, que nos llevó a caminar juntos durante varios años en la fascinante química de las radiaciones, por su gran capacidad de trabajo y convertir adversidades en oportunidades. ¡Mil gracias!

Al Dr Diego Chiappetta, por su confianza y apoyo indispensable para la presentación del trabajo.

A las autoridades de la Comisión Nacional de Energía Atómica por permitir mi formación profesional y trabajar con absoluta libertad y comodidad. En especial, al gerente del Centro Atómico Ezeiza, Dr. J.C. Furnari y al jefe del Departamento de Aplicaciones Tecnológicas y Agropecuarias, Ing. A. Buján.

A todo el personal de la Planta de Irradiación Semiindustrial (PISI) y del laboratorio de Dosimetría de Altas Dosis del Centro Atómico Ezeiza particularmente a la Lic. E. Pawlak, que permitieron el desarrollo de gran parte de este trabajo.

Al Dr. A. Mondino por su soporte técnico y la permanente motivación en el área de química de las radiaciones.

A todo el personal de Dosimetría Personal y de Área, y en especial a la Dra G. Argüelles por facilitar mis tareas y su constante incentivo.

A la Ing. L. Romero por sus aportes y las múltiples tareas compartidas en el laboratorio de Polímeros de CNEA.

A la jefa del Laboratorio de Fluorescencia de Rayos X, Lic G. Custo, por su confianza y atención permanente en mi formación académica; su liderazgo y trabajo en equipo hace que los días de laboratorio sean creativos, divertidos e inspiradores.

Al personal de la Biblioteca del Centro Atómico Ezeiza y Centro Atómico Constituyentes, por encontrar hasta lo imposible.

A Fernanda por el continuo e invaluable apoyo para la finalización de este trabajo. Su convicción, rigor científico y esfuerzo permanente, son una fuente de inspiración para enfrentar nuevos desafíos.

A mis padres, a mis hermanos Leo y Flor, que me dan permanente motivación y sostén en mi crecimiento personal y profesional.

A Mike por comprender esta locura y acompañarme en el desafío de ver crecer a nuestros pequeños hijos que nacieron mientras se desarrolló este trabajo.

1. ANTECEDENTES

En forma simultánea a la investigación de nuevas moléculas de fármacos o su mejora, la investigación y el desarrollo en el área farmacéutica llevan a cabo trabajos dirigidos a la búsqueda de novedosas formas de administración que también suponen un claro beneficio para el paciente. Estos avances van en paralelo con el crecimiento de la química de los polímeros y en la interpretación de los múltiples factores físicos, químicos y biológicos que intervienen en la aplicación de nuevas formas farmacéuticas.

Los excipientes y las formas farmacéuticas eran considerados tradicionalmente como simples soportes inertes del principio activo, con la sola intención de vehiculizarlo del modo más eficaz, estable y satisfactorio posible. Pero hace ya más de un siglo que la comunidad científica comprobó que no era así, ya que surgieron casos en los que un cambio en el excipiente seleccionado o en la forma galénica utilizada daba lugar a la ineficacia terapéutica de los medicamentos administrados. Fue entonces cuando se empezó a desarrollar el interés por el descubrimiento de nuevos excipientes y por el diseño de diferentes sistemas para administrar fármacos. Y ya avanzada la segunda mitad del siglo XX aparecieron los que hoy en día se conocen con el nombre de sistemas terapéuticos de liberación controlada, que se fundamentan en el principio de que las propiedades terapéuticas de una sustancia activa dependen mucho más del grado y de la velocidad de absorción en el organismo que de la propia dosis administrada. Estos pueden definirse como formas farmacéuticas, sistemas o dispositivos que liberan el principio activo a velocidades predeterminadas durante un tiempo preestablecido o lo vehiculizan hacia una estructura corporal concreta. Su comportamiento puede ser dependiente o no del medio circundante donde se apliquen.

Los nuevos sistemas de administración de medicamentos persiguen el objetivo de hacer llegar el fármaco a un lugar concreto del organismo con una velocidad adecuada, debiendo permanecer en la región deseada durante un determinado período de tiempo a una concentración establecida. Si este lugar fuera el lumen intestinal, una mucosa o el estrato córneo, cabría hablar de una liberación extra-tisular. Por el contrario, si fuera un tejido concreto, un órgano o una célula, se trataría de una liberación intra-tisular o incluso intracelular.

En el primero de los casos, que es el propósito de este estudio, deben ser capaces de liberar el fármaco de una manera concreta y preestablecida (control temporal) o localizada (control espacial). En el segundo, deben vehiculizar el fármaco hacia un tejido o entorno de células específico (distribución selectiva). Se distinguen, por lo tanto, dos posibilidades: los que controlan la liberación del fármaco, ya sea en velocidad o en su localización y aquellos que facilitan la distribución a una zona concreta del organismo.

Hay que destacar que el gran avance en la investigación de estas formas de dosificación va en paralelo, por un lado a los adelantos en el conocimiento de nuevas sustancias poliméricas que son la base de la formación de sistemas matriciales y reservorio que controlan la liberación y, por otro, a la mayor consideración y profundización en los conocimientos de aquellos factores fisiológicos implicados en el funcionamiento de los sistemas de liberación controlada.

La capacidad de aumentar el tiempo de permanencia de la solución y, por tanto, de contacto fármaco/lugar de absorción mejoraría de forma neta la biodisponibilidad del medicamento.

Existen numerosos criterios para clasificar estos nuevos sistemas: según su vía de administración, tipo y mecanismo de liberación, etc. En este trabajo se ha prestado especial interés a las lesiones cutáneas y mucosas de diversas etiologías. Para estas indicaciones, existen diversas estrategias y dispositivos que permitan controlar la liberación de droga localmente. En nuestro trabajo nos centraremos en sistemas bioadhesivos y en particular el uso de hidrogeles.

Si bien una de las aplicaciones más interesantes de los sistemas bioadhesivos, es su utilización como sistema de liberación de droga local, cobra particular importancia su utilización sin drogas, simplemente considerando sus propiedades físico-químicas aplicadas tópicamente a una superficie biológica.

A continuación, pasaremos a describir brevemente las características únicas de estos sistemas, considerando siempre el área para la cual se han desarrollado. En este sentido debe considerarse como fundamental su accionar y su localización tópica.

La vía tópica tiene por objeto aplicar fármacos u otras propiedades físico/químicas (frío, calor, humedad) a un nivel superficial, en contacto directo con las mismas. La característica de esta vía es que se busca fundamentalmente el efecto a nivel local, no interesando la absorción de los principios activos.

En este trabajo en particular, se busca aplicar éstos en forma superficial a la piel y mucosas, sobre todo en los casos donde hayan sufrido daños, como lo puede ser la piel alterada en un paciente quemado como también posterior a un procedimiento quirúrgico o mucosa oral lesionada en el caso de una mucositis. Esencialmente se busca generar y aportar una nueva herramienta en el tratamiento de estas lesiones, a través de un control tópico del dolor, cicatrización e infección. Esto pensado para adultos, pero sin dejar de tener en cuenta que la población pediátrica tiene padecimientos y necesidades similares (King 2014).

1.1 Bioadhesivos

El término bioadhesión es utilizado para describir un fenómeno que se relaciona con la capacidad de algunas macromoléculas sintéticas y/o naturales de adherirse a tejidos biológicos. Cuando una de las superficies es una membrana mucosa (capa celular) o bien a la capa de la mucina que recubre esta membrana superficial, el fenómeno se conoce como mucoadhesión (Shaikh 2011).

Los lugares potencialmente aptos para la aplicación de los mucoadhesivos incluyen las cavidades gastrointestinal, rectal y bucal, la nariz y la vía respiratoria, el ojo y la zona vaginal. Todas estas alternativas tienen en común ofrecer una capa externa tapizada por mucus. Este mucus es un gel hidratado, viscoso y aniónico, compuesto en gran parte de cadenas flexibles glucoproteicas. Es una secreción translúcida que forma una capa continua, delgada y adherente en la superficie de la mucosa epitelial. Las funciones fundamentales son la lubricación y la protección de las células epiteliales subyacentes de agresiones de tipo mecánico o químico y a la degradación bacteriana. El mucus está en constante renovación.

La composición exacta del mucus así como el espesor de la capa mucosa varían considerablemente dependiendo de la especie animal y, a su vez, de la ubicación anatómica y del estado fisiopatológico de la persona, factores a tener muy en cuenta en el diseño de la forma bioadhesiva.

Las moléculas estudiadas como mucoadhesivos son numerosas. Se incluyen las clásicas formadoras de hidrocoloides, de múltiple y variado uso tecnológico: las gomas (tragacanto, guar, karaya) en altas concentraciones, alginato sódico, gelatina, quitosano; derivados de la celulosa como metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, hidroxietil celulosa, hidroxipropilcelulosa y otras. Polietilenglicoles, alcohol polivinílico, carbopol, polímeros y copolímeros del ácido acrílico y metacrílico, polialquiloacrilatos, policarbofil, etc. (Shojaei A. 1998, Park 1985). Otros han sido sintetizados específicamente para alcanzar óptimos resultados de bioadhesividad y se han formulado precisas combinaciones de polímeros cuya composición cuali y cuantitativa ha sido objeto de patentes, como por ejemplo Cydot ® de la compañía 3M.

Numerosos investigadores (Nagai y Machida 1985, Park y Robinson 1984, Gupta 1994, Peppas y Buri 1986, entre otros) han trabajado para poder reseñar las características moleculares requeridas para la mucoadhesión, algunas de ellas son: moléculas lineales o poco ramificadas, de alto peso molecular, con grupos funcionales hidrófilos capaces de formar puentes de hidrógeno, con cargas iónicas intensas, flexibilidad suficiente para penetrar la malla mucosa o hendiduras del tejido y con adecuadas características de tensión superficial. Las cargas de la red molecular del polímero facilita la entrada de cantidad

suficiente de agua, que provoca la hidratación, el hinchamiento y expansión del gel haciendo posible la movilización de las cadenas del polímero bioadhesivo que expone todos los lugares de unión facilitando la interdifusión o interpenetración con el mucus. (Shaikh 2011, Jiménez-Castellanos 1993, Leung 1988, Lee J 2000).

Formas farmacéuticas bioadhesivas de administración oral

Como sistema farmacéutico, las formas mucoadhesivas son muy estudiadas porque tienen ciertas ventajas; pueden ubicar al sistema con la droga en una región determinada superando los procesos naturales de eliminación local y pueden incrementar el tiempo de permanencia del medicamento en dicha región consiguiendo un aumento neto del tiempo de efectividad del mismo. Así tal, dentro de las formas farmacéuticas bioadhesivas, será nuestro interés en la administración oral, por cuanto en esta zona, las formas más difundidas comercialmente resultan ser: parches, cremas, comprimidos y geles (Boyapally 2010, Petelin 2004, Rossi 2010, Nafee 2003, Consuelo 2007).

Los parches mucoadhesivos se presentan como sencillos discos adhesivos o sistemas compuestos por láminas superpuestas, que serán convenientemente fijados a la membrana mucosa durante un tiempo prolongado. La tecnología de los parches bucales y su diseño está muy vinculada a la tecnología de los polímeros (Anders 1989; Woolfson 1995; Shemer 2008).

Bajo forma de comprimidos bioadhesivos se han diseñado diferentes modelos. La mayoría concebidos como comprimidos de liberación controlada, modificados en su formulación para permitir la bioadhesión. Dado el fácil acceso al lugar, la fijación puede ayudarse con presión temporal del comprimido contra la mucosa (Perioli 2008, Lejoyeux 1989). Los modelos matriciales incluyen el producto activo en un polímero bioadhesible que una vez adherido libera el fármaco por hinchamiento y erosión. Comprimidos bicapa han sido desarrollados por Nagai y Mashida (Nagai 1985) para tratamiento de estomatitis aftosa, formados básicamente por carbopol 934, hidroxipropilcelulosa y lactosa. También con similar formulación empleando lidocaína fue publicado por el grupo de Ishida (Ishida 1982).

Los geles más estudiados para la mucosa sublingual o gingival contienen ácido poliacrílico y polimetilmetacrilato, con el fin de incrementar el tiempo de permanencia en la mucosa oral y mejorar la absorción, al tiempo que se consigue un cierto grado de liberación sostenida del fármaco (Shaikh 2011).

1.2 Sistemas conformados por hidrogeles

1.2.1 Conceptos generales

Los hidrogeles son polímeros que poseen unas características particulares. Son hidrófilos, insolubles en agua, blandos, elásticos y en presencia de agua se hinchan, aumentando considerablemente su volumen, pero manteniendo su forma hasta alcanzar un equilibrio físico-químico.

Estas características son consecuencia de diversos factores (Katime 2004, Syed 2011):

- i) su carácter hidrófilo es debido a la presencia en su estructura molecular de grupos funcionales hidrófilos como hidroxilo (-OH), carboxilo (-COOH), amida (-CONH₂) y sulfónico (SO₃H), a lo largo de las cadenas poliméricas,
 - ii) su insolubilidad en agua es originada por la existencia de una red tridimensional en su estructura polimérica. Este entrecruzamiento puede ser debido a fuerzas cohesivas débiles (como fuerzas de van der Waals y enlaces de hidrógeno),
 - iii) su tacto suave y consistencia elástica se encuentra determinada por el monómero hidrófilo de partida y su baja densidad de entrecruzamiento, y
 - iv) como resultado del balance entre las fuerzas intermoleculares dispersantes que actúan sobre las cadenas hidratadas y las fuerzas cohesivas que no evitan la entrada de agua en la red, se conserva la forma en presencia de agua.
- El primer hidrogel fue sintetizado en 1954 por Wichterle y Lim sobre el poli metacrilato de 2-hidroxietilo (PHEMA) (Wichterle 1960).

A partir de allí se inició una etapa muy fructífera en diversos campos como el alimenticio, agrícola y farmacéutico.

1.2.2 Clasificación.

Los hidrogeles se pueden clasificar de varias maneras, a saber, en función de los métodos de preparación, de la carga iónica, del origen, de la respuesta frente al medio, velocidad de biodegradación o la naturaleza de la reticulación. Una clasificación detallada de los hidrogeles se presenta en la Figura 1.1 (Alpesh 2011).

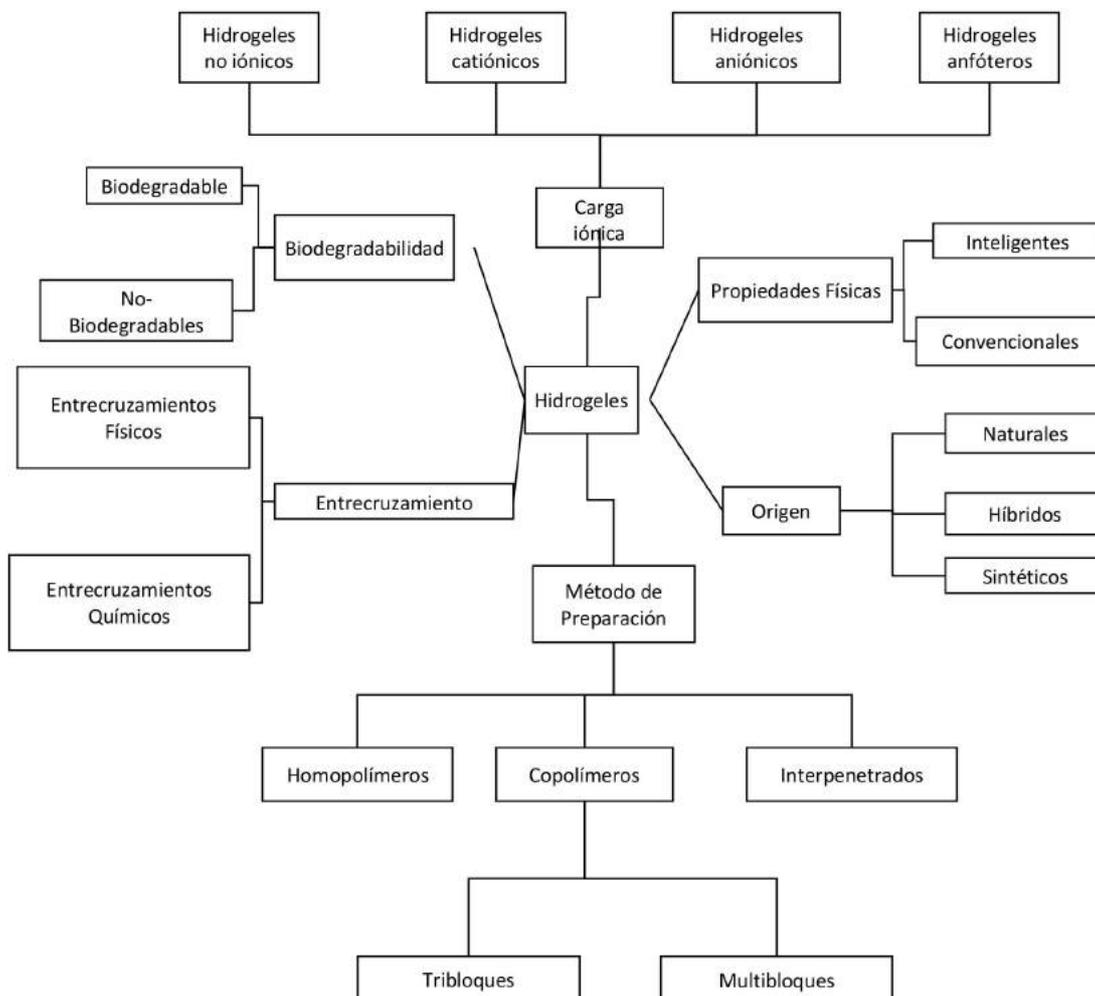


Figura 1.1 Esquema de clasificación de hidrogeles

Entre todos, una de las clasificaciones más importantes es en base a la naturaleza del entrecruzamiento. En los geles físicos, donde la naturaleza del proceso de reticulación es física, se logra habitualmente a través de procesos como la asociación, la agregación, la cristalización, la complejación y enlaces de hidrógeno. Como por ejemplo:

- i) Asociación hidrofóbica: grupos isopropilos en poli (N-isopropilamida); grupos metilos en metil celulosa;
- ii) Complejo ión-polímero: hidrogeles de base acrílica tratados con calcio, aluminio, hierro; alginato de sodio tratado con calcio y aluminio; polivinilalcohol tratado con bórax;
- iii) Complejo polímero-polímero: alginato y quitosano; goma Arábica y gelatina.

Por el contrario, los geles químicos involucran enlaces covalentes, como por ejemplo entrecruzamiento con grupos de moléculas insaturadas, simultánea polimerización y entrecruzamiento como ácido acrílico o acrilamida con metil bis acrilamida, o postpolimerización y entrecruzamiento químico como hidrogeles de ácido acrílico entrecruzado con glicerina, gelatina entrecruzada con gluteraldehído.

Mientras hidrogeles físicos son reversibles debido a los cambios conformacionales, los hidrogeles químicos son permanentes e irreversibles como resultado de cambios configuracionales (Siepmann, 2012).

Asimismo también se los puede diferenciar en cuanto a su comportamiento en el medio, los hidrogeles convencionales son las cadenas de polímeros reticulados que absorben agua cuando se pone en un medio acuoso y no hay ningún cambio en el equilibrio de hinchamiento con la variación en el pH, la temperatura o el campo eléctrico del entorno, mientras que los hidrogeles sensibles a los estímulos son las redes poliméricas que cambian su comportamiento con el cambio del medio circundante (Nho 2005, Gulrez 2011). Estos materiales poseen la habilidad de hincharse, encogerse, enrollarse o hasta degradarse en respuesta a una señal determinada y se conocen como hidrogeles inteligentes.

Los hidrogeles pueden prepararse a partir de polímeros naturales o sintéticos. Aunque los hidrogeles hechos de polímeros naturales no pueden proporcionar suficientes propiedades mecánicas tienen la ventaja de propiedades tales como biocompatibilidad y biodegradabilidad. Los hidrogeles sintéticos, por otra parte, no poseen estas propiedades bioactivas inherentes, pero sus estructuras definidas pueden ser factibles de modificarse para producir degradabilidad y funcionalidad.

La Tabla 1.1 enumera los polímeros naturales y monómeros sintéticos que se utilizan comúnmente en la fabricación de un hidrogel (Lin C. 2006).

Tabla 1.1: Polímeros naturales y monómeros sintéticos habitualmente utilizados en la fabricación de hidrogel (Lin C. 2006).

Polímero Natural	Monómero sintético
Quitosano	Hidroxietil metacrilato (HEMA)
Alginato	N-(2-hidroxiopropil) metacrilato (HPMA)
Fibrina	N-vinil-2-pirrolidona (NVP)
Colágeno	N-isopropil acrilamida (NIPA Am)
Gelatina	Ácido Acrílico (AA)
Ácido hialurónico	Ácido metacrílico (MAA)
Dextran	Polietilenglicol acrilato/metacrilato (PEGA/PEGMA)

1.2.3 Características de un hidrogel

a) Hinchamiento:

Cuando un hidrogel se somete a secado, el agua se evapora causando el colapso de la estructura. El gel pasa de un estado expandido, de máximo hinchamiento, a un estado colapsado con la consiguiente expulsión del disolvente. Este proceso es reversible.

En el estado seco, denominado xerogel, el gel es un material sólido, pero en presencia de agua se expande hasta alcanzar el hinchamiento en el equilibrio (Valles 2000). Este último estado resulta de un balance entre las fuerzas osmóticas que causan que el agua penetre entre las cadenas del polímero hidrófilo y las fuerzas cohesivas existentes entre estas cadenas que oponen resistencia a la expansión. Durante el hinchamiento, las cadenas que conforman la red se estiran. Simultáneamente aparece una fuerza retráctil en oposición al proceso de hinchamiento, ejercida por las cadenas de la red sobre el disolvente contenido en ella. El hinchamiento alcanza su valor máximo, o de equilibrio, cuando se obtiene un balance entre ambas fuerzas (Peppas 2000a, Pal 2009, Alpeh 2011).

El equilibrio de hinchamiento se ha explicado como el resultado del balance entre la presión osmótica que tiende a expandir el gel y la elasticidad del polímero que se opone a esta expansión. En la energía elástica influyen, además de otros factores, el grado de entrecruzamiento químico de la matriz que se establece durante la síntesis. Pero además está controlado por múltiples fuerzas que no son covalentes, como por ejemplo interacciones hidrofóbicas, iónicas o por puentes de hidrógeno.

Los factores determinantes del grado de hinchamiento son la hidrofilia de las cadenas poliméricas y la densidad de entrecruzamiento, aunque también influyen la tacticidad y la cristalinidad. Se puede preparar hidrogeles que responden a diversos estímulos, incorporando algún agente estímulo-respuesta ya sea en el esqueleto o como grupos colgantes en la estructura de la red.

Un análisis cinético del hinchamiento resulta muy interesante para el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos basados en matrices poliméricas hinchables, ya que puede ser empleado para predecir la velocidad de liberación de las sustancias farmacológicamente activas.

b) Biocompatibilidad

La gran importancia de los hidrogeles está basada en su potencial uso como biomateriales.

Las primeras utilidades de lo que se considera como biomaterial, remonta en los egipcios y romanos, queriendo reemplazar tejidos duros. Los primeros plásticos sintéticos utilizados en cirugía fueron de celuloide, luego de la segunda guerra mundial, la bakelita tomó cierta importancia. Las primeras aplicaciones comerciales de estos materiales no poseían altos grados de pureza, ni estudios de bioestabilidad ni de las interacciones postoperatorias con el organismo.

Los primeros hidrogeles que ganaron aceptación fueron sintetizados por el hombre, así como el polimetilmetacrilato (PMMA) o el polivinilalcohol (PVA).

Por cuanto, durante los últimos tiempos hay numerosas aplicaciones de estos sistemas poliméricos, en concreto, en los sectores de la medicina y farmacia. (Boateng 2008). Los hidrogeles se parecen al tejido vivo más que ninguna otra clase de biomaterial sintético. Esto es debido a su alto contenido en agua, y a su consistencia suave, similar al tejido natural. Además, el alto contenido en agua contribuye a su biocompatibilidad. Por lo tanto, los hidrogeles pueden emplearse como lentes de contacto, membranas para biosensores,

componentes de corazones artificiales, materiales para piel artificial y sistemas de administración de fármacos.

Recientemente, los hidrogeles han ganado gran importancia reemplazando a otros polímeros en el ámbito biomédico, siendo actualmente un punto de interés su síntesis y el estudio de las propiedades de los nuevos materiales (Yoshii 1995, Hassan y Peppas 2000; Li H 2007, Lin C. y Metters 2006).

c) Propiedades mecánicas

La resistencia mecánica representa la capacidad de un material para soportar el accionar de una fuerza sin romperse y generalmente se caracteriza por el esfuerzo (de compresión o de tracción).

Aunque la presencia de agua absorbida en la matriz polimérica de un hidrogel juega un papel muy importante en las propiedades de biocompatibilidad, permeabilidad y difusión, afecta negativamente sus propiedades mecánicas. Así, por ejemplo, los hidrogeles que alcanzan elevados grados de hidratación en el equilibrio tienen, a temperatura ambiente, pobres propiedades mecánicas, presentando poca resistencia a la tracción y al desgarro.

El sobresaliente papel del agua actuando como plastificante, como medio de transporte en la matriz polimérica para las especies disueltas (tales como el oxígeno) y como "puente" entre superficies de diferente energía de polímeros sintéticos y fluidos del cuerpo, es el responsable de la posición única que los hidrogeles ocupan en el campo de los biomateriales.

El agua presente en los hidrogeles puede existir en un continuo de estados entre una forma libre y otra asociada, aunque actualmente es un tema de controversia, con algunos resultados contradictorios publicados. (Hoffman 2002, Joshi 1992).

La mayoría de las observaciones experimentales sugieren que el agua en los polímeros hinchados es diferente del agua libre y que no es posible asignar todavía un estado de agua preciso. El agua parece cambiar gradualmente de estado a medida que aumenta su interacción con las moléculas de polímero.

El contenido final de agua de los hidrogeles depende tanto de la cinética como de la termodinámica. No entraremos en detalle, pero podemos afirmar que durante el hinchamiento las primeras moléculas de agua interactúan con los grupos hidrófilos de la cadena, a medida que se completa la hidratación de los grupos más polares, la cadena se hincha y expone a los grupos hidrofóbicos

que comienzan a interactuar con el agua a través de interacciones hidrofóbicas y estas moléculas de agua con llamadas secundarias o asociadas. Ambos "tipos" de moléculas de agua unidas componen el agua total en el hidrogel.

Posteriormente a que el agua interactúe con ambos sitios, la fuerza osmótica de las cadenas le permite absorber aún más agua, que se llamará agua libre (Hoffman 2002).

Es bien conocido que las propiedades fisicoquímicas del hidrogel dependerán no sólo de la estructura molecular, de su grado de entrecruzamiento y del contenido de agua en equilibrio sino también de la relación entre el contenido de agua libre y el de agua asociada. Es probable que en el agua asociada las moléculas están unidas mediante enlaces de hidrógeno a los grupos hidrófilos de las cadenas poliméricas, mientras que las moléculas de agua libre lo hacen mediante enlaces de hidrógeno a las moléculas de agua libre y de agua asociada.

La importancia práctica para la tecnología de la liberación controlada del estado del agua en los hidrogeles es su relación con el transporte. El agua que está firmemente unida al polímero no podrá contribuir mucho a la solvatación de otras especies que se difunden. Por el contrario, el agua libre en el hidrogel facilita el transporte del soluto.

El aumento en la proporción de agua no asociada en el hidrogel da lugar a un empeoramiento de su resistencia mecánica. Estas propiedades mecánicas mejoran cuando el monómero es capaz de formar enlaces de hidrógeno, aunque como contrapartida sea más sensible a los cambios de temperatura y de pH del medio.

Por otro lado, el comportamiento elástico y la rigidez de los hidrogeles depende de la estructura molecular, densidad de entrecruzamiento, formación de enlaces covalentes y fuerzas de interacción puestas en juego: iónicas, hidrófobas, van der Waals, polares y/o estéricas. Para minimizar los problemas debidos a las pobres propiedades mecánicas de los hidrogeles, se suele aumentar el grado de entrecruzamiento y copolimerizar empleando monómeros hidrófobos. Cuando se aumenta el grado de entrecruzamiento disminuye el grado de hinchamiento, incrementándose su resistencia mecánica.

1.2.4 Métodos para producir un hidrogel:

Existe una relación directa entre las propiedades de un hidrogel y su estructura molecular, de forma que ambas características no pueden considerarse de forma independiente, ya que el método de síntesis influye de manera decisiva tanto en la estructura molecular de la matriz polimérica como en las propiedades finales que presentará el hidrogel. Por lo tanto, cuando se describen las propiedades de los hidrogeles ha de hacerse referencia a los parámetros estructurales que las condicionan. En resumen, hay relación entre el proceso de síntesis, la estructura molecular del hidrogel y sus propiedades. A continuación se enuncia las principales formas de obtención de hidrogeles.

a) Entrecruzamiento Físico

Calor/enfriamiento (como gelatina o carragenina por ejemplo):

La formación del gel se debe a la hélice-formación, la asociación de las hélices, y zonas de unión que forman (Funami 2007). La carragenina en solución caliente está presente como conformación de espiral al azar. Después de enfriar se transforma a varillas helicoidales rígidas. En presencia de sales (K^+ , Na^+ , etc), debido a la proyección de repulsión de grupo sulfónico (SO^{-3}), las dobles hélices se agregan para formar geles estables.

Interacción iónica:

Este método subyace en el principio de la gelificación de una solución de polielectrolito (por ejemplo, alginato de sodio) con un ión multivalente de cargas opuestas (por ejemplo, Ca^{2+})

Complejos iónicos:

Se pueden formar mediante la mezcla de un polianión con un policación, los polímeros con cargas opuestas se pegan y forman complejos solubles e insolubles en función de la concentración y el pH de las soluciones respectivas (Figura 1.2). Un ejemplo de ello es xantano polianiónico con quitosano policationico (Gulrez 2011).

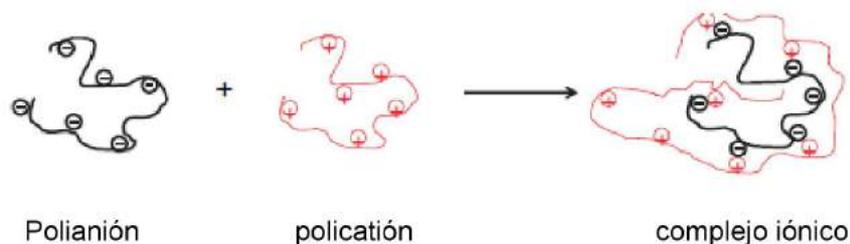


Figura 1.2: Esquema de formación de un complejo poli-iónico (Gulrez 2011).

Puentes hidrógeno:

Puede obtenerse por reducción del pH de la solución acuosa de polímeros portadores de grupos carboxilo. Ejemplos de tales hidrogeles es la carboximetil celulosa formados mediante la dispersión en HCl 0,1 M (Takigami 2007).

Maduración (agregación inducida por el calor):

Como por ejemplo los de goma arábica que producen agregados de grupos protéicos en su estructura formando una estructura entrecruzada (Al-Assaf 2007b).

Congelación-descongelación:

El entrecruzamiento físico de un polímero para formar su hidrogel también se puede lograr mediante el uso de ciclos de congelación-descongelación. El mecanismo implica la formación de microcristales en la estructura. Ejemplos de este tipo de gelificación son geles de polivinilo alcohol y de xantano (Giannouli y Morris 2003; Hoffman 2002).

b) Entrecruzamiento químico (*Cross-linking*)

El entrecruzamiento químico implica el injerto de monómeros en la columna vertebral de un polímero o el uso de agentes entrecruzadores para unir dos cadenas de polímeros. El entrecruzamiento de polímeros naturales y sintéticos se puede lograr a través de la reacción de sus grupos funcionales con agentes entrecruzadores. Hay un gran número de métodos reportados en la literatura para obtener hidrogeles permanentes químicamente entrecruzados.

El entrecruzamiento químico es uno de los métodos más atractivos de modificación de polímeros y puede contribuir a la mejora de productos en el marco industrial y biomédico.

Las cadenas de polímero se activan por la acción de reactivos químicos o del tratamiento de radiación ionizante (Figura 1.3). El crecimiento de monómeros funcionales en macrorradicales activados conduce a un mayor entrecruzamiento.

Así entonces, se llama entrecruzamiento químico cuando son activados por la acción de una sustancia química, mientras que el entrecruzamiento por radiación, la reacción se inicia por el efecto de rayos gamma o electrones de alta energía.

El empleo de la radiación no implica el uso de aditivos químicos y por lo tanto se mantiene la característica de biocompatibilidad del biopolímero. También, la modificación y la esterilización se puede lograr en un solo paso, y por lo tanto

es una gran ventaja para modificar los biopolímeros con su utilización para fines específicamente en aplicación biomédica (Lugao 2001).

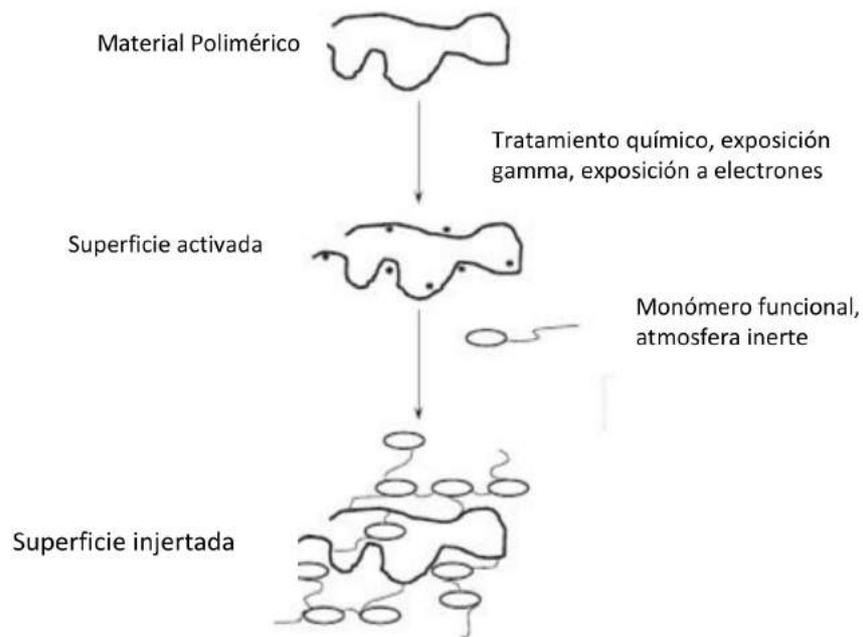


Figura 1.3: Injerto (grafting en inglés) de un monómero en una cadena polimérica dando lugar a una ramificación y entrecruzamiento (Alpesh 2011)

1.3 Uso de la tecnología de radiación ionizante para la formación de hidrogeles.

La técnica se basa principalmente en la producción de radicales libres en el polímero después de la exposición a la fuente de alta energía, como los rayos gamma, rayos X o haz de electrones. El accionar de la radiación (directa o indirecta) dependerá del medio donde se encuentra el polímero (sólido, pastoso o solución). La irradiación de los polímeros en solución diluída dará lugar a cambios químicos como resultado de "acción indirecta" de la radiación, donde los fotones son absorbidos principalmente por agua, y en esta radiólisis se generan radicales libres que pueden cooperar en el entrecruzamiento. Los cambios en el peso molecular, reología, viscosimetría, espectroscopía ultravioleta y espectroscopía infrarroja se han utilizado para seguir las reacciones de radiólisis. Los polímeros sufren también el proceso de degradación.

El entrecruzamiento químico de los hidrogeles en condiciones pastosas ha recibido considerable atención recientemente. En estas condiciones la concentración del polímero es más alta que en solución, de tal manera que hay acción directa de la radiación sobre el polímero e indirecta por la radiólisis del agua. Por cuanto, se dan radicales libres del polímero que sufre degradación y la presencia de agua ayuda a promover la combinación y formar una red y su radiólisis aumenta el rendimiento de macroradicales. La concentración a la que se puede lograr esta modificación depende de la estructura, el grado de sustitución, distribución del grupo de sustitución y el peso molecular inicial.

Por otro lado, la irradiación de los hidrogeles en estado sólido induce la formación de radicales en las cadenas moleculares como resultado de la acción directa de la radiación. Aquí principalmente dos eventos tienen lugar

- (i) directa: transferencias de energía a la macromolécula para producir macrorradicales y
- (ii) generación de radicales primarios debido a la presencia de agua (humedad). Durante la radiólisis en estado sólido de hidrocoloides, la escisión del enlace glucosídico es la reacción dominante que conduce a disminuir el peso molecular de macromoléculas (Wach 2003).

La aplicación del tratamiento por irradiación de polímeros sintéticos para introducir cambios estructurales es ahora una industria floreciente, derivada de la labor pionera de Charlesby (Rosiak y Yoshii 1999).

1.3.1 Entrecruzamiento

Cerca de los años 50, los pioneros de la química de las radiaciones en polímeros iniciaron los primeros estudios de entrecruzamiento por radiación. Sin embargo, los hidrogeles fueron analizados principalmente desde el punto de vista de los fenómenos asociados con los mecanismos de reacción, características de la red formada, y sus relaciones con los parámetros del proceso de radiación. Los fundamentos de la física y química de los polímeros obtenidos por irradiación son de Charlesby en 1960 y Chapiro en 1962.

El notable interés en la aplicación de la radiación para obtener materiales con propósitos médicos comienza a fines de la década del sesenta, donde se ve reflejado en números artículos y patentes publicadas en Japón y Estados Unidos. A partir de esta época, la IAEA (sigla en inglés de la Agencia Internacional de Energía Atómica) ha puesto su interés directamente en la aplicación de la radiación para la obtención de estos materiales, solventando diversos programas relacionados con estos estudios.

En el caso particular de los hidrogeles, el uso de la radiación en la producción fue desarrollado en Polonia en 1986, bajo la dirección de Janusz Rosiak (Rosiak 1995). Se obtuvieron hidrogeles con la aplicación exclusivas en heridas, y que luego de las evaluaciones formales llegaron al mercado. Estos productos realizaron un punto de inflexión en las formas convencionales de aplicación de fármacos puesto que en su producción involucraban procesos de polimerización y entrecruzamiento, y esterilización.

Por cuanto, la tecnología de radiación simplificó los procesos productivos y redujo costos, y aportó un mayor control en el diseño de las matrices y sus propiedades físicas.

La IAEA fue el organismo que incentivó estas aplicaciones llevando esta tecnología por muchos laboratorios del mundo. Los países en desarrollo fueron los que tomaron mayoritariamente estas aplicaciones debido a la simplicidad del proceso y el bajo costo de los materiales empleados. Naturalmente, fueron apareciendo nuevos productos y aplicaciones.

Asimismo, se pueden observar las siguientes ventajas del método para la preparación de estos materiales (Rosiak 1994):

-La reacción tiene lugar sin la presencia de iniciadores químicos, por ello no es necesario eliminar los residuos de los iniciadores altamente tóxicos utilizados en la obtención de estas matrices mediante procesos químicos.

-Al irradiar los monómeros, se produce la formación del hidrogel simultáneamente con la esterilización del mismo.

-El proceso de polimerización puede efectuarse en un amplio rango de temperatura, sin la necesidad de someter al sistema a la acción del calor. Este proceso también puede ser llevado a cabo en estado supercongelado.

-Las etapas de iniciación y terminación de la reacción pueden ser llevadas a cabo simplemente por la introducción y la remoción del material en la fuente de irradiación.

-Las propiedades físicas y químicas del producto final pueden modificarse por el tipo, intensidad, tiempo y velocidad de la radiación emitida.

En resumen, el entrecruzamiento por radiación es la técnica que no involucra aditivos químicos, e incluso, como se detalló anteriormente, el producto se modifica y esteriliza en el mismo procedimiento, a un costo accesible. (Lugao 2001).

La técnica principalmente produce radicales libres en el polímero posterior a su irradiación con una fuente ionizante (rayos gamma, X o electrones), y otra herramienta que ejerce un rol importante en las características del producto obtenido es el medio en que se desarrolla la irradiación (soluciones diluidas, estado sólido o pastoso).

1.3.2 Degradación

Es necesario tener en cuenta la interacción de la radiación ionizante con los polisacáridos en general que además de favorecer los entrecruzamientos, puede generar rupturas y degradación de las cadenas. Estos dos fenómenos están directamente vinculados a las condiciones de irradiación y así los resultados pueden ser muy variados. La estructura de las macromoléculas, la presencia de aire y las condiciones de irradiación son los factores que determinan cual es el proceso principal. (Razem 2008, Makuuchi 2010).

Actualmente, se estudian los efectos de la radiación y su utilidad como herramienta capaz de a) copolimerizar polisacáridos para mejorar sus propiedades y b) degradar diferentes polímeros para obtener fragmentos que posean nuevas funciones químicas y/o biológicas.

En los últimos años, la irradiación de polisacáridos es de interés en la comunidad mundial y varias investigaciones y proyectos en colaboración han surgido a partir de resultados promisorios en el campo biomédico y agrícola. Asimismo, la IAEA ha facilitado y promovido diferentes aplicaciones vinculadas a los polímeros y la radiación, los cuales se pueden evidenciar en libros

vinculados a reuniones técnicas y reportes de colaboraciones técnicas entre los países miembros, los cuales nuestro grupo integra, a saber: Radiation synthesis and modification of polymers for biomedical applications IAEA, Vienna, 1996-2000. IAEA-TECDOC-1324 Advance in radiation chemistry of polymers, 2004. IAEA-TECDOC-1420, Radiation processing of polysaccharides IAEA, Vienna, 2004 IAEA-TECDOC-1422.

La técnica de radiación de alta energía se puede utilizar eficazmente para reducir el peso molecular de diferentes polímeros incluyendo polisacárido natural tal como alginato y quitosano. Es bien sabido que los polisacáridos pueden ser degradados debido a la escisión de enlaces glucosídicos. Se encontró que moléculas de bajo peso molecular derivadas de la degradación de polisacáridos eran útiles para la aceleración del crecimiento de una serie de vegetales, e incluso algunos oligosacáridos presentan una elevada actividad antimicrobiana (Kume 2002).

En nuestro grupo se llevó a cabo la experimentación con alginato irradiado en estado sólido a dosis altas y luego este material fue ensayado en los laboratorios de Departamento de Producción vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, con resultados muy promisorios, los cuales serán prontamente publicados por la IAEA.

Por cuanto, con la combinación de polisacáridos y la tecnología de radiaciones podemos obtener, productos de ruptura con masa molecular estimada con funciones biológicas específicas regulando la dosis y el estado; asimismo, la polimerización y/o copolimerización de los polisacáridos para mejorar sus propiedades y ofrecer nuevas en función de los monómeros involucrados.

1.3.3 Fundamentos de las radiaciones ionizantes

En virtud de seleccionar el método de las radiaciones ionizantes para la obtención de nuestro sistema bioadhesivo compuesto por hidrogeles para aplicaciones tópicas en mucosa oral y en la piel, detallaremos a continuación algunos fundamentos de las mismas y nomenclatura típica del campo de la química de las radiaciones.

El término de radiación, podemos definirlo como energía electromagnética o haz de partículas que se propaga en el espacio a partir de un emisor. Es también el término empleado para describir la emisión y transmisión de energía a través del espacio en forma de onda.

Por su parte, las radiaciones ionizantes son las que en su interacción con la materia son capaces de ionizarla (desplazar electrones de los átomos o moléculas generando iones).

Las radiaciones ionizantes pueden provenir de sustancias radiactivas, que emiten dichas radiaciones de forma espontánea o de generadores artificiales, tales como los generadores de Rayos X y los aceleradores de partículas.

a) Clasificación de las radiaciones ionizantes

Las radiaciones ionizantes, por su naturaleza de interacción, se pueden clasificar en:

Radiaciones directamente ionizantes: radiación formada por fotones o partículas cargadas con la energía suficiente para formar iones al colisionar con otros átomos. Estos son principalmente, los electrones energéticos, los positrones, los protones, las partículas alfas, los mesones cargados, los muones y los iones pesados.

Radiaciones indirectamente ionizantes: se entiende como la radiación formada por partículas sin carga que interactúan con la materia liberando partículas cargadas directamente ionizantes. Los tipos más comunes de radiación indirectamente ionizante son los fotones con energías superiores a 10 keV (rayos X y rayos gamma) y todos los neutrones.

b) Tipos de radiaciones ionizantes

Partículas alfas: una partícula alfa es un conjunto de dos protones y dos neutrones estrechamente unidos. Es idéntica a un núcleo de helio 4. Al carecer de electrones, su carga eléctrica es positiva (+2), mientras que su masa es de 4 uma (unidad de masa atómica).

Se generan habitualmente en reacciones nucleares o desintegración radiactiva de nucleídos que transmutan en elementos más ligeros mediante la emisión de dichas partículas. Su capacidad de penetración es pequeña; en la atmósfera pierden rápidamente su energía cinética, porque interactúan fuertemente con otras moléculas debido a su gran masa y carga eléctrica, generando una cantidad considerable de iones por centímetro de longitud recorrida. Por lo que se conoce, como alto LET (siglas en inglés de transferencia lineal de energía) lo que sugiere que ceden gran cantidad de energía en poco espacio y se frenan fácilmente, por lo que no pueden atravesar grandes espesores.

Partículas beta: una partícula beta es un electrón o positrón muy energético. Se debe aclarar que el positrón es la antipartícula del electrón, tiene la misma masa, similares propiedades pero su carga es de magnitud similar pero de signo opuesto. La naturaleza de las partículas beta se debe a que provienen de

desintegraciones nucleares, por lo que el electrón es de origen nuclear (transformación entre quarks) y no de la capas orbitales. Tienen un cierto grado de penetración pero también son frenadas.

Radiación gamma: la radiación gamma es radiación electromagnética emitida por un núcleo cuando experimenta una transición de un estado de energía más alta a un estado energético más bajo (desintegración nuclear), o también en procesos de aniquilación de un par de positrón electrón. También se genera en fenómenos astrofísicos de gran violencia.

Se diferencian de los rayos X en su origen. Éstos se generan a nivel extranuclear.

Debido a las altas energías que poseen, los rayos gamma constituyen un tipo de radiación ionizante capaz de penetrar en la materia más profundamente que la radiación alfa y la beta.

La energía de esta naturaleza se mide en megaelectronvoltios (MeV). Un MeV corresponde a fotones gamma de longitudes de onda inferiores a 10^{-11} m o a frecuencias superiores a 10^{19} Hz.

El esquema siguiente (Figura 1.4), muestra claramente el grado de penetración de los tres tipos de radiaciones ionizantes.

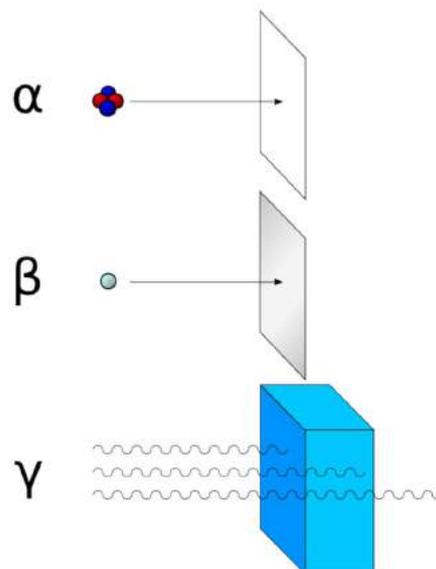


Figura 1.4: Distintos grados de penetración de las radiaciones ionizantes: partículas alfa, partículas beta y radiación gamma.

c) Interacción de las radiaciones con la materia

El paso de partículas cargadas y fotones a través de la materia está gobernado por las leyes de la Física Nuclear, si bien algunas interacciones ocurren en los núcleos. Se pueden producir tres tipos de situaciones;

- I) La partícula sufre muchas interacciones; pierde una pequeña cantidad de energía o desvía su trayectoria
- II) Pasa sin sufrir ninguna interacción
- III) La partícula es absorbida por el material

Una partícula cargada cubierta por su campo de fuerza eléctrica interactúa con uno o más electrones o con los núcleos de prácticamente todo átomo que este en su recorrido. En la mayoría de estas interacciones individuales se trasfiere solamente una mínima fracción de la energía cinética de la partícula incidente.

Las interacciones coulumbianas entre el electrón incidente y los electrones orbitales del material tienen como resultado la ionización y excitación de átomos.

Las partículas cargadas, a diferencia de las eléctricamente neutras, inducen gran cantidad de ionización y excitación durante todo su recorrido.

Los fotones de los rayos X y gamma interactúan con la materia y causan ionización de tres maneras diferentes (Figura 1.5):

- 1) Los fotones de energía más baja interactúan sobre todo mediante el efecto fotoeléctrico, por el cual el fotón cede toda su energía a un electrón, que entonces abandona el átomo o molécula. El fotón desaparece.
- 2) Los fotones de energía intermedia interactúan fundamentalmente mediante el efecto Compton, en virtud del cual el fotón y un electrón colisionan esencialmente como partículas. El fotón continúa su trayectoria en una nueva dirección con su energía disminuída, mientras que el electrón liberado parte con el resto de la energía entrante (menos la energía de unión del electrón al átomo o a la molécula).
- 3) La producción de pares solo es posible con fotones cuya energía sea superior a 1,02 MeV. El fotón desaparece, y en su lugar aparece el par electrón- positrón, que se comportan como radiación ionizante directa. A medida que pierde energía cinética, un positrón puede encontrarse con un electrón y las partículas se aniquilarán entre sí, emitiendo dos fotones de 511 keV a 180 grados uno de otro.

Cada uno de los efectos predomina a diferentes energías de los fotones. A bajas energías (rayos X) predomina el fotoeléctrico: a energías medianas (alrededor de 1 MeV), el Compton: a energías mayores, la producción de pares.

La figura 1.6 muestra las interacciones de los fotones con la materia según la energía y el Z del material absorbente.

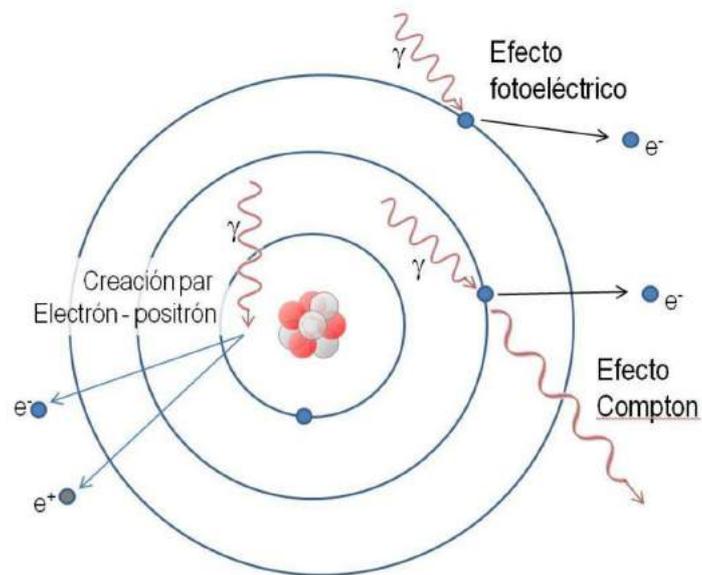


Figura 1.5: Procesos de interacción de los fotones con la materia

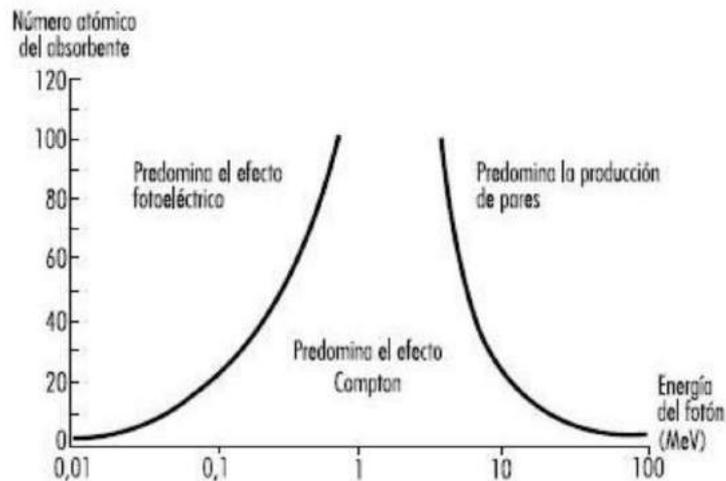


Figura 1.6: Prevalencia de los efectos de la interacción de los fotones en función del número atómico del absorbente y la energía del fotón (MeV)

Por último, la interacción de los neutrones con la materia, están vinculadas con las colisiones inelásticas, elásticas, captura (o activación) de neutrón y fisión. Todas ellas son interacciones con núcleos. Un núcleo que colisiona inelásticamente con un neutrón queda en un nivel de energía más alto. Entonces puede liberar esta energía en forma de un rayo gamma, mediante la emisión de una partícula beta o de ambas formas. En la captura neutrónica, un núcleo afectado puede absorber el neutrón y expulsar energía en forma de rayos gamma, X o partículas beta o ambas. Las partículas secundarias causan después ionización. En la fisión, hay captura neutrónica y el núcleo se desdobra en dos núcleos más livianos, que por lo general son radiactivos y por tal, inestables.

d) Radiólisis

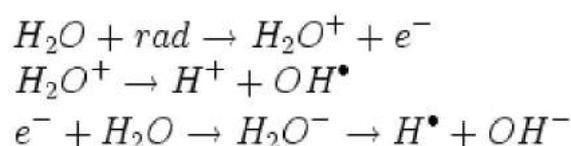
La ruptura de enlaces químicos por radiación para la formación de nuevos compuestos es un proceso conocido como radiólisis. En el caso de material biológico o sistemas acuosos en general, los productos de la interacción de los fotones con la materia son producto de eventos físico-químicos y vinculados con la radiólisis del agua. Este proceso es muy importante puesto que las condiciones de este trabajo estarán bajo sistemas altamente acuosos durante la irradiación, por lo que es de interés la descripción de los mecanismos que se desarrollan.

Aunque la acción de las radiaciones sobre el agua es una suma de procesos complejos, puede simplificarse resumiéndose en dos casos:

La descomposición molecular del agua y la formación de radicales libres.

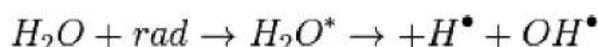
En primer lugar la radiación incidente sobre las moléculas de agua puede ionizarlas de tal manera que deja un ion H_2O^+ y un electrón libres. A este electrón se le llama electrón acuoso pues es muy lento ya que casi toda la energía se ha invertido en arrancarlo de la molécula.

El ion H_2O^+ es muy inestable y rápidamente se descompone en un H^+ y en un radical $OH\cdot$. El electrón acuoso, puede reaccionar con otras moléculas orgánicas o con una segunda molécula de agua produciendo radicales $H\cdot$ e iones hidroxilo $OH\cdot$. Los radicales $H\cdot$ y $OH\cdot$ son moléculas neutras con gran reactividad química pues tienen un electrón desaparejado que con muy poco esfuerzo tenderá a crear enlaces y robar así átomos a otras moléculas

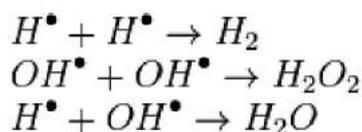


Los iones hidroxilo y los protones libres al ser partículas con cargas opuestas no son peligrosos pues tenderán a atraerse neutralizándose y formando de nuevo agua. Pero las moléculas radicales neutras sí son peligrosas pues quedarán a la deriva hasta afectar alguna otra molécula.

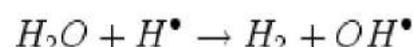
Existe también la posibilidad más directa de formar radicales libres con la sola excitación inducida a partir de la radiación de una molécula de agua. Los fenómenos que se producen al excitarse la molécula de agua, no son bien conocidos, pero teóricamente es posible la disociación de esta en radicales $H\cdot$ y $OH\cdot$. De una manera u otra se forman radicales que no poseen electrones apareados, lo que los hace altamente reactivos, bien como agentes oxidantes o reductores.



Los radicales se distribuyen de forma heterogénea a lo largo de la trayectoria de radiación, dependiendo de la transferencia lineal de energía de radiación. Una buena parte de ellos se pierden en reacciones neutralizadoras combinándose de la siguiente forma.



Pero otros se propagan pudiendo llegar a desencadenar nuevas reacciones como la siguiente ecuación:



La atmósfera en la que ocurre también es de interés puesto que el oxígeno es un potente radiosensibilizante, es decir, aumenta el efecto de la irradiación. El oxígeno, al combinarse con los radicales libres, produce un aumento de la vida media de éstos y la fijación del daño radioinducido.

e) Definiciones y unidades de magnitudes aplicadas a radiaciones ionizantes y dosimetría

Actividad: Número de desintegraciones de una determinada masa de material radiactivo por unidad de tiempo. Según la ley de desintegración radiactiva, es igual al producto del número de átomos del isótopo radiactivo presentes (N) por la constante de desintegración (λ), Ecuación 1.1 y Ecuación 1.2. La unidad según el sistema internacional es el Bequerelio (Bq) que es equivalente a una desintegración por segundo. La unidad más comúnmente empleada para altas actividades es el Curio (Ci) que equivale a $3,7 \times 10^{10}$ Bq.

$$\text{Ecuación 1.1} \quad A = \frac{-dN}{dt} = \lambda N$$

$$\text{Ecuación 1.2} \quad A = A_0 e^{-\lambda t}$$

Siendo N el número de núcleos radiactivos sin desintegrarse, λ la constante radiactiva, característica de cada isótopo, y A_0 la actividad en el instante inicial.

Dosis: es una magnitud que permite medir la energía depositada en un medio por unidad de masa. La unidad en el Sistema Internacional es el J/kg, que recibe el nombre especial de gray (Gy).

Tasa de dosis: la tasa de dosis es la dosis de radiación por unidad de tiempo.

f) Irradiación Industrial

Durante el proceso de irradiación, los productos o materiales son intencionalmente irradiados para preservar, modificar, crear o mejorar características.

El uso comercial de la irradiación gamma para esterilización de productos biomédicos y farmacéuticos se desarrolló en la década de 1950, por lo que la tecnología en procesos de irradiación es muy bien conocida y se cuenta con gran experiencia y confianza en estas áreas. Esta expansión de las aplicaciones industriales de irradiación condujo al desarrollo de grandes plantas permitiendo optimizar los diseños de instalaciones e incorporar nuevas aplicaciones.

Una medida del crecimiento mundial de la tecnología de irradiación la proporciona el incremento en la producción de fuentes industriales de Co-60 durante los últimos 30 años.

Proceso de irradiación

El proceso se lleva a cabo disponiendo el producto a tratar en las vecindades de un conjunto de fuentes radiactivas de Co-60 (rack portafuentes) durante intervalos de tiempo y posiciones prefijadas, haciendo circular el material a tratar en torno al irradiador mediante un sistema de transporte apropiado (irradiación dinámica).

La radiación proveniente del conjunto de fuentes radiactivas interactúa con el producto, suministrando la energía necesaria para alcanzar el efecto buscado. La cantidad de energía absorbida por el producto depende de su densidad y espesor y del tiempo de irradiación.

Cada tipo de producto tratado recibirá una dosis particular de acuerdo con el efecto que se pretenda y su valor exacto se determina mediante investigaciones y ensayos preliminares.

Es muy importante saber que un producto sometido a los efectos de la radiación gamma o rayos X no se transforma en un material radiactivo como suele confundirse, ya que sólo se ven modificados aspectos físicos y/o biológicos cuyos efectos hacen al interés del tratamiento.

Esta tecnología es simple y segura, la irradiación gamma es preferida por su fácil aplicación y alto grado de penetración. Así se asegura un correcto y homogéneo tratamiento, donde el material se puede irradiar en su envase original, no queda activado ni contiene radiación residual.

La utilización de radiaciones ionizantes ha sido de enorme interés, se puede inducir estados de no equilibrio en la materia con lo cual pueden crearse nuevos materiales con nuevas propiedades.

El éxito de la tecnología de radiación para el procesamiento de polímeros sintéticos a nivel industrial se puede atribuir a dos razones: su facilidad de proceso en varias formas y tamaños, y en segundo lugar, el hecho que la mayoría de estos polímeros se someten a reacción de entrecruzamiento tras la exposición a la radiación. Por otro parte, los polímeros de origen natural eran difíciles de procesar y se degradan cuando se expone a alta radiación de energía, sin embargo, en los últimos años los polímeros naturales se están estudiando con renovado interés debido a sus características únicas como biocompatibilidad, biodegradabilidad y disponibilidad. Cabe destacar, que es una tecnología con mínimo impacto ambiental.

El interés comercial mayormente difundido es el tratamiento de radioesterilización que involucra a la industria alimenticia, farmacéutica, médica, agrícola, entre otras.

1.4 Aplicaciones biomédicas más comunes

Las aplicaciones médicas más comunes de los hidrogeles son: su uso en administración de fármacos, apósitos para cubrir heridas e implantes. Este trabajo se focalizará en las dos primeras presentando el interés y el alcance del mismo, indicando la vía de administración y la localización de los mismos.

1.4.1 Aplicación de hidrogeles en la administración de fármacos

A partir de la década de los cincuenta la forma de abordar la administración de drogas ha cambiado desde una aproximación empírica a otra más científica apoyada en los conocimientos de la Química Física.

Los sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos se definen como aquellos sistemas en los que se puede lograr algún control en la liberación del principio activo bien sea de naturaleza espacial, temporal, o de ambas.

El empleo de hidrogeles en sistemas de liberación controlada de fármacos está muy bien documentado en la literatura (Peppas N. 1987; Am Ende M. 1997; Lowman A. 1999, Byrne 2002, Arredondo Penaranda 2009) y se debe a que son materiales muy diversos y versátiles, ya que pueden ser sintetizados a partir de multitud de precursores, y de maneras muy diferentes para ajustar sus propiedades a una aplicación determinada. Por ello que se han empleado tanto en sistemas matriciales como de reservorio.

Por lo general, de manera descriptiva se puede decir que el fármaco en el hidrogel, cuando este se hincha en contacto con un medio acuoso difunde la droga hacia el medio circundante. Algunos hidrogeles obtenidos como sistemas liberadores son: polivinilpirrolidona (Benamer 2006, Rosiak 1995), almidón, polivinilpirrolidona, ácido poliacrílico, carboximetilcelulosa (Barbucci 2004), hidroxipropilmetilcelulosa, polivinil alcohol, ácido poliacrílico, ácido metacrílico (Nho 2005), polihidroxi etil metacrilato (Beyssac 1996, Fernandez de Giorgi 1995).

En estas matrices los principios activos pueden ser liberados del sistema por tres mecanismos: difusión, erosión, e hinchamiento seguido de difusión, que pueden tener lugar juntos o por separado en un determinado sistema de transporte (Peppas 1987; Lin C. 2006).

Casi siempre tiene lugar el proceso de difusión a través de la matriz polimérica sea en mayor o menor grado. Este proceso implica que el fármaco atraviese el polímero que da lugar al sistema de liberación controlada y puede ocurrir de

forma macroscópica por ejemplo, a través de poros creados en la matriz polimérica o a nivel molecular, difundiendo a través de las cadenas poliméricas. En los sistemas controlados fundamentalmente por el proceso de difusión, los polímeros empleados son estables en el medio fisiológico y la matriz no cambia de tamaño, ni por hinchamiento ni por degradación.

Por otro lado, el proceso de erosión de la forma farmacéutica puede ser debido simplemente a la disolución de cadenas poliméricas no entrecruzadas, por lo que la matriz pierde su forma. En este caso, tiene lugar un hinchamiento previamente a la erosión. Sin embargo, los sistemas de control mediante erosión más importantes hacen uso de polímeros biodegradables. Estos materiales se degradan en el cuerpo a causa de mecanismos biológicos naturales, dando lugar a la hidrólisis de las cadenas poliméricas a compuestos pequeños biológicamente aceptables. Estos sistemas han sido empleados para la vía oral, pero mucho más a menudo, en sistemas parenterales debido a que la degradación evita la necesidad de eliminación del sistema de transporte una vez que se ha completado la liberación del principio activo. Hay una variedad de críticas y revisiones de estos mecanismos en la literatura (Lin C 2006; Peppas 2000; Kanjickal 2004).

Varios criterios de diseño son cruciales para la fabricación del hidrogel y el fármaco, los cuales involucran el tipo de transporte de la droga, las propiedades físicas y las propiedades biológicas, por supuesto que las variables de estos diseños son muchas pero las más relevantes son masa molecular de la droga y del hidrogel, características de la red, densidad de entrecruzamiento, entrecruzadores, temperatura, pH, fuerza iónica, entre otras. Incluso si una formulación de hidrogel de liberación está diseñada con las propiedades físicas y de transporte adecuados, todavía puede dejar de cumplir su función terapéutica cuando se coloca in vivo. (Lin C. 2006).

En nuestro caso en particular nos centraremos en la posibilidad de obtener una formulación de un hidrogel obtenido por tecnología de las radiaciones, con características bioadhesivas para su aplicación tópica en mucosa oral y en piel, lo que implicaría un crecimiento de la eficacia terapéutica.

Aplicación tópica en mucosa oral

La mucositis oral es el efecto adverso oral más frecuente del tratamiento antineoplásico. Si bien los tratamientos combinados de radio-quimioterapia concurrente han demostrado mejoría en términos de supervivencia y control local en tumores epiteliales escamosos como los cánceres avanzados de cabeza y cuello (Pignon 2000), la mucositis oral es todavía la toxicidad limitante para ambos tratamientos (Denham 1991). El desarrollo de esta complicación, puede

llevar a reducción de dosis en ciclos subsecuentes o retrasar los tiempos de radioterapia, y de esta manera comprometer severamente la respuesta al tratamiento (Cox J 1992) y afectar la calidad de vida. En el caso de la mucosa oral, los hidrogeles forman parte de materiales bioadhesivos que pueden emplearse como liberadores de droga.

La morfina es el opioide prototipo que produce efecto analgésico por unión con receptores específicos del sistema nervioso central y en terminales nerviosas periféricas de nervios aferentes que aparecen con los procesos inflamatorios locales (Fields 1980).

Se demostró por primera vez que opioides exógenos aplicados localmente son efectivos para controlar el dolor asociado a la mucositis severa (Cerchiatti 2002). La absorción transmucosa y sublingual de drogas es dependiente del pH y liposolubilidad, la morfina es uno de los opioides menos lipofílicos y se ioniza en el bajo pH de la cavidad oral (condicionado por los cambios cualitativos en saliva y flora oral que siguen al tratamiento con radioterapia). Si bien la absorción a través de la mucosa dañada no había sido determinada con anterioridad, se realizó un estudio farmacocinético demostrando que el efecto analgésico de la morfina en la mucositis es exclusivamente por acción tópica, al no detectarse concentraciones sistémicas de la droga (Cerchiatti 2002)

Además, en un segundo estudio se comparó la eficacia de los buches de morfina contra los llamados "buches mágicos", que consisten en una combinación de un anestésico local (lidocaína), mas difenhidramina con un antiácido (Cerchiatti 2007). Si bien no hay evidencia científica que sustente su uso, los "buches mágicos" se han convertido en una medida paliativa muy difundida, avalados, antes que por su eficacia, por la necesidad de los médicos de administrar algún tipo de paliativo ante el dolor del paciente.

En este estudio los buches de morfina demostraron ser superiores a los "buches mágicos" en cuanto al alivio del dolor y menor incidencia de efectos secundarios (como anestesia, mayor pérdida del gusto, empastamiento de la boca, xerostomía, etc).

La acción tópica de la morfina se cree que esta dada por efectos de los agonistas en los receptores opioides que son expresados (por transporte axonal anterogrado) en las terminales nerviosas desnudas por la inflamación.

Si bien la morfina aplicada tópicamente en forma de buches ganó rápida aceptación a nivel hospitalario (Rousseaux 2006), todavía existen problemas para una implementación más extendida.

La morfina permanece poco tiempo en la mucosa cuando es aplicada en forma de buches, por eso algunos grupos intentaron utilizar otros opioides de acción

prolongada (Gallagher 2004; De Haven-Hudkins 2003), pero los resultados no fueron tan buenos como los con morfina (clorhidrato). Un aumento de la concentración de morfina tópica más allá del 0.8% aumenta también la absorción transmucosa y la posibilidad de efectos adversos sistémicos.

Por otro lado, la morfina es una sustancia controlada que no es fácilmente prescrita obligando a muchos médicos a usar estrategias analgésicas subóptimas. Una investigación (Rousseaux 2006) sugiere que la aplicación tópica de *Lactobacillus acidophilus* tiene propiedades analgésicas por medio de la estimulación periférica de receptores de morfina. Los lactobacilos inactivados podrían constituirse en una alternativa válida para lograr analgesia dependiente de opioides en pacientes con mucositis. Por ser probióticos, los lactobacilos no representan riesgo para los pacientes con mucositis.

En función de lo detallado, los hidrogeles ofrecen propiedades favorables para su aplicación en sistemas de liberación tópica de morfina (y eventualmente lactobacilos) generando la posibilidad de aumentar el tiempo de permanencia en la mucosa bucal.

1.4.2 Apósito para cubrir heridas

El uso de hidrogeles en la curación de heridas se remonta a finales de los setenta o principios de los ochenta. Los hidrogeles tienen una combinación de características únicas para este tipo de aplicaciones.

Los hidrogeles pueden actuar como un material de vendaje húmedo en la herida y tienen la capacidad de absorber y retener los exudados de la herida dentro de su estructura de red.

La piel cubre en su totalidad la superficie del cuerpo humano y representa aproximadamente la sexta parte del peso corporal y se continúa con la mucosa que reviste distintos aparatos, como en este caso el digestivo y en particular la boca.

Las funciones de la piel son varias, entre otras cumple con funciones de protección, de percepción sensorial, de termorregulación, metabólica e inmunológica. La mucosa a su vez tiene propiedades de protección, secreción y absorción.

Cuando algunas de estas barreras naturales se rompen, no sólo se alteran varias funciones vitales sino que además ésta ruptura se asocia al dolor. En el caso de la piel, la protección y la termorregulación son especialmente importantes al momento de controlar la evaporación y secreción de líquidos, ya que sin la piel estos no pueden ser retenidos y el individuo se deshidrata agudamente.

El tratamiento muchas veces complejo y accidentado en estas lesiones deja un lugar de necesidades insatisfechas, por lo que la búsqueda de nuevos dispositivos que ayuden a curar las mismas sea una necesidad actual. En este caso en particular se ha focalizado en buscar un elemento o dispositivo que por sus características ayude justamente en éste proceso de curación, disminuyendo las complicaciones y acelerando los tiempos que requieren normalmente estos procesos.

Un dispositivo como éste idealmente debería alcanzar una rápida cicatrización a un costo razonable y mínimos inconvenientes para el paciente. Estos modernos agentes tópicos o “vendajes tópicos” se basan en el concepto de crear un ambiente óptimo que permita el movimiento irrestricto de células epiteliales para garantizar la cicatrización de la herida y que acompañe las distintas fases de curación.

Los hidrogeles cumplen con todas estas características perfectamente, por lo que son el dispositivo o elemento elegido en este trabajo. Más allá de las características físicas de estos hidrogeles, existe la potencial posibilidad de aplicar agentes tópicos que ayuden a controlar signos y síntomas, como el dolor o la sobreinfección bacteriana. La aplicación tópica de estos agentes es especialmente deseable cuando una administración a nivel sistémico podría causar un daño orgánico debido a toxicidad asociada a los posibles fármacos que se puedan aplicar tópicamente.

Una parte de las lesiones de la piel se conocen como heridas cutáneas. Una herida cutánea se describe como una solución de continuidad o un defecto en la piel como resultado de daño físico o térmico, o como resultado de la presencia de una condición médica subyacente.

Existen distintos tipos de heridas, pero nosotros básicamente consideraremos tres condiciones especiales y generalmente en sus fases agudas:

- 1) Quemaduras
- 2) Heridas cortantes (en particular las cirugías plásticas)
- 3) Lesiones en mama durante período de lactancia

El proceso de curación normal y espontáneo es algo conocido, pero involucra aspectos muy complejos (Nuutila 2014) y se produce en estadios que pueden superponerse en los cuales una variedad de componentes celulares y matriciales actúan en conjunto para restablecer la integridad de la lesión tisular y reemplazar el tejido perdido (Russell 2000).

En el manejo de estas lesiones, se ha visto que desde las complicaciones de sobreinfección bacteriana, hasta el manejo de los exudados, todo ello presenta

un reto particular y puede entorpecer la pronta mejoría del paciente. Cualquier elemento que pueda garantizar un ambiente local óptimo para permitir el desarrollo de los procesos de curación/cicatrización, será considerado de enorme valor.

Las quemaduras de la piel, un tipo de lesión causada por diversos factores como son el calor, sustancias químicas o la electricidad, se clasifican en tres grados según la profundidad de la quemadura y se calcula la superficie corporal afectada por la misma. Una de las particularidades más importantes en este tipo de heridas es evitar la deshidratación por pérdida de exudados y la sobreinfección bacteriana de las mismas.

En el caso de la aplicación tópica cutánea, como hemos señalado, las aplicaciones de los hidrogeles como dispositivo para favorecer la cicatrización de heridas es una de los temas más abordados. Los hidrogeles pueden actuar como un material de vendaje húmedo en la herida y tienen la capacidad de absorber y retener los exudados de la herida dentro de su estructura de red, ayudan a mantener un microclima para las reacciones biosintéticas en la superficie de la herida necesaria para las actividades celulares. Pueden ser transparentes, dependiendo de la naturaleza de los polímeros, lo que facilita la supervisión de la herida sin retirar el vendaje y algunos, pueden proporcionar una refrigeración y por lo tanto efectos calmantes.

Es justamente aquí cuando una barrera artificial aplicada tópicamente, que permita la libre circulación del aire y regule la cantidad de líquido en superficie por mecanismos de hinchamiento, pueda marcar un cambio radical en el procesamiento de la lesión. Estos materiales también pueden ser considerados liberadores de drogas, empleando por ejemplo un analgésico. Pero también puede considerarse la aplicación tópica otros potenciales fármacos, tendientes a conseguir propiedades antiinflamatorias y anestésicas.

En las lesiones cortantes, donde hubo solución de continuidad de las tres capas que componen la piel (epidermis, dermis e hipodermis), el proceso de cicatrización se ve optimizado con una protección local que evite sobreinfección bacteriana y en especial, en el caso de cirugías estéticas y reparadoras, ayuda a contener todo el proceso inflamatorio que se produce como resultado mismo de la cirugía.

En el caso de las lesiones mamarias, en general se asocian a soluciones de continuidad en el tegumento que las cubre, en especial en la región del pezón.

Las aplicaciones de hidrogeles en el área de dispositivos empleados como cubierta de heridas son variadas, los ejemplos más comunes empleando la

radiación ionizante son: polímeros de poliuretano, polietilenglicol y polipropilenglicol, (Rosiak 1999), hidrogeles de carboximetil celulosa, hialurónico, alginato y otros (Kim 2005, Rosiak 1995).

Uno de los hidrogeles comercializado como apósito para heridas en Europa producido con el uso de acelerador de electrones está compuesto por PVP, PVA y agar (Benamer 2006, Lugao 2001, Rosiak 1995) llamado Aqua-Gel®, fue reproducido por nuestro grupo y considerado un potencial dispositivo para la liberación de drogas en base acuosa (Cabrera Sotelo 2010, Mondino 1999).

2. OBJETIVOS

Objetivo general

El principal objetivo del trabajo es obtener sistemas poliméricos, tipo hidrogel, biocompatibles con características tales que puedan emplearse como posibles sistemas de administración tópica en mucosa oral y en piel aplicando radiaciones ionizantes.

Objetivos secundarios:

Obtención de hidrogeles instantáneos

- Formar un sistema mucoadhesivo que pueda formar una película protectora que al adherirse a la mucosa de la cavidad bucofaríngea recubra las terminaciones nerviosas expuestas, formando una barrera, ayudando a disminuir el dolor generado por estados irritativos e inflamatorios de la cavidad bucal, con la posibilidad de incorporar un analgésico para su acción tópica. El sistema estará básicamente formado por alginatos que gelifican en corto tiempo en presencia de iones calcio.

- Evaluar las mezclas con mucoadhesivos habituales que se tomarán como referencia para el análisis de muestras de materiales modificados por radiaciones.

- Estudiar la incorporación de monómeros acrílicos como acrilamida y ácido acrílico a la cadena de alginato para mejorar las propiedades mecánicas y aumentar la adhesividad empleando la tecnología de radiaciones.

La irradiación de alginatos se realizará en distintos estados de agregación, con variaciones en los solventes empleados, en la dosis final recibida y la tasa de dosis, en busca de un material modificado por entrecruzamiento.

- Evaluar el fenómeno de degradación de polisacáridos bajo irradiación.

Obtención de hidrogeles fijos

- Estudiar la formación de un nuevo hidrogel con dos solventes, teniendo altas concentraciones de glicerina, en presencia de acrilamida bajo radiaciones ionizantes.

- Evaluar la incorporación de entrecruzadores multifuncionales necesarios para lograr una mayor reticulación en la cadena central de poliacrilamida y con ello aumentar el contenido de glicerina.

Estudiar la capacidad de hinchamiento de este nuevo sistema en agua.

- Analizar su potencial para uso como apósito y sistema liberador de drogas tópico en piel dañada.

3. EXPERIMENTAL

3.1 Descripción del método de irradiación

3.1.1 Irradiación

Las irradiaciones se realizan en la planta de irradiación semi industrial (PISI) ubicada en el Centro Atómico de Ezeiza que pertenece a la **Comisión Nacional de Energía Atómica** (CNEA) y opera desde 1970, con una actividad de diseño aproximada de 1 MCi. En colaboración, se irradia el material en la planta privada IONICS, ubicada en Pacheco, Buenos Aires y opera desde 1989 brindando servicios multipropósitos.

Las irradiaciones a baja tasa de dosis se realizan en un irradiador AECL Gamma Cell 220, del laboratorio de Dosimetría de Altas Dosis, CNEA.

El Cobalto 60 de las fuentes que se emplean se obtiene íntegramente en la Argentina por la CNEA (Dioxitek S.A).

Ambas instalaciones, trabajan bajo protocolos de calidad, autorizados por la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA en inglés), controlados y están licenciadas cumpliendo las medidas de seguridad y protección radiológica por la Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN).

El uso comercial de la irradiación gamma para esterilización de productos biomédicos y farmacéuticos se desarrolló en la década de 1950, por lo que la tecnología en procesos de irradiación es muy bien conocida y se cuenta con gran experiencia y confianza en estas áreas. Esta expansión de las aplicaciones industriales de irradiación condujo al desarrollo de grandes plantas permitiendo optimizar los diseños de instalaciones e incorporar nuevas aplicaciones.

Una medida del crecimiento mundial de la tecnología de irradiación la proporciona el incremento en la producción de fuentes industriales de Co-60 durante los últimos 30 años.

3.1.2 Irradiadores:

Se entiende por irradiador a un arreglo geométrico de fuentes radiactivas. En nuestro caso en particular las fuentes están formadas por Co-60.

El **Cobalto-60 (^{60}Co)** es un isótopo radiactivo sintético del cobalto.

^{60}Co decae por desintegración beta al isótopo estable níquel-60 (^{60}Ni). En el proceso de desintegración, ^{60}Co emite un electrón con una energía de 315 keV y luego el núcleo activado de ^{60}Ni emite dos rayos gamma con energías de 1,17 y 1,33 MeV, respectivamente.

Tiene un período de semidesintegración (T_m) de 5,27 años, lo que indica el tiempo que necesita para disminuir a la mitad su actividad inicial.

A continuación se muestra el esquema de desintegración radiactiva del Co-60 (Figura 3.1).

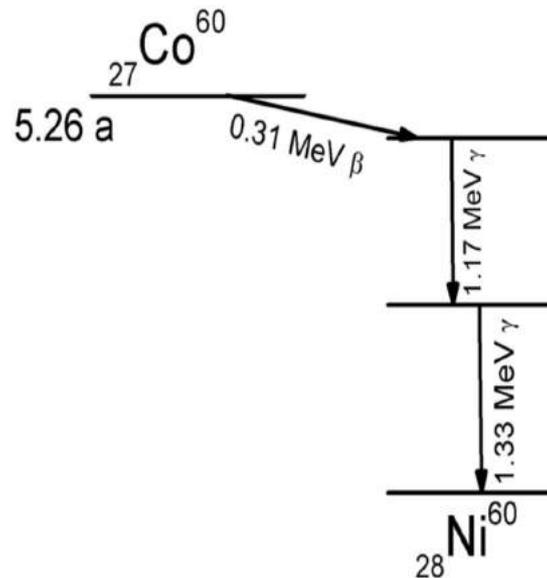


Figura 3.1: Esquema de desintegración radiactiva del Cobalto 60.

La radiación proveniente del conjunto de fuentes radiactivas de Co-60 interactúa con el producto suministrando la energía necesaria para alcanzar el efecto buscado. La cantidad de energía absorbida por el producto depende de su densidad y espesor y del tiempo de irradiación.

Generalmente se utilizan geometrías planas, de tal forma que la intensidad del campo de radiación emitido resulta paralelo al irradiador y panorámico, es decir emite radiaciones en todas las direcciones, de tal forma que el campo de radiación alcance en forma homogénea a todo el producto a tratar. También existen otras configuraciones aptas para diferentes propósitos.

Las fuentes industriales de Co-60 son "lápices" de 450 mm de largo por 11 mm de diámetro aproximadamente, formadas por dos tubos cilíndricos concéntricos de acero inoxidable sellados en sus extremos con tapones soldados. Dado que el material radiactivo se encuentra dentro del cilindro interno, se garantiza una

doble barrera de protección frente a posibles pinchaduras o fugas del cobalto metálico radiactivo.

Los procedimientos y normas de construcción de fuentes radiactivas conducen a un producto rigurosamente controlado y confiable desde el punto de vista mecánico y radiológico.

Los lápices se disponen en forma paralela dentro de un marco metálico de acero inoxidable en grupos de 30 lápices aproximadamente, formando lo que se conoce como portafuentes individuales. Cada portafuentes está formado por una estructura rígida de 500 mm por 500 mm (Figura 3.2).

Estos portafuentes individuales se agrupan de acuerdo al tamaño del irradiador, en un *rack* o estructura metálica para formar el irradiador completo. Su tamaño final debe contemplar no sólo la carga existente, sino espacio suficiente para el agregado de nuevas fuentes a lo largo de la vida útil de la instalación. Las nuevas fuentes se van adicionando a fin de mantener constante el inventario de material radiactivo, conforme a la demanda de la planta y a su decaimiento.



Figura 3.2: Lápices de Co-60 en su portafuentes

Cuando el irradiador no está en funcionamiento, la fuente permanece sumergida en una pileta con agua desmineralizada, que sirve de blindaje para evitar exposición a la radiación (Figura 3.3). Si la planta va a procesar material, la fuente se eleva y queda en posición para operación.

La operación de la planta se lleva a cabo desde un sistema electrónico de control con el que se opera de forma automatizada todo el proceso, en el que están alojados los sistemas de seguridad radiológica.

Hay dos formas generales de irradiación, una es la dinámica, cuando el material circula en carros específicos alrededor de la fuente y sale de la sala de irradiación en forma automatizada, y la estática donde se introduce la muestra en el recinto y se coloca en posiciones previamente establecidas según las necesidades de irradiación por ejemplo la tasa de dosis.

Por cuanto, en forma general podemos decir que toda planta industrial de irradiación con fuentes depositadas bajo agua cuenta con los siguientes elementos:

- Blindaje masivo en la sala de irradiación
- Laberinto de ingreso y egreso
- Pileta de guarda de fuentes

- Sistema de elevación de fuentes
- Sistema de transporte del producto
- Sistema de refrigeración de agua de pileta (según la potencia instalada)
- Sistemas de seguridad, instrumentación y control
- Sistema de ventilación
- Sistema de tratamiento de agua de pileta
- Sistema de agua de emergencia
- Zonificación de áreas.



Figura 3.3: Fuente de Co-60 en una planta industrial

Cada uno de estos sistemas deberá ser diseñado, construido y aprobado priorizando la seguridad radiológica y física tanto del personal de planta como del público y el cuidado del medioambiente. En este sentido, la selección de materiales y componentes sometidos a campos intensos de radiación resulta de vital importancia para garantizar el mejor desempeño de cualquier instalación.

3.1.3 Diseño

Las principales diferencias entre un irradiador pequeño como el AECL Gamma Cell 220 y la PISI es el inventario radiactivo (cantidad de Co-60) y la forma de mover los materiales a irradiar dentro del campo de radiaciones, por lo que el modo de operación debe ser seleccionado para una necesidad específica.

En el caso de una planta de irradiación (Figura.3.4), los principios básicos de diseño deben ser tales que permitan:

- a) Maximizar la utilización de energía
- b) Proveer la mejor uniformidad de dosis

c) Asegurar una operación segura y sencilla.

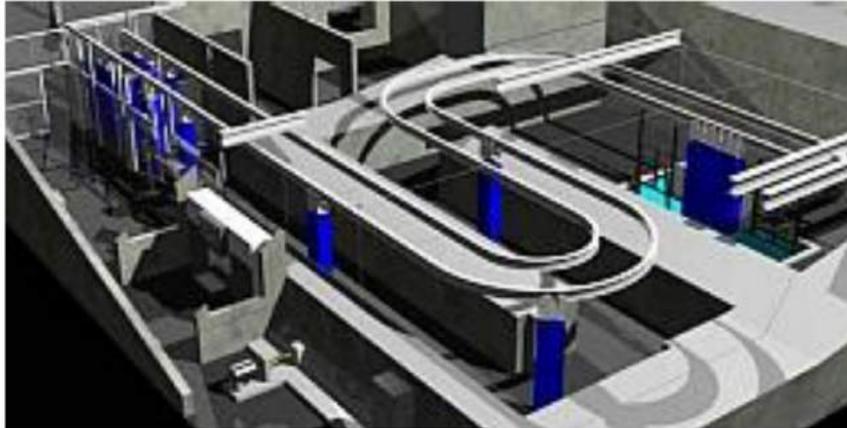


Figura 3.4: Vista de la planta de irradiación semi industrial en el Centro Atómico Ezeiza (imagen cedida por CNEA)

Estas premisas pueden lograrse incorporando elementos que han sido probados y reconocidos desde el comienzo del uso de esta tecnología.

- Disponer el producto en más de una fila de cajas frente al irradiador
- Minimizar los espacios horizontales y verticales entre cajas
- Optimizar la distancia fuente-producto para la relación de dosis requerida.
- Mover las cajas de producto en el sentido horizontal y vertical en ambas caras del irradiador
- Usar lápices de cobalto con doble encapsulado
- Usar agua desmineralizada en la pileta de almacenaje
- Diseñar el blindaje biológico de la sala de irradiación y el laberinto en concreto con densidades estándar.

3.1.4 Modo de irradiación

El proceso de irradiación se inicia desde la solicitud bajo ciertos protocolos de calidad donde se indica el tipo de material, las dimensiones, el propósito, la tasa de dosis, la dosis final aproximada requerida y si se requiere rotar el producto a mitad de proceso.

Las muestras del trabajo se llevan a cabo mediante irradiación de tipo estático (la muestra no se mueve) en un soporte dentro del recinto, a una altura y distancia determinada, según el esquema de distribución de tasa de dosis estimada (Mangussi 2006). Se les coloca un dosímetro adecuado por parte del personal idóneo de dosimetría de altas dosis. Cuando finaliza el proceso es obligatorio la indicación en el envase que el producto fue tratado con radiación ionizante y se retira de la planta. En las siguientes Figuras 3.5, 3.6 y 3.7 se observa material preparado para su tratamiento con radiaciones ionizantes y acompañado de sus dosímetros.



Figura 3.5: Muestras preparadas para su irradiación



Figura 3.6: Muestras en posición para su irradiación



Figura 3.7: Muestras en la mesa dentro del recinto de la planta de irradiación

3.1.5 Dosimetría. Laboratorio de Altas Dosis

El laboratorio funciona en colaboración con la Planta de irradiación y en forma rutinaria facilita los dosímetros adecuados. Los informes suministrados indican dosis máxima, dosis mínima, y la posición en la cual se irradió, el tiempo de exposición y la tasa de dosis.

En este trabajo se emplean dosímetros líquidos en ampollas con soluciones de dicromato de plata o potasio (Figura 3.8). Los cuales sufren la reducción del Cr(IV) por lo que se cuantifica por UV-vis, frente a una curva de calibración con estándares(1-30 kGy).

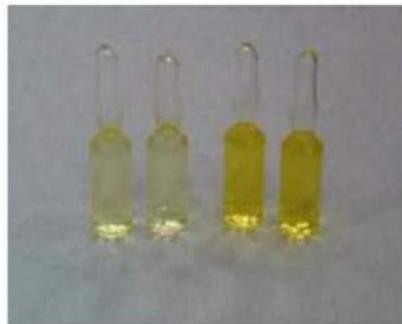


Figura 3.8: Ampollas empleadas en la dosimetría

En forma general se puede decir que:

Para las dosis de 2 kGy y de 5 kGy: Dicromato rango bajas dosis (1 kGy - 10kGy)
- Solución de $\text{Ag}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en medio de ácido HClO_4 .

Para las dosis de 10 kGy, de 25 kGy y de 50 kGy: Dicromato rango altas dosis
(5 kGy - 50 kGy) - Solución de $\text{Ag}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en medio de ácido HClO_4 .

3.2 Materiales empleados

3.2.1 Monómeros

a) Acrilamida

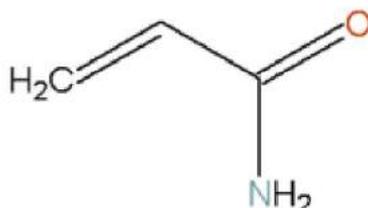


Figura 3.9: Fórmula química de acrilamida

Este monómero es también conocido como vinil amida o 2-propanamida, se presenta en forma de cristales blancos. Su masa molecular es 71,1 g/mol. Es soluble en agua (204 g/100 ml a 25 °C), etanol, metanol, acetona, glicerol e insoluble en heptano y benceno.

Usos y toxicidad: Los efectos tóxicos por una única dosis oral solo se dan con dosis superiores a 100 mg/kg, y la dosis letal 50 (DL50) se encuentra, por norma general, por encima de los 150 mg/kg.

Varios estudios en distintas especies animales, demuestran que el principal órgano diana es el sistema nervioso. En humanos, los estudios epidemiológicos sugieren que el sistema nervioso es asimismo el lugar de acción de la acrilamida. Se estima que hay una exposición media a través de la dieta de entre 0,2 y 1,0 µg/kg/día en la población adulta. En grandes consumidores se supone que puede ser de 1,0 µg/kg/día a 4 µg/kg/día.

La Organización Mundial de la Salud considera que la acrilamida pertenece al grupo de los productos químicos que no poseen un umbral identificable a partir del cual presenten efectos.

Se polimeriza fácilmente, y la poliacrilamida tiene muchas aplicaciones en la industria química, por ejemplo como floculante para clarificar el agua de bebida, en polimerización "in situ", como aglutinante en la industria del papel, en cosmética, extracción de metales, industria textil, obtención de colorantes, etc.

b) Acido Acrílico

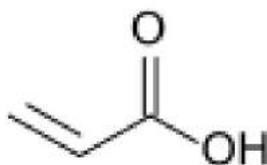


Figura 3.10: Fórmula química del ácido acrílico

Es el ácido carboxílico insaturado más simple, con un enlace doble y un grupo carboxilo unido a su C3. En su estado puro, se trata de un líquido corrosivo, incoloro y de olor penetrante. Su masa molecular es 72,06 g/mol. Tiene una densidad (20 °C) de 1,05 g/ml. Es higroscópico, soluble en agua, alcoholes, éteres y cloroformo. Presenta una acentuada tendencia a la creación de polímeros. La luz promueve la polimerización.

Usos y toxicidad: Los efectos tóxicos por una única dosis oral solo se dan con dosis superiores a 1000 mg/kg, y la dosis letal 50 (DL50) se encuentra en 1500 mg/kg.

Para modificar sus propiedades físicas y químicas, pueden combinarse con otros componentes (copolimerización). Así, el ácido acrílico es el material de partida para fabricar plásticos, barnices, resinas elásticas y adhesivos transparentes

3.2.2 Entrecruzadores

Una de las principales técnicas para la síntesis de hidrogeles es el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas lineales mediante el empleo de pequeñas cantidades de agente entrecruzante. Para ello se emplean monómeros multifuncionales que pueden ser incorporados a las cadenas poliméricas por ambos extremos. Para llevar a cabo el entrecruzamiento de las redes sintetizadas en nuestro trabajo, se ensayan varios agentes que por lo general, le dan estructura a la red (como los monómeros de grupos acrílicos) y vinculados a la glicerina y a la acrilamida.

a) Trimetacrilato de trimetilol propano (trimethylol propanetrimethacrylate)

Este tipo de entrecruzador lo llamaremos a lo largo del texto "T".

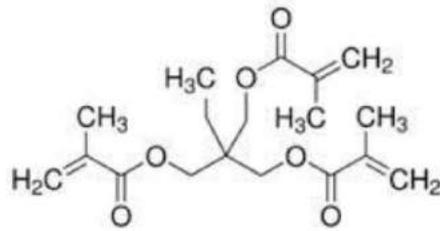


Figura 3.11: Fórmula del trimetacrilato de trimetilolpropano (T)

Tiene una masa molecular de 338,4 g/mol, es líquido (20 °C) , levemente amarillento, con densidad de 1,066 g/cm³. Soluble en agua 20,1 mg/l a 20 °C. Es un tri- funcional monómero de metacrilato con de alta densidad reticular y alta dureza, buena resistencia al calor y a los disolventes. Biodegradable. Es ampliamente utilizado para reticulación de polímeros, en sistemas plastificantes y de elastómeros. Otras aplicaciones incluyen su uso como aditivo en emulsiones a base de agua, adhesivos y recubrimientos curados con UV.

b) Glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato (glycerol 1,3 diglycerolate diacrylate).

Lo llamaremos a lo largo del texto “D”.

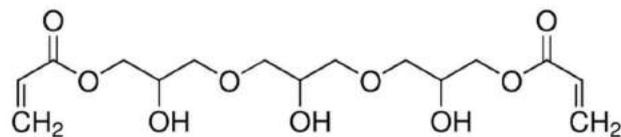


Figura 3.12: Fórmula de diacrilato de glicerol 1,3 diglicerolato (D)

También es conocido como triglicerol triacrilato, tiene una masa molecular de 348,4 g/mol, es un líquido incoloro, con densidad 1,24 g/cm³ a 25 °C. Utilizado para reacciones de reticulación de polímeros.

c) Dimetacrilato de dietilen glicol (diethylene glycol dimethacrylate)

Lo llamaremos a lo largo del texto "G".

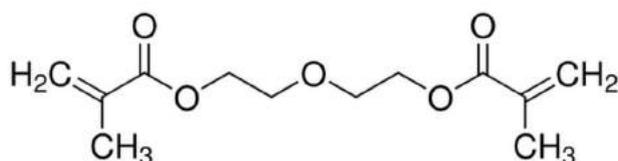


Figura 3.13: Fórmula de dimetacrilato de dietilenglicol (G)

Tiene una densidad de 1,08 g/cm³ a 25 °C. Tiene una masa molecular de 242,27 g/mol. Es un líquido claro a levemente amarillento, insoluble en agua. Ésteres del ácido acrílico y ácido metacrílico, más comúnmente conocido como acrilatos y metacrilatos son materias primas clave en los recubrimientos y la industria de impresión, y en el envasado de alimentos. Es un monómero de alto punto de ebullición con baja presión de vapor que se utiliza en la polimerización de radicales libres.

d) Dimetacrilato de glicerol (glycerol dimethacrylate)

Lo llamaremos como "M" durante todo el trabajo.

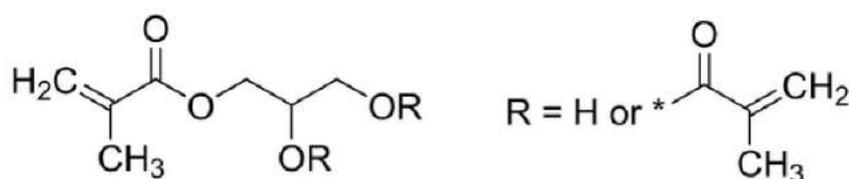


Figura 3.14: Fórmula de dimetacrilato de glicerol (M)

Tiene una densidad de 1,12 g/cm³ a 25 °C. Tiene una masa molecular de 228,24 g/mol. Es un líquido incoloro insoluble en agua. Se usa frecuentemente en formulaciones de adhesivos y sellantes.

3.2.3 Polisacáridos

a) Alginatos

Los alginatos son los biopolímeros marinos más abundantes y, luego de la celulosa, el biopolímero más abundante en el mundo. La principal fuente de los alginatos se encuentra en las paredes celulares y en los espacios intracelulares de las algas pardas. Las moléculas de alginato proveen a la planta de flexibilidad y elasticidad, las cuales son propiedades necesarias para el crecimiento de las mismas en el mar.

Los primeros estudios sobre la extracción de alginatos a partir de las algas pardas datan del siglo XIX mediante los estudios del químico británico E.C.Stanford, quien encontró que la sustancia que denominó alginato poseía varias propiedades interesantes como espesante, formador de geles y de películas, a partir de estos estudios él propuso varias aplicaciones industriales aunque la producción a gran escala fue desarrollada mucho después. Krefting en 1896 obtuvo ácido algínico puro, e investigadores posteriores determinaron muchas de las propiedades de las sales de este ácido. Sin embargo, la producción comercial de alginatos no comenzó hasta el año 1929 y tuvo un notable incremento después de la segunda guerra mundial con la instalación de empresas extractoras en todo el mundo, la continuación de la investigación y su ampliación dió lugar a una gran cantidad de datos sobre la estructura del ácido algínico, las propiedades de sus soluciones y las reacciones químicas de los alginatos (Smidsrod 1996).

Producción en el País

Dentro del extenso litoral marítimo de nuestro país existen en las costas patagónicas (fundamentalmente Chubut y Santa Cruz) enormes praderas de *Macrocystis pyrifera* alga gigante del orden *Laminariales* que ha demostrado ser una importante productora de alginatos, se han realizado relevamientos de la ubicación y magnitud de las mismas los que junto a múltiples observaciones anteriores muestran la enorme disponibilidad de este recurso, pese a lo cual aun no existe explotación industrial del mismo, la obtención del material puede realizarse mediante la cosecha de los ejemplares dejados en la costa por la marea en importante cantidad o por cortes controlados en las praderas utilizando embarcaciones acondicionadas para ese fin.

Estructura química y propiedades

Químicamente los alginatos son polímeros cuyas unidades monoméricas son los ácidos urónicos (azúcares donde el grupo CH₂OH del C6 ha sido reemplazado

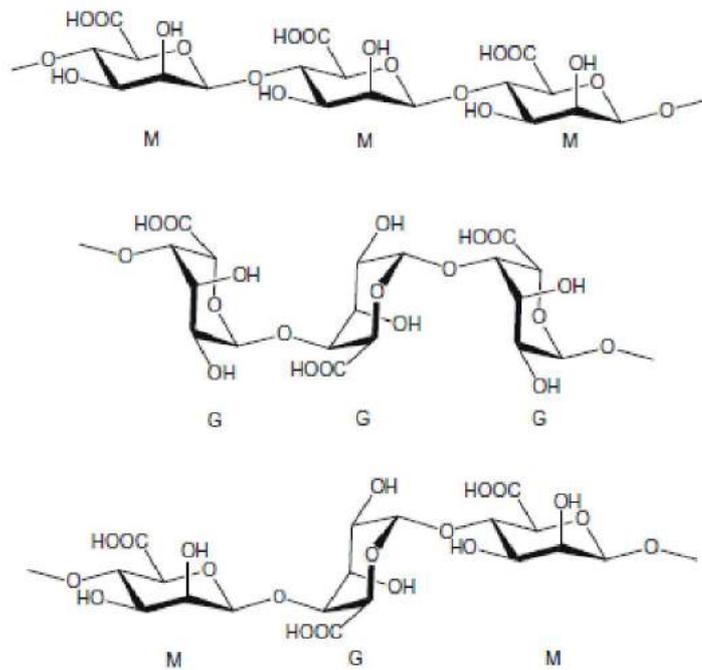


Figura 3.16: Bloques de homopolímeros tanto (M) como (G) y también heteropolímeros secuenciales alternados (M-G),

Tabla 3.1: Relación M/G y su porcentaje en varias especies de algas pardas.

Tipo de alga	M/G	%M	%G	%M/M	%G/G
Laminaria hyperborea (tallo)	0.45	30	70	18	58
Laminaria hyperborea (hoja)	1.22	55	45	36	26
Laminaria digitata	1.22	55	45	39	29
Macrocystis pyrifera	1.50	60	40	40	20
Lessonia nigrescens	1.50	60	40	43	23
Ascophyllum nodosum	1.86	65	35	56	26
Laminaria japonica	1.86	65	35	48	18
Durvilea antarctica	2.45	71	29	58	16
Durvilea potarum	3.33	77	23	69	13

Los ácidos algínicos tienen un grado de polimerización variable entre 100 a 3.000 unidades, la relación porcentual entre estos ácidos es uno de los valores que caracteriza a un alginato, oscilando entre 0,4 a 2,4.

Viscosidad y gelificación:

La conformación estructural es una de las características más importantes de los alginatos y del ácido algínico ya que reacciona con cationes polivalentes (Fang 2007, Funami 2009).

Los ácidos carboxílicos libres (sin el contra ión) tienen una molécula de agua H_3O^+ fuertemente unida dando carboxilatos ($\text{pK}_a \text{ M } 3.38$, $\text{pK}_a \text{ G } 3.65$).

Los iones Ca^{2+} pueden reemplazar estos hidrógenos en el ácido gulurónico (G), pero no en el manurónico, y las cadenas estequiométricamente pueden dar una formación llamada caja de huevos (egg-box en inglés) que se observa esquemáticamente en las Figuras 3.17 y 3.18 (Smidsrod 1973).

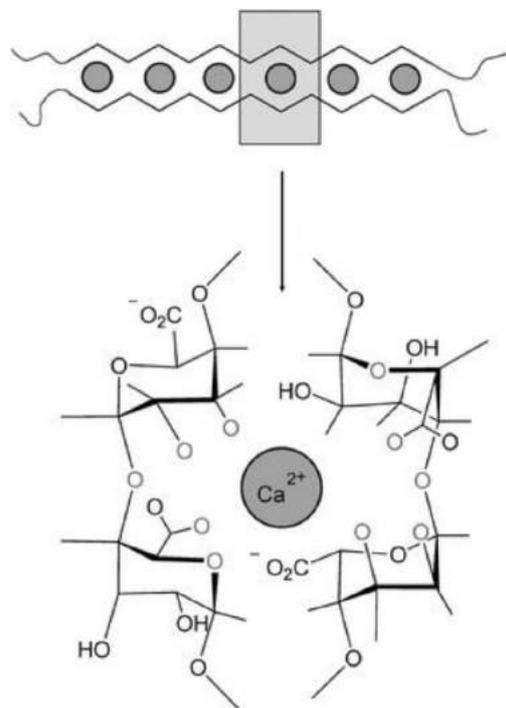


Figura 3.17: Conformación típica de los ácidos gulurónicos al combinarse con cationes polivalentes llamada "egg-box"

Dentro del polímero existen las tres clases de bloques (MM, GG y MG) teniendo estos últimos alternancia uniforme. Todas las uniones son 1-4 siendo las del ácido manurónico de configuración β y las del gulurónico de configuración α (Smidsrod 1996).

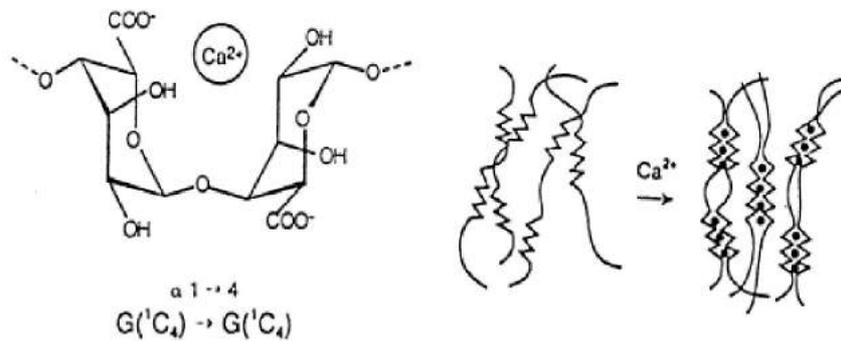


Figura 3.18: Combinación de iones calcio con el ácido gulurónico

La vinculación con iones polivalentes permite la unión de dos cadenas de polímero con lo que se consigue aumentar la masa molecular y el volumen de las moléculas, aumentando por consiguiente la viscosidad. Asimismo, la reactividad con el calcio por ejemplo, es una función directa de la longitud promedio de los bloques (G), y entonces, los alginatos que poseen grandes fracciones (G-G) presentan una fuerte capacidad gelificante. Por cuanto, las principales propiedades de los alginatos son la viscosidad y la capacidad gelificante (Smidsrod 1973).

La viscosidad de las soluciones de alginatos depende de la longitud de las moléculas cuanto mayor sea la longitud de las cadenas más alta será la viscosidad para una misma concentración, al disolverse en agua las moléculas se hidratan y aumenta su viscosidad. Las moléculas disueltas no son completamente flexibles, la rotación a lo largo de los enlaces glucosídicos en los bloques G, se ve impedida dando lugar a un endurecimiento de la cadena. Estas soluciones son altamente viscosas.

Los alginatos poseen distintas proporciones de monómeros gulurónicos y manurónicos distribuidos de diferentes formas, la principal propiedad que depende de esta distribución es la capacidad de formar geles rápidamente con cationes polivalentes ($Mg^{2+} \ll Ca^{2+} < Sr^{2+} < Ba^{2+}$).

Así, estas uniones intermoleculares dan lugar a la gelificación de la solución, un gel de alginato no puede definirse como un sólido o una solución de forma categórica presentando un estado intermedio donde los puntos de unión intermolecular representan el estado sólido. Después de la gelificación las moléculas de agua están atrapadas en la matriz del alginato, pero todavía tienen la posibilidad de migrar, esto es de gran importancia en muchas aplicaciones (Davidovich-Pinhas 2010).

Los alginatos forman geles térmicamente estables y de alta resistencia mecánica (dependiente de la composición, los de mayor resistencia son aquellos donde el porcentaje de G es cercano al 70%) comparados con otros formadores de geles de esta categoría. Su resistencia es generalmente independiente de la longitud de la cadena, en la medida que la cadena supere una cierta longitud crítica (el grado de polimerización debería exceder 200 para lograr una resistencia óptima del gel). Desde un punto de vista químico la formación de un gel cálcico es un intercambio iónico. El sodio (u otro catión de alginato soluble en agua) es intercambiado por el calcio. Es posible formar un gel de alginato sin involucrar el calcio o el entrecruzamiento por otro catión. Haciendo una solución ácida de alginato se formará un gel de alginato, esto ocurre cuando el polianión del alginato pierde su carga a bajos pH a medida que los grupos carboxílicos de los ácidos urónicos aceptan protones, dando lugar a que las cadenas de alginatos se aproximen más lo que favorece la formación de enlaces de estructuras G, nuevamente aquí son las estructuras G, las que contribuyen a la resistencia del gel desarrollando enlaces que “endurecen” las estructuras G alineándolas y fijándolas unas a otras mediante enlaces hidrógeno.

Los alginatos son biopolímeros naturales y biodegradables (Sjak-Braek 1996).

Sin embargo, los obtenidos en gran escala pueden presentar agentes pirógenos, polifenoles, proteínas y carbohidratos complejos, lo que obliga a utilizar en ciertas aplicaciones alginatos de alta calidad y pureza.

El alginato de sodio se encuentra en la lista de materiales GRAS (Affirmed Generally Recognized as Safe) de la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos (21CFR184.1724).

Esto permite que los alginatos de sodio (pero no otras sales como las de magnesio) puedan utilizarse como agentes espesantes o gelificantes. Sin embargo, no aclara en cuanto a su aplicación farmacéutica y/o biomédica.

b) Carragenanos

Son polisacáridos de elevado peso molecular 300.000-400.000 que se forman de manera natural extraídos de algas rojas. Se componen de copolímeros alternantes de β -D-galactosa y 3,6-anhidro- α -D-galactosa unidos por enlaces 1-3 y 1-4, respectivamente. Estas unidades se asocian alternando enlaces glucosídicos α -1,4 y β -1,4. En función del alga de la que se extraigan y de la técnica utilizada en la preparación, se conocen una docena de tipos, pero los más importantes son tres: kappa (κ)-carragenano, lambda (λ)-carragenano e iota (i)-carragenano. Tanto el κ -carragenano como el i -carragenano son capaces

de formar geles, y debido a la naturaleza iónica de estos polímeros, su gelificación está significativamente influenciada por la presencia de electrolitos (Abad 2010).

A temperaturas elevadas, las cadenas se encuentran desenrolladas y dispuestas al azar. Al bajar la temperatura, las cadenas de polisacárido se asocian por puentes de hidrógeno formando hélices dobles, quedando hacia el exterior los grupos sulfato y los puentes de la anhidrogalactosa. Estas interacciones no suelen ser suficientes para formar un gel, ya que las cargas de los grupos sulfato hace que las hélices se repelan.

Dependiendo de la presencia de iones que neutralicen los sulfatos, y del tipo de carragenano, las hélices pueden agruparse entre ellas una vez formadas, produciéndose entonces primero la formación del gel, en el que las zonas desorganizadas son las que retienen la mayoría del agua.

Son utilizados en diversas aplicaciones en la industria alimentaria como espesante, gelificante, agente de suspensión y estabilizante, tanto en sistemas acuosos como en sistemas lácticos.

Su uso en la industria alimentaria está muy extendido, actualmente están en estudio otras capacidades como por ejemplo su actividad antiviral.

3.2.4 Reactivos generales

a) Glicerol

El glicerol es el otro componente mayoritario seleccionado. El propanotriol, glicerol o glicerina ($C_3H_8O_3$) es un alcohol con tres grupos hidroxilos ($-OH$). Su estructura se observa en la Figura 3.19. Se presenta en forma de líquido a una temperatura ambiental de $25\text{ }^{\circ}C$ y es higroscópico e inodoro. Tiene una masa molecular de 92 g/mol y una densidad de $1,26\text{ g/cm}^3$.

Posee un coeficiente de viscosidad alto y tiene un sabor dulce como otros polialcoholes.

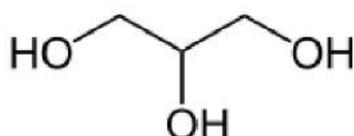


Figura 3.19: Fórmula química del glicerol

Sus aplicaciones tradicionales abarcan el mercado de farmacéuticos, cosméticos y pastas dentífricas, alimentos, cigarrillos, manufactura de uretanos y en menor proporción la producción de lacas, barnices, tintas, adhesivos, plásticos sintéticos, celulosa regenerada, explosivos, etc.

El glicerol es reconocido como seguro para el consumo humano desde 1959. Puede ser utilizado en diversos productos alimenticios para diferentes propósitos. Los niveles de la DL50 en ratas son de 12,60 mg por kg, en conejillos de Indias de 18,70 mg por kg.

Es recientemente conocida la generación de poliglicerol a partir de glicerina pura en las plantas de biodiesel (donde es el principal subproducto) e incluso a escala de laboratorio con la simple aplicación de radiación por microondas (Pagliaro 2008)

b) Polivinil pirrolidona

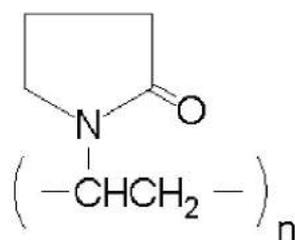


Figura 3.20: Fórmula química PVP

La polivinilpirrolidona (PVP), también llamado comúnmente polividona o povidona, es un polímero soluble en agua que se obtiene a partir del monómero N-vinilpirrolidona. Su masa molecular es 111,14 g/mol.

El PVP fue sintetizado por primera vez por el Prof. Walter Reppe y se presentó una patente en 1939 para uno de los derivados más interesantes de la química del acetileno. El PVP fue inicialmente utilizado como un expansor del plasma sanguíneo y más tarde en una amplia variedad de aplicaciones en medicina, farmacia, cosmética y producción industrial.

El PVP es soluble en agua y otros solventes polares. Una vez seco es un polvo escamoso claro, que absorbe fácilmente hasta un 40% de su peso en agua de la atmósfera. En solución, que tiene excelentes propiedades humectantes y forma fácilmente películas. Esto hace que sea bueno como un revestimiento o un aditivo para pinturas. El PVP constituye un polímero ramificado.

Su densidad es $1,2 \text{ g/cm}^3$ y su punto de fusión es $150\text{-}180^\circ\text{C}$.

El monómero vinilpirrolidona es carcinógeno y es extremadamente tóxico para la vida acuática; pero su polímero (el PVP) en estado puro es completamente inocuo.

Tiene múltiples aplicaciones, la más relevante vinculada con el tema del trabajo es que puede formar hidrogeles junto con PVA (polivinil alcohol) con el uso de radiaciones ionizantes, actualmente en el mercado europeo y los mismos fueron reproducidos por nuestro equipo en el país (Cabrera Sotelo 2010).

c) Polivinil alcohol

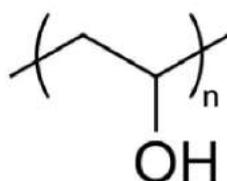


Figura 3.21: Fórmula química PVA

El alcohol de polivinilo (PVOH o PVA), también llamado polietenol o poli (alcohol vinílico), es un polímero sintético soluble en agua, de fórmula química general $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$, polvo blanco, inodoro y no tóxico.

Tiene un punto de fusión de 230°C y $180\text{-}190^\circ\text{C}$ para los grados totalmente hidrolizado y parcialmente hidrolizado respectivamente. Se descompone rápidamente por encima de 200°C . El poli (alcohol de vinilo) no funde como un termoplástico, sino que se descompone por pérdida de agua de dos grupos hidroxilos adyacentes a temperaturas superiores a 150°C . Los enlaces dobles permanecen en la cadena y, a medida que se forman más en posiciones conjugadas, tiene lugar una coloración importante.

Aunque el poli (alcohol de vinilo) es amorfo cuando no está estirado, puede estirarse dando una fibra cristalina por ser los grupos hidroxilo lo bastante pequeños para encajar en un retículo cristalino a pesar de la estructura de cadena atáctica.

Tiene una densidad de $1.19\text{-}1.31 \text{ g/cm}^3$ (25°C). Es soluble en agua. Se disuelve lentamente en agua fría, pero lo hace más rápidamente a temperaturas elevadas, y puede normalmente disolverse a más de 90°C . Las disoluciones acuosas no son particularmente estables, especialmente si hay presentes trazas de ácido o base. Las disoluciones pueden sufrir una compleja serie de reacciones de gelación reversibles e irreversibles.

El alcohol polivinílico tiene excelentes propiedades para formar películas, como emulsionante y como adhesivo. Tiene alta resistencia y flexibilidad. El PVA es totalmente degradable y se disuelve rápidamente.

d) Polietilenglicol

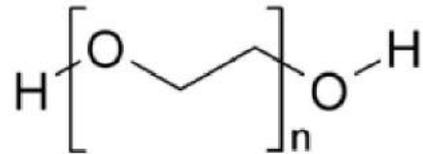


Figura 3.22: Fórmula química PEG

El PEG es también conocido como óxido de polietileno (PEO) o de polioxietileno (POE), considerando su estructura química. La fórmula química general para el polietilenglicol es $\text{H}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$.

Es un líquido higroscópico, ligeramente viscoso e incoloro. Tiene una densidad de $1,13 \text{ g/cm}^3$, y una masa molecular 200-600 g/mol. Su punto de ebullición a $250 \text{ }^\circ\text{C}$.

El PEG es soluble en agua, metanol, benceno, y diclorometano, y es insoluble en éter dietílico y hexano. Se acopla a moléculas hidrófobas para producir tensoactivos no iónicos.

El PEG es biodegradable, biocompatible y no tóxico. Se utilizan comercialmente en numerosas aplicaciones, tales como agentes tensoactivos, en los alimentos, en cosmética, en farmacia, en la biomedicina, como agentes dispersantes, como disolventes, en ungüentos, en bases de supositorios, como excipientes en tabletas y como laxantes.

e) Carboximetil celulosa

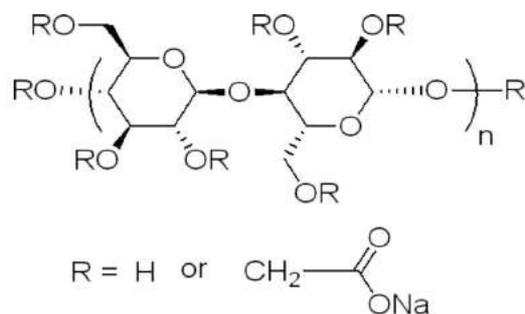


Figura 3.23: Fórmula química CMC

La carboximetilcelulosa o CMC es un compuesto orgánico, derivado de la celulosa, compuesto por grupos carboximetil, enlazados a algunos grupos hidroxilos presente en polímeros de la glucopiranososa. Es usado a menudo como carboximetil celulosa de sodio.

Es un sólido blanco, con una densidad de 0,7-0,9 g/cm³ (25 °C), soluble en agua 20mg/ml.

Es similar a la celulosa, pero a diferencia de ella, es soluble en agua; se disuelve en azúcares (sacarosa, fructuosa).

No es tóxico y sus principales usos son como agente espesante y/o estabilizante, también como producto de relleno, fibra dietética y emulsificante.

Una de las aplicaciones más novedosas corresponde al área de la medicina donde soluciones de CMC forman geles y son utilizadas en cirugías del corazón, torácicas y de córnea.

f) Hidroxietil celulosa

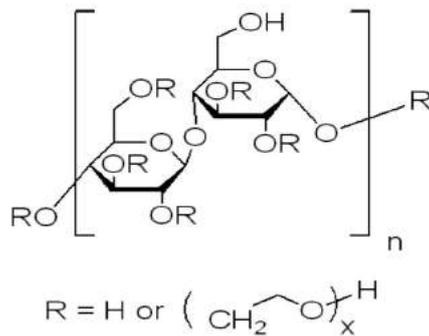


Figura 3.24: Fórmula química HEC

Es un polímero de celulosa y etileno, que forma un gel viscoso soluble en agua y en etanol, se puede usar en sustitución del CMC, cumpliendo una función similar a éste.

Se presenta como polvo o gránulos blancos. Soluble en agua caliente y en agua fría, dando una disolución coloidal, prácticamente insoluble en acetona, en etanol y en tolueno.

Forma geles muy transparentes y con una buena consistencia semisólida.

Dichos geles presentan una ligera adhesividad.

No es tóxico y se utiliza también como agente para aumentar la viscosidad y además, como recubrimiento de pastillas y agente endurecedor y suspensor.

Está presente en preparaciones lubricantes para ojos resecos, para el cuidado de lentes de contacto y para la sequedad bucal.

3.2.5 Mediciones reológicas

Las técnicas reológicas que estudian la deformación de los materiales pueden ser útiles en la predicción de la capacidad mucoadhesivo de una formulación polimérica. Un enfoque reológico simple para soluciones de polímeros y geles se sugirió por primera vez por Hassan y Gallo (Hassan 1990).

Estas pruebas son importantes para discriminar un gran número de materiales y seleccionar la formulación más adecuada. Numerosos métodos se han desarrollado para el estudio de mucoadhesión (Bouckaert 1993, Gurny 1984, Smart 1984, Donnelly 2006), sin embargo ningún aparato estándar está disponible para la pruebas de fuerzas en un sistema bioadhesivo tipo película formado instantáneamente y hay una falta de uniformidad entre los métodos aplicados en la literatura.

Sin embargo, la técnica más comúnmente empleada para la determinación de bioadhesividad es la de aplicación de una fuerza perpendicular a la superficie del adhesivo/tejido dentro de un sistema de medición de tracción y ruptura de tal

manera que la tracción y el corte tengan iguales presiones en todo el área de contacto. (Park 1990, Shaikh 2011).

En nuestro aparato diseñado y fabricado para tal fin, en experimentos de tracción y de corte, la tensión se distribuye uniformemente sobre la junta adhesiva.

Debido a la gran cantidad de variaciones en los resultados de la literatura, Hagerstrom (Hagerstrom 2003) entre otros investigadores recomiendan que el método reológico no deba utilizarse como un método independiente para el estudio de las propiedades mucoadhesivas de los geles de un polímero, y que su aplicación sea recomendada en la selección de formulaciones iniciales y sus datos comparativos.

Medición de fuerza de adhesión y resistencia al corte

En función de las características de los materiales estudiados, la instrumentación disponible no se ajusta a dichas muestras que tienen la particularidad de ser films delgados y formados instantáneamente.

Es necesario implementar un nuevo sistema (Figura 3.25), que permita obtener un parámetro relativo para comparar la fuerza de adhesión de las distintas mezclas realizadas.

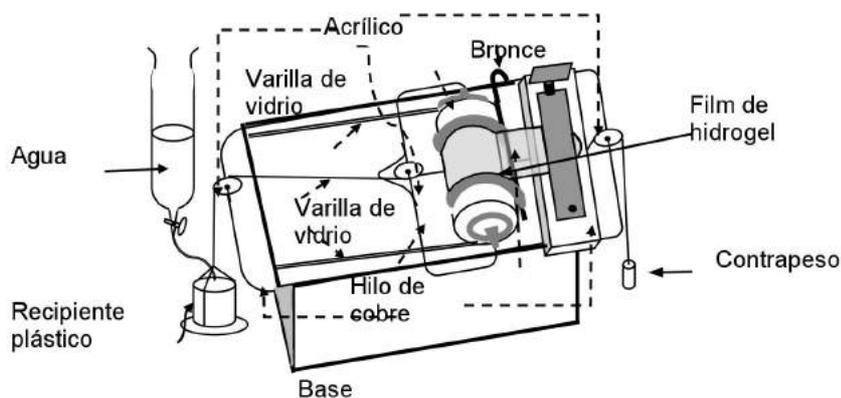


Figura 3.25: Equipo diseñado para la medición del esfuerzo relativo a que son sometidos los hidrogeles.

Las muestras se colocan sobre un soporte cilíndrico conformando un film de espesor medio de $0,6 \pm 0,1$ mm adherido a la superficie. Luego, el soporte se coloca en el equipo para aplicarle un esfuerzo, que se mide en masa de agua necesaria para desprender el film sin ruptura.

Por otro lado, para obtener la fuerza de corte, el soporte cilíndrico de acrílico se mantiene fijo y se procede al esfuerzo con el agregado de agua paulatinamente hasta su ruptura y desprendimiento.

Se realizan las mediciones de cada serie por triplicado junto con el blanco de reactivos.

Para la obtención de las fuerzas de adhesión y corte, se utilizan las siguientes ecuaciones:

Ecuación 3.1 $Fa = m_{H2O} * F * k$

Ecuación 3.2 $Fs = \frac{m_{H2O}}{S} * F * k$

Donde:

Fa: Fuerza de adhesión (N)

m_{H2O} : masa de agua utilizada (Kg)

F: factor angular del equipo (0.70)

k: constante de conversión (9.81)

Fs: Fuerza de corte (Pa)

S: superficie (m^2) 2.51×10^{-3}

3.2.6 Medición de viscosidad

En nuestro trabajo empleamos los viscosímetros de capilares de vidrio.

La fuerza impulsora es normalmente la presión hidrostática del líquido del que se va a medir la viscosidad, aunque en algunos casos (en fluidos muy viscosos o cuando se pretenden usar en fluidos no newtonianos) se suele aplicar una presión externa.

El diseño básico de este tipo de viscosímetros es el correspondiente al viscosímetro tipo Cannon Fenske (modificado a partir del viscosímetro de Ostwald) (figura 3.26). En este viscosímetro el líquido es succionado hasta que llega a la marca superior del depósito que se encuentra a mayor altura, a continuación se deja fluir hasta que pasa por la marca inferior y se mide el tiempo que ha transcurrido. Sabiendo las constantes del viscosímetro se puede encontrar la viscosidad, puesto que es directamente proporcional al tiempo. Cuando no se conoce las contantes se calibra con fluidos de viscosidad conocida. Hay varios tipos en función del diámetro del capilar empleado.

En nuestro caso se utilizan Viscosímetros Canon Fenske serie 75, 350 y 450. En un baño térmico con paredes de vidrio a una temperatura de $20,0 \pm 0,5$ °C.

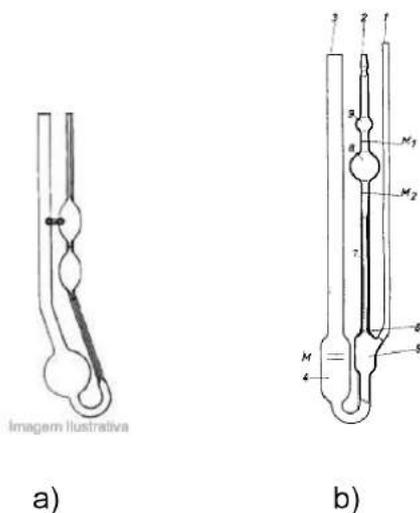


Figura 3.26: Viscosímetros A) Cannon Fenske B) Ubbelohde

Se determina la viscosidad de las soluciones con mediciones por triplicado.

a) Determinación de la masa molecular

Uno de los métodos empleados para la evaluación de la masa molecular de ciertas sustancias es a través de la medición de la viscosidad. Como los polisacáridos irradiados tienden a degradarse y formar oligosacáridos de diversas masas moleculares en función de la dosis total recibida, se establecieron protocolos internacionales para armonizar los métodos dentro de un programa en los que participó nuestro grupo. Este trabajo se realiza con material (quitosano, Heppe Medical Chitosan, Alemania) enviado desde la Universidad de Lodz (prof. Dr. Rosiak) y distribuidos a los laboratorios participantes.

Luego, el material se irradia según protocolo a diferentes dosis finales y se establece la metodología para el cálculo de la viscosidad y con ello la masa molecular. Este valor es de sumo interés puesto que los oligosacáridos formados con distintas masas moleculares tienen una funcionalidad biológica.

b) Viscosimetría

La viscosimetría de soluciones diluídas está relacionada con la medida de la habilidad intrínseca de un polímero para incrementar la viscosidad de un disolvente a una temperatura determinada y es útil para obtener información relacionada con el tamaño y la forma de las moléculas de polímero en solución y las interacciones polímero-disolvente. En el régimen diluído la viscosidad de una solución polimérica (para concentraciones de polímero muy bajas) es determinada relativa a la viscosidad del solvente puro.

De esto surgen los parámetros de viscosidad relativa (η_r) y de viscosidad específica (η_{sp}) según la siguiente ecuación 3.3:

Ecuación 3.3
$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0}$$

donde η es la viscosidad de la solución de polímero y η_0 es la viscosidad del disolvente puro.

Considerando que la densidad de una disolución muy diluída es aproximadamente la densidad del disolvente, la viscosidad relativa equivale a la razón de tiempo de paso de un volumen definido a través de una sección. Así, la viscosidad específica se define según la Ecuación 3.4:

Ecuación 3.4
$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \approx \frac{t}{t_s} - 1$$

el subíndice *s* designa al disolvente y *t* corresponde al tiempo de paso determinado mediante la técnica de viscosimetría capilar.

La viscosidad reducida es la relación entre la viscosidad específica y la concentración, según la siguiente ecuación 3.5:

Ecuación 3.5
$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c}$$

donde *c* es la concentración de polímero. Ésta es una medida de la habilidad de un polímero para aumentar la viscosidad de un disolvente.

Aún en soluciones muy diluídas las moléculas de polímero son capaces de interacciones intermoleculares. Las dos contribuciones a la viscosidad reducida son el movimiento de las moléculas aisladas en el disolvente y la interacción entre las moléculas del polímero y la solución. Para eliminar las interacciones es necesario extrapolar a concentración cero para obtener las viscosidades inherente y reducida comúnmente conocidas como viscosidad intrínseca, a continuación se presentan las ecuaciones correspondientes 3.6 y 3.7:

Ecuación 3.6.
$$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_r}{c}$$

Ecuación 3.7
$$[\eta] = (\eta_{red})c \rightarrow 0 = (\eta_{inh})c \rightarrow 0$$

La viscosidad intrínseca tiene las unidades de masa/volumen y es una medida de la habilidad de una molécula de polímero para aumentar la viscosidad de un disolvente en ausencia de interacciones intermoleculares.

Las ecuaciones más comunes para evaluar la viscosidad intrínseca son las ecuaciones de Huggins (1942) y Kraemer (1938), dadas por las ecuaciones 3.8 y 3.9 respectivamente.

Ecuación 3.8:
$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta_H] + k_H [\eta_H]^2 C$$

Ecuación 3.9:

$$\frac{\ln \eta_r}{c} = [\eta_K] - K_k [\eta_K]^2 C$$

El procedimiento más usual para determinar la viscosidad intrínseca es determinar la viscosidad relativa para diferentes concentraciones de polímero y representar los datos utilizando las ecuaciones 3.5 y 3.6 y entonces calcular el valor a concentración cero (Razavi et al 2013).

En disoluciones muy diluídas no hay interacción entre las moléculas de polímero y la viscosidad de la disolución corresponde a la viscosidad del disolvente y a la contribución de las moléculas como entidades individuales. De esta forma, la viscosidad intrínseca es una medida del volumen hidrodinámico de una molécula de polímero en un disolvente determinado. El volumen hidrodinámico es proporcional a la viscosidad intrínseca y al peso molecular (M_v). Esta relación está expresada por la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (3.10), útil en la determinación de pesos moleculares de polímeros de alto peso molecular.

Ecuación 3.10

$$[\eta] = K M v^\alpha$$

Donde:

M_v es el peso molecular viscosimétrico promedio y K y α son constantes para un sistema dado polímero/solvente/temperatura.

Así, se puede calcular el peso molecular si se conocen los valores de K y α para un conjunto de condiciones particulares.

c) Procedimiento estándar.

Para la medición del tiempo de caída de la solución, se utiliza un viscosímetro capilar Cannon tipo Ubbelohde en un baño con paredes de vidrio a una temperatura constante ($20,0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$).

Los tiempos son medidos con un cronómetro.

En el viscosímetro, se agrega 10 ml de la solución del polímero en la concentración inicial. Para obtener cinco puntos (concentraciones), se agrega una alícuota del solvente para obtener cada una de las concentraciones y se mezcla hasta que la solución esté homogénea.

Se realiza al menos cinco mediciones del tiempo (con no más que 1% de diferencia entre ellas) que la solución tarda en recorrer el espacio entre los dos enrasos del viscosímetro en cada una de las cinco concentraciones distintas, y los cinco tiempos más próximos se seleccionan para calcular el tiempo medio de caída del solvente.

d) Cálculos

Para calcular la viscosidad intrínseca $[\eta]$ de un polímero, es necesario:

- Medir el tiempo de caída de las soluciones (a través del capilar del viscosímetro) en distintas concentraciones y el tiempo de caída del solvente puro en las mismas condiciones;
- Calcular, entonces, la viscosidad relativa η_{rel} y la viscosidad específica η_{sp} , y las viscosidades inherente η_{inh} y reducida η_{red} ;
- Representar las dos últimas en un gráfico en función de la concentración (en g/dL).

Los cálculos utilizados son:

- Media aritmética de los cinco tiempos previamente elegidos;
- Corrección de Hagenbach ($\Delta t_{HCO} = 9900/t_0^2$); (según indicaciones del viscosímetro)
- Tiempo corregido ($t_{corr} = t_0 - \Delta t_{HCO}$);

Las viscosidades reducida e inherente son graficadas y el punto donde la recta de cada una de ellas cruza el eje es tomado como referencia para el cálculo de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ (media de los dos puntos).

Así, se emplea la ecuación Mark-Houwink-Sakurada, donde las constantes utilizadas para las determinaciones de las masas moleculares a partir de las soluciones de alginato son: $K = 2,0 \times 10^{-5} \text{ dm}^3/\text{g}$ y $\alpha = 0,83$ encontradas en la literatura. (Holme 2003, 2008)

3.2.7 Medición por espectroscopia ultravioleta y visible (UV-vis)

La espectroscopia ultravioleta y visible es una espectroscopia de fotones. El principio involucra la absorción de radiación uv-visible por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor. La longitud de onda comprende entre 190-800 nm. La luz visible o UV es absorbida por los electrones de valencia, estos son promovidos a estados excitados. Al absorber radiación electromagnética de una frecuencia correcta, ocurre una transición desde uno de estos orbitales a un orbital vacío. Las diferencias entre energías varían entre los diversos orbitales. Algunos enlaces, como los dobles, provocan coloración en las moléculas ya que absorben energía en el visible así como en el UV.

Desde el punto de vista cuantitativo, la espectroscopia UV-vis permite conocer la concentración de especies absorbentes según la ley de Beer-Lambert, que relaciona la concentración con la absorbancia.

En nuestro trabajo, las mediciones UV-vis se realizan para evidenciar la degradación del alginato de sodio a altas dosis, estos polvos y las soluciones experimentan cambios de color posterior a su irradiación, la aparición de picos

implicara un cambio en la estructura según lo indica las referencias (Nagasawa 2000; Rellve 2005).

Se emplea un espectrómetro UV-vis Shimadzu 1201 para los estudios de UV-vis y la lectura de los dosímetros de dicromato de potasio empleados para altas dosis.

Las soluciones de alginato de sodio se preparan con agua destilada posterior a su irradiación en estado sólido en concentraciones variables de 2 % - 0.02 % m/v. Las determinaciones se realizan por triplicado.

3.2.8 Medición por espectroscopia IR

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica utilizada desde hace mucho tiempo para el análisis estructural de moléculas orgánicas, permitiendo en forma relativamente simple identificar la presencia de grupos funcionales en una molécula. Al igual que otras técnicas espectroscópicas, se basa en la interacción de la radiación electromagnética con la materia. Utiliza la radiación del espectro cuya longitud de onda comprende 0.8-400 μm y su efecto sobre la materia orgánica es producir deformaciones de los enlaces de la sustancia. La unidad más usada no es la longitud de onda sino el número de onda (su inversa, en cm^{-1}). Los espectros se observan generalmente desde 400 cm^{-1} a los 4000 cm^{-1} rango en el cual se producen las transiciones vibracionales asociadas a la mayoría de los grupos funcionales presentes en moléculas orgánicas y algunas inorgánicas. Hay diferentes modos normales de vibración en las moléculas, las cuales llevan asociado un movimiento característico de los átomos. Al igual que en todos los espectros de absorción, un espectro IR se representa gráficamente como la intensidad relativa de la luz transmitida en función de la longitud de onda expresada como el número de onda (cm^{-1}). Cada absorción observada corresponde a una vibración determinada en algún enlace dentro de la molécula, estos por lo general se encuentran tabulados.

En nuestro caso en particular las muestras se preparan tanto en discos con KBr de alta calidad analítica y para uso en IR. Se emplea una matriz con capacidad para formar discos de 1cm aproximadamente de diámetro. Se colocan 300 mg de KBr en un mortero adecuado junto con 2 mg de muestra, una vez mezclados se llevan a la matriz y se comprimen al vacío durante algunos minutos. Los discos se reservan en recipientes adecuados en desecadores hasta su medición.

Las películas de alginato se forman en un soporte adaptado para nuestros geles, que tienen una zona libre circular en la parte central donde se expone al haz. La solución se coloca bañando el soporte y se lleva a sequedad.

Las películas de k-carragenanos se realizan en soportes tipo caja de Petri y se llevan a sequedad.

Las películas se manipulan con mucha suavidad puesto que son muy frágiles y delgadas (20 μm).

Se emplea el espectrofotómetro FTIR Nicolet Impact 410.

3.3 Preparación de Hidrogeles instantáneos

3.3.1 Preparación de mezclas básicas

a) Estudios preliminares

En comparación con las formas de administración estándar, las drogas que se entregan en un sistema con capacidad bioadhesiva, se van a encontrar por mucho más tiempo en contacto con el tejido absorbente y se podría pensar entonces, en un aumento de la biodisponibilidad de la droga en cuestión y en sistemas de administración controlada de drogas. Estas formas de administración bioadhesivas tienen la particularidad de fijarse en las mucosas por un cierto tiempo y liberar el fármaco a pesar de las circunstancias naturales que se oponen (Peppas 1987). En la actualidad hay una gran cantidad de compuestos poliméricos naturales y sintéticos que podrían utilizarse en función de la propiedad de mucoadhesividad conocida. Para el caso particular de la mucosa oral dañada, lo que se busca es un sistema que forme geles en un corto tiempo, in situ, entendiéndose que se aplique en solución y gelifiquen tras colocarse en un medio favorable. Este tipo de hidrogeles son habituales en el uso oftálmico compuestos por los derivados celulósicos, el polivinilalcohol, los carbómeros, el ácido hialurónico y el quitosano, entre otros (Sintzel 1996; Peppas 2000a; Miller 1982; Rozier et al 1989). En nuestro caso en particular, creemos que los alginatos son una excelente alternativa teniendo en cuenta sus propiedades ya descritas para la formación de una película protectora que al adherirse a la mucosa de la cavidad bucofaríngea recubre las terminaciones nerviosas expuestas, ayudando a disminuir el dolor generado por estados irritativos e inflamatorios de la cavidad bucal de diversas etiologías. Asimismo, el estudio de las propiedades mecánicas de los hidrogeles en forma de films formados será objeto de evaluación y criterio de selección de la formulación final. A continuación se describe el lugar de aplicación y estudios preliminares de diversos mucoadhesivos habitualmente empleados, posteriormente la formulación de mezclas físicas y finalmente la aplicación de la radiación ionizante como tecnología capaz de generar nuevos materiales con propiedades físico-químicas novedosas, posibles de emplearse en un sistema de administración tópica en mucosa oral dañada.

Lugar de aplicación: Determinación de las características químicas de la saliva:

Con el objetivo de determinar la composición hidroelectrolítica de la saliva, se evalúa a 10 pacientes adultos portadores de cáncer de cabeza y cuello, 5 de los cuales presentaban mucositis grado 2 o más (clasificación OMS).

A los pacientes sin mucositis se los considero el grupo "control".

Los participantes son instruidos para no comer, tomar, fumar o lavarse los dientes desde 2 horas antes de la toma muestral. La saliva es recogida en un

tubo graduado (Falcon 15 ml) durante aproximadamente 5 minutos. Una alícuota de saliva es cargada en una jeringa de 1 ml y es analizada inmediatamente en un analizador gasométrico para determinar el pH y el contenido de HCO_3^- . El resto de la saliva es centrifugado y el sobrenadante es transferido y guardado a -20°C hasta el análisis. Las muestras son descongeladas y analizadas al mismo tiempo en el Departamento de Análisis Clínicos del Instituto Roffo usando un contador electrolítico automático (Instrumentación Laboratory, USA). La concentración de electrolitos se expresa en mM. Análisis estadístico con ANOVA (Software Statistix).

Resultados:

Concentración de electrolitos en muestras control: bicarbonato 15 ± 4 mM, sodio 17 ± 9 mM, calcio 0.50 ± 0.18 mM, fosfato 3 ± 1 mM, potasio 20 ± 6 y pH 7.5 ± 0.2

Concentración de electrolitos en muestras de pacientes con mucositis: bicarbonato 7.5 ± 1 mM, sodio 21 ± 6 mM, calcio 2.6 ± 0.9 mM, fosfato 2.5 ± 0.9 mM, potasio 30 ± 4 y pH 6.5 ± 0.3

Todas las comparaciones con la muestra control son estadísticamente significativas con un nivel del 5%.

En conclusión los pacientes con mucositis tienen una saliva con mayor concentración de sodio (probablemente por disminución en la reabsorción de la saliva secretada), potasio (probablemente como consecuencia de una mayor contribución de las glándulas su mandibulares que de la parótida al total de la saliva), y calcio (en parte por secreción submandibular y en parte por sangrados leves), y menor concentración de fosfato, bicarbonato y pH (menor capacidad buffer para la saliva de estos pacientes).

Interesantemente estas condiciones son aceptables para la formación instantánea de hidrogeles, particularmente por el alto contenido en calcio.

Mezclas de mucoadhesivos

Con los datos previamente obtenidos se reprodujeron las condiciones intermedias de la saliva normal y con mucositis. Se crearon dos sistemas similares que reproducen la variabilidad de las mediciones obtenidas en la práctica.

Saliva I (Se toma como estándar): NaCl 0.06 %, KCl 0.075 %, CaCl_2 0.02 %, NaHCO_3 2.1 %, pH=7.

Saliva II: KCl 0.1 %, NaCl 0.1 %, MgCl_2 0.005 %, CaCl_2 0.015 %, K_2SO_4 0.04 %, hidroxipropilmetilcelulosa 1 % como espesante, pH=7.

Solubilización del alginato de sodio:

Concentración 2 % - 5 % la solubilización se alcanza en baño térmico, con agitación constante durante 30 minutos. El pH final de la solución es de 6.0 ± 0.5 .

Gelificación del alginato de sodio con sales de calcio:

La solución de alginato de sodio en presencia de fosfato de calcio 7 g/l gelifica en forma muy lenta y heterogénea, por lo que se descarta.

0,2% -1% de alginato de sodio en contacto con solución de cloruro de calcio 3%: se forma una jalea que se disuelve rápidamente en el medio.

2,7%- 3,5% de solución de alginato de sodio con la misma concentración de cloruro de calcio: se observan los geles tipo películas sobre la superficie que en contacto con la saliva artificial tipo I durante 10 horas no presenta cambios visibles.

1,75% de solución de alginato de sodio en presencia de cloruro de calcio 6,9% presenta un pH=6. Se adiciona a la solución de calcio NaHCO_3 2% en cantidades necesarias para llegar a pH= 7. No presentando cambios en los tiempos de gelificación.

El gel obtenido es una capa delgada transparente, que se forma inmediatamente al contacto de ambas soluciones.

Con el objeto de aumentar la adhesividad del hidrogel formado, entendiendo este fenómeno como la unión durante un tiempo suficiente de dos superficies por medio de fuerzas físicas y/o químicas, se evalúa el agregado de reactivos secundarios como polivinipirrolidona (PVP) polivinilalcohol (PVA, Sigma) y polietilenglicol (PEG, Sigma) en base a una clasificación cualitativa de su capacidad adhesiva (Rodríguez, 2000; Longer 1986; Mikos 1986).

De esta manera se agregan a las soluciones de alginato de sodio previamente preparadas soluciones de PVP (0,6 %, 1,4 %, 10 %), PVA (12,49 %) y PEG (11,6 %). Luego se adiciona el cloruro de calcio para la gelificación en superficies con saliva artificial de ambos tipos.

La formación instantánea del hidrogel se logra con concentraciones de alginato de sodio de 2 % - 5% en masa, junto con cloruro de calcio en soluciones de 2% - 6%.

No hay cambios en el tiempo de formación del hidrogel en presencia de otras sustancias.

En estos ensayos preliminares se presentan hidrogeles aparentemente con mayor adherencia a la superficie los que contienen PVP en diversas

concentraciones. Mientras que con el agregado de PVA y PEG se adquieren geles con mayor forma y rigidez, sin aumentar notablemente la adherencia, salvo en grandes proporciones de PVA.

El espesor del film se regula con la cantidad de solución de alginato preparada.

La gelificación instantánea del hidrogel se logra con soluciones de cloruro de calcio no menores al 2 % m/m y soluciones de alginato de sodio entre 2 % - 5 %. El agregado de PVA, PEG, PVP, CMC e HEC no alteran el tiempo de gelificación.

b) Variaciones de composición de mucoadhesivos

En base a los resultados anteriores, se optimizó la formulación con agentes mucoadhesivos como los derivados de la celulosa (carboximetil celulosa (CMC) e hidroxietil celulosa (HEC) que poseen además una excelente compatibilidad con las sales de alginato. Estos polímeros tienen las características necesarias de adhesividad, y además son capaces de interactuar con la mucosa, generando uniones específicas propias del polímero y de la superficie, y podrían cumplir funciones de lubricación y protección.

Los reactivos utilizados son: alginato de sodio (SA, Aldrich lot 00631TB), hidroximetilcelulosa (HEC, Aldrich), carboximetilcelulosa (CMC, Sigma), y polivinilpirrolidona (PVP, 360-Sigma).

En una primera etapa se trabaja con soluciones binarias de alginato-PVP, alginato-CMC, y alginato-HEC, luego, en base a los resultados anteriores, se ensaya un sistema de tres componentes, alginato-PVP-CMC y, finalmente, un sistema cuaternario de alginato-PVP-CMC-HEC.

En todos los casos, el alginato gelifica en presencia de iones Ca^{2+} , no se observan variaciones en la capacidad de gelificación y, además, hay una excelente compatibilidad entre los componentes.

Se incorporan a las soluciones de alginato preparadas en concentraciones $6 \pm 2\%$ m/m los siguientes aditivos: PVP ($8 \pm 1\%$ m/m), CMC ($1,5 \pm 0,5\%$ m/m) y HEC ($2,0 \pm 0,5\%$ m/m).

Las mediciones de adhesividad se realizan con el instrumento diseñado para tal fin.

c) Composiciones binarias

Los hidrogeles de alginato junto a PVP, CMC e HEC son evaluados en diversos rangos (expresado en fracción de alginato)(tabla 3.2)

Las películas obtenidas se estudian considerando la fuerza de adhesión a distintas composiciones sobre una superficie lisa de acrílico. Los máximos

valores de adhesión obtenidos para cada sistema secundario se observan en la Figura 3.27.

Tabla 3.2: Máxima fuerza de adhesión para films instantáneos (espesor de 0.6 ± 0.1 mm) compuestos por alginato de sodio (SA), PVP y derivados de celulosa (CMC, HEC) en composiciones binarias

Muestras (n)	Composición	Rango (Fracción de SA m/m)	Máxima fuerza adhesión (N) y fracción de SA	
64	SA ; PVP	0.1-1.0	0.28 ± 0.01	0.8
21	SA ; CMC	0.6-0.9	0.18 ± 0.04	0.9
16	SA ; HEC	0.4-0.9	0.20 ± 0.02	0.7

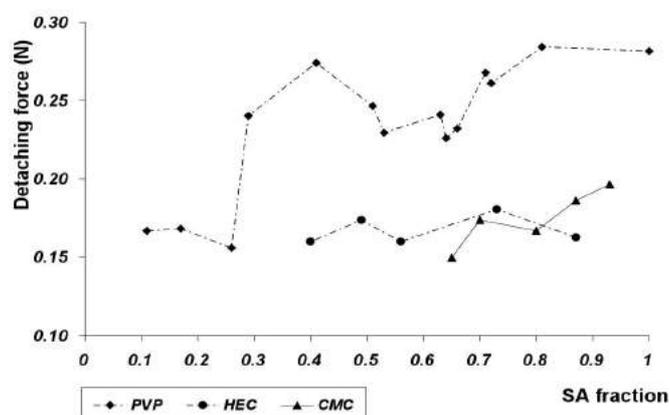


Figura 3.27: Fuerza de adhesión (N) vs fracción de alginato en hidrogeles binarios.

Los sistemas formados por Alginato-CMC y Alginato-HEC no presentan variaciones significativas al 95% nivel de confianza (NC) en la fuerza de adhesión entre las distintas fracciones evaluadas.

Los hidrogeles binarios poseen una mayor fuerza de adhesión donde la fracción de alginato en los mismos (independientemente del segundo componente) es >0.7 en peso seco.

Asimismo, con el objeto de conocer la fuerza de corte de los hidrogeles secundarios formados por alginato y PVP, se evalúan 16 muestras individuales en un rango de fracción de alginato entre 0.16-1, sobre una superficie rugosa.

Los films de hidrogel con un espesor medio de 0,6 mm y una superficie media de 25,1 cm², formados por alginato y PVP, presentan un mínimo de resistencia al corte cuando el porcentaje (en peso seco) en el mismo es de 34%, haciéndose máximo cuando el hidrogel está compuesto únicamente por alginato de sodio.

Por cuanto, la máxima fracción de los aditivos se establece en 0,30, como punto inicial en las siguientes composiciones terciarias, de tal manera que no disminuya bruscamente la fuerza de corte de los films.

d) Composiciones terciarias

Estas soluciones se forman con soluciones acuosas de alginato ($5,6 \pm 1,1$ % m/m) como compuesto mayoritario al cual se adiciona soluciones de PVP (7,96 % m/m) y CMC (1,49 % m/m). Los hidrogeles preparados tienen una fracción fija de alginato en $0,67 \pm 0,08$ y la fracción de los componentes secundarios varía dentro del 37 % restante aproximadamente.

Se analizan 40 muestras individuales de estos hidrogeles terciarios modificándose la fracción de CMC (y en consecuencia PVP) en un rango de 0,04-0,30.

El sistema terciario: Alginato-PVP-CMC presenta un máximo de fuerza de adhesión de $0,25 \pm 0,04$ N menor al encontrado en el sistema secundario Alginato-PVP del $0,28 \pm 0,01$ N. Sin embargo, dicho valor es mayor que las soluciones secundarias con CMC y con HEC.

Los resultados anteriores sugieren que la presencia de PVP como aditivo en las soluciones terciarias aumenta la fuerza de adhesión de los hidrogeles, mientras que la CMC la disminuye. De tal manera, se establece una fracción fija de PVP en 0,20 para las composiciones cuaternarias siguientes, con el objetivo de no disminuir significativamente la adhesión.

e) Composiciones cuaternarias

Los hidrogeles son preparados con soluciones acuosas de alginato (5,8 % m/m), PVP (7,96 % m/m), CMC (1,49 % m/m) y HEC (1,97 % m/m). Se fija la fracción de alginato en $0,63 \pm 0,07$, la fracción PVP en $0,20 \pm 0,05$ y se modifica la cantidad de HEC y CMC dentro del 17 ± 4 % restante.

Sobre un total de 25 muestras de hidrogeles de distintas composiciones en HEC-CMC, no se encuentra diferencia significativa en el 95% de NC entre los esfuerzos de cada fracción sobre una superficie acrílica, por lo tanto, el valor medio (\pm SD) fue $0,21 \pm 0,03$ N.

El agregado de HEC y de CMC no altera significativamente la fuerza de adhesión, sin embargo, el aporte de CMC sugiere un aumento en la misma con respecto a la composición terciaria de alginato-PVP-HEC. En tal caso, es necesario evaluar otras propiedades físicas de los hidrogeles no vinculadas directamente con la fuerza de adhesión.

Las fuerzas de adhesión y de corte son aceptables para mezclas físicas, en la próxima etapa intentaremos aumentar estas mismas aplicando el uso de radiaciones ionizantes para modificar el alginato de sodio.

3.3.2 Estudio de la modificación de alginato bajo irradiación

La tecnología de las radiaciones es una herramienta muy útil para generar la modificación de los alginatos ya sea por el proceso de degradación y ruptura o la incorporación de grupos que permiten mejorar sus propiedades mecánicas. En esta etapa del trabajo se estudiarán los dos fenómenos.

La irradiación de polisacáridos en general implica una degradación del polímero por la escisión en la cadena, generando moléculas de menor masa molecular. Actualmente está en estudio la funcionalidad biológica de estos materiales generados posteriores a la irradiación de diversos polisacáridos en altas dosis (Relleve 2005; Thama 2001; IAEA Tec-doc 1617 2009, Kume 2002). Esta parte del trabajo es complementaria a estudios realizados en conjunto con el departamento de Vegetal de la facultad de Agronomía de la UBA, habiendo tenido resultados muy favorables en el crecimiento de vegetales de nuestro país.

Se evalúa en primer lugar el efecto de las radiaciones sobre los alginatos en estado sólido y líquido, complementando estos estudios con otro polisacárido como el k-carragenano.

También en este apartado se estudia la posible introducción de grupos acrílicos con el empleo de radiaciones ionizantes para aumentar la adhesividad de los geles.

Las mejoras de la funcionalidad de los polisacáridos se pueden lograr a través del entrecruzamiento químico lo que puede mejorar las propiedades mecánicas (Laurienzo 2006, Kadokawa 2005, Tripathi 2012, Anh 2001).

Como se indica en la descripción de los geles de alginato, estos tienen la capacidad de formar geles físicos, y como tal, tienen la ventaja de ser instantáneos, presentan cierta debilidad mecánica y pueden ser reversibles.

Trabajos recientes (Sun J. 2012, Sadeghi 2014) han sintetizado geles de alginato junto a grupos acrílicos con el objeto de mejorar sus propiedades mecánicas y adhesivas en forma de entrecruzamientos químicos, donde el mecanismo de formación aún está en discusión. En esta parte del trabajo, se intentará injertar grupos acrílicos a la cadena del alginato de sodio, por medio de radiaciones ionizantes, sin agregado de iniciadores o entrecruzadores (Al-Assaf S. 2007a, Şolpan, D. 2008, Gupte 1999), de tal manera que se logre la polimerización y la incorporación simultánea de monómeros dentro de la cadena principal.

Estudio de la degradación

El estudio de la degradación de alginato implica la determinación de la masa molecular a distintas dosis, estimar el grado de ruptura, evaluación de las soluciones con UV-vis y los materiales por espectroscopia FTIR, el estado de irradiación y la comparación de su comportamiento con respecto a otro polisacárido.

a) Determinación de la masa molecular a distintas dosis por medio de la viscosidad

Se utiliza irradiación gamma (Co-60) en una planta de irradiación comercial privada (IONICS S.A.) para dosis altas (12,5 kGy, 25 kGy, 40 kGy) y para dosis bajas un AECL Gamma Cell 220 (2 kGy, 5 kGy). Las cinco dosis fueron determinadas con dosímetros líquidos de dicromato de potasio y plata, por el Laboratorio de Dosimetría de Altas Dosis de CNEA (ver Tabla 3.3).

Tabla 3.3: Dosimetría de las muestras en estado sólido para la determinación de la masa molecular a distintas dosis

ID de la muestra	Dosis medida (kGy)	Incertidumbre %	Tasa de dosis (kGy/h)
2	1.7±0.1	5	0.033
5	4.6±0.1	2	0.033
10	13.7±0.2	15	7.6
25	25.4±0.7	3	7.6
35	38.6±1.9	5	7.6

El material empleado es alginato de sodio (Sigma Aldrich, batch8620BJ), y posterior a su irradiación se disuelve en las primeras 24 h y se mantiene en refrigeración durante 2-3 días. Como solvente se usa NaCl 0,1 M. Las soluciones iniciales son de 0,2% m/v.

La constante Mark-Houwink: $K = 2.0 \times 10^{-5} \text{ dm}^3/\text{g}$, $\alpha = 0.83$, datos extraídos de bibliografía (Holme 2003, 2008). Tiempo de flujo del solvente: 102.4 segundos, tiempo de flujo para alta y baja concentración: 200,5 segundos y 118,6 segundos respectivamente.

Las mediciones de viscosidad se realizan con el viscosímetro Ubbelohde tipo 1 (Cannon) calibrado y con rango de viscosidad cinemática de 2-10 cSt, equipado con un baño termostático ($20.0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$). El mínimo volumen de muestra es 11ml. Las muestras se secan a 40°C en estufa durante 24h a peso constante ($<0.1 \%$). La toma de medición del tiempo es manual con un cronómetro. Las diluciones se realizan dentro del viscosímetro.

Se obtienen los tiempos de lectura para el pasaje por el capilar del viscosímetro, de distintas concentraciones de las soluciones de alginato irradiado y sin irradiar, y a partir de allí se calculan las viscosidades relativas, específicas, inherentes, reducidas e intrínsecas.

Luego empleando la relación de Mark-Houwink-Sakurada se calcula la masa molecular de las distintas muestras.

Resultados

Las Tablas 3.4, 3.5 demuestran los resultados obtenidos en las muestras analizadas de alginato sin irradiar y los irradiados a 2 kGy respectivamente, a modo de ejemplo de cálculo, finalmente se observa la variación de las viscosidades en función de la dosis y con ella las masas moleculares (Figura 3.28 y Figura 3.29).

Tabla 3.4: Tiempo de caída (segundos) para el alginato sin irradiar vs su concentración (g/dm³)

Muestras	Solvente	1	2	3	4	5
Polimero (g/dm ³)	0	1.111	1.25	1.428	1.666	2
Tiempo (s)	102.4	151.0	158.9	167.9	182.8	200.5
	102.2	150.8	158.8	167.8	182.9	200.4
	102.3	150.8	159.1	168.1	182.8	200.5
	102.4	150.9	159.2	168.1	182.7	200.4
	102.6	151.0	159.2	168.2	182.9	200.7
Media Tiempo (s)	102.38	150.9	159.04	168.02	182.82	200.5

Tabla 3.5: Tiempo de caída (segundos) para el alginato irradiado a 1.9 kGy vs su concentración (g/dm³)

Muestras	Solvente	1	2	3	4	5
Polimero (g/dm ³)	0	1.111	1.25	1.428	1.666	2
Tiempo (s)	102.4	145.3	151.0	159.9	171.5	188.6
	102.2	144.9	151.2	159.7	171.4	189.0
	102.3	145.0	151.4	159.9	171.8	189.0
	102.4	145.1	151.4	160.1	171.7	188.7
	102.6	145.0	151.4	159.7	171.7	188.9
Media Tiempo (s)	102.38	145.06	151.28	159.86	171.62	188.84

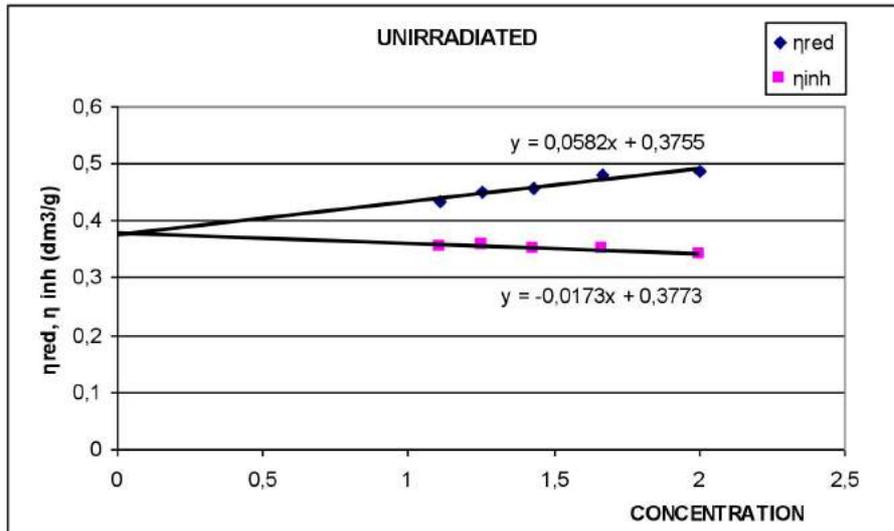


Figura 3.28: Viscosidad inherente y reducida para una solución de alginato de sodio sin irradiar vs concentración

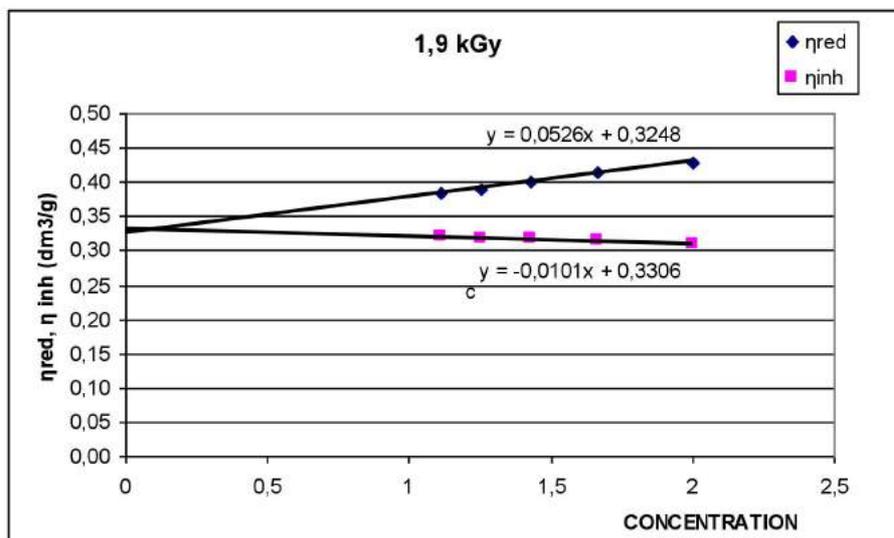


Figura 3.29: Viscosidad inherente y reducida para una solución de alginato de sodio irradiado a 1.9 kGy vs concentración

Tabla 3.6: Valores encontrados para viscosidad relativa, específica, reducida e inherente en una solución acuosa de alginato de sodio sin irradiar

Muestra	Concentración (g/dm ³)	t.(media) (s)	Δt HC (s)	t. (corr) (s)	η_r .	$\eta_{.sp}$	η_{red} (dm ³ /g)	η_{inh} (dm ³ /g)
1	1,11	150,9	0,435	150,4	1,483	0,483	0,435	0,355
2	1,25	159,04	0,391	158,6	1,564	0,564	0,451	0,358
3	1,43	168,02	0,351	167,7	1,653	0,653	0,457	0,352
4	1,67	182,82	0,296	182,5	1,799	0,799	0,480	0,353
5	2,00	200,5	0,246	200,3	1,974	0,974	0,487	0,340

Tabla 3.7: Valores encontrados para viscosidad relativa, específica, reducida e inherente en una solución acuosa de alginato de sodio irradiada a 1.9 kGy en estado sólido

Muestra	Concentración (g/dm ³)	t.(media) (s)	Δt HC (s)	t. (corr) (s)	η_r .	$\eta_{.sp}$	η_{red} (dm ³ /g)	η_{inh} (dm ³ /g)
Solvente	0	102,4	0,945	101,4				
1	1,11	145,1	0,470	144,6	1,425	0,425	0,383	0,319
2	1,25	151,3	0,433	150,8	1,487	0,487	0,390	0,317
3	1,43	159,9	0,387	159,5	1,572	0,572	0,401	0,317
4	1,67	171,6	0,336	171,3	1,689	0,689	0,413	0,314
5	2,00	188,8	0,277	188,6	1,859	0,859	0,429	0,310

Tabla 3.8: Valores encontrados para viscosidad relativa, específica, reducida e inherente en una solución acuosa de alginato de sodio irradiada a 7.4 kGy en estado sólido

Muestra	Concentración (g/dm ³)	t.(media) (s)	Δt HC (s)	t. (corr) (s)	η_r .	$\eta_{.sp}$	η_{red} (dm ³ /g)	η_{inh} (dm ³ /g)
Solvente	0	102,4	0,945	101,4				
1	1,11	130,6	0,580	130,0	1,282	0,282	0,254	0,224
2	1,25	134,8	0,545	134,3	1,324	0,329	0,259	0,224
3	1,43	140,6	0,501	140,1	1,381	0,381	0,267	0,226
4	1,67	147,4	0,456	147,0	1,449	0,449	0,269	0,223
5	2,00	158,0	0,400	157,6	1,553	0,553	0,277	0,220

Tabla 3.9: Valores encontrados para viscosidad relativa, específica, reducida e inherente en una solución acuosa de alginato de sodio irradiada a 9.6 kGy en estado sólido

Muestra	Concentración (g/dm ³)	t(media) (s)	Δt HC (s)	t. (corr) (s)	η_r .	η_{sp}	η_{red} (dm ³ /g)	η_{inh} (dm ³ /g)
Solvente	0	102,4	0,945	101,4				
1	1,11	128,8	0,597	128,	1,263	0,263	0,237	0,211
2	1,25	132,2	0,567	131,6	1,298	0,298	0,238	0,208
3	1,43	137,6	0,523	137,1	1,352	0,352	0,246	0,211
4	1,67	144,3	0,475	143,8	1,418	0,418	0,251	0,211
5	2,00	153,5	0,420	153,1	1,509	0,509	0,255	0,206

Tabla 3.10: Valores encontrados para viscosidad relativa, específica, reducida e inherente en una solución acuosa de alginato de sodio irradiada a 26.3 kGy en estado sólido

Muestra	Concentración (g/dm ³)	t.(media) (s)	Δt HC (s)	t. (corr) (s)	η_r .	η_{sp}	η_{red} (dm ³ /g)	η_{inh} (dm ³ /g)
Solvente	0	102,4	0,945	101,4				
1	1,11	120,4	0,682	119,8	1,181	0,181	0,163	0,150
2	1,25	122,9	0,655	122,2	1,205	0,205	0,164	0,149
3	1,43	126,0	0,623	125,4	1,236	0,236	0,166	0,149
4	1,67	130,5	0,581	129,9	1,281	0,281	0,169	0,149
5	2,00	136,8	0,529	136,3	1,343	0,343	0,172	0,148

Tabla 3.11: Valores encontrados para viscosidad relativa, específica, reducida e inherente en una solución acuosa de alginato de sodio irradiada a 33.3 kGy en estado sólido

Muestra	Concentración (g/dm ³)	t.(media) (s)	Δt HC (s)	t. (corr) (s)	η_r .	η_{sp}	η_{red} (dm ³ /g)	η_{inh} (dm ³ /g)
Solvente	0	102,4	0,945	101,4				
1	1,11	118,6	0,704	117,9	1,162	0,162	0,146	0,135
2	1,25	120,6	0,681	119,9	1,182	0,182	0,146	0,134
3	1,43	123,6	0,648	123,0	1,212	0,212	0,149	0,135
4	1,67	127,3	0,611	126,7	1,249	0,249	0,149	0,133
5	2,00	133,2	0,558	132,6	1,308	0,308	0,154	0,134

Tabla 3.12: Valores calculados de viscosidad reducida, inherente e intrínseca, con su masa molecular correspondiente a diferentes dosis aplicadas sobre alginato de sodio irradiado en estado sólido.

Dosis (kGy)	Valor 'γ' η reducida	Valor 'γ' η inherente	η intrínseca	Masa Molecular
0	0,3755	0,3773	0,3764	141.300
1,9	0,3248	0,3306	0,3277	119.577
7,4	0,2285	0,2304	0,2295	77.831
9,6	0,2140	0,2154	0,2147	71.844
26,3	0,1512	0,1519	0,1516	47.221
33,3	0,1353	0,1360	0,1357	41.317

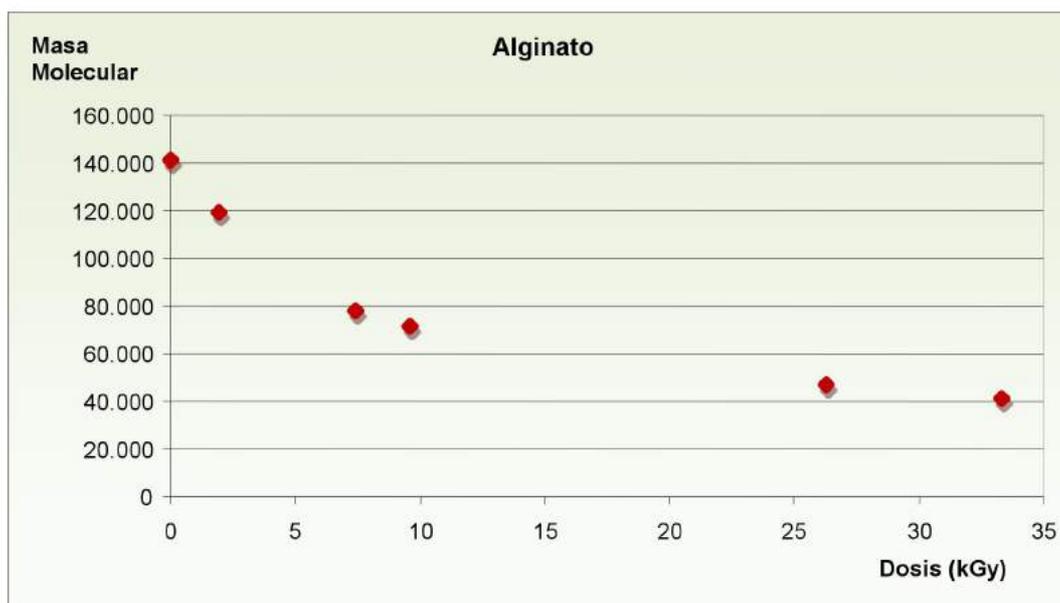


Figura 3.30: Variación de la masa molecular de alginato de sodio irradiado a dosis crecientes en estado sólido, atmósfera de aire y temperatura ambiente.

Las tablas y el gráfico presentes muestran que la aplicación de la radiación gamma produce una disminución de la viscosidad de las soluciones como causa directa de la irradiación.

Los resultados demuestran que, con dosis crecientes de radiación ionizante, el peso molecular de los polímeros naturales disminuye.

Las modificaciones encontradas en los pesos moleculares por la radiodegradación son significativas en la primera etapa (hasta 20kGy) donde decrecen muy rápidamente y luego la curva de masas moleculares en función de la dosis comienza hacerse asintótica.

La utilización de la radiación ionizante como método de despolimerización de polímeros naturales es posible y competitiva frente a otros métodos de despolimerización.

Con el conocimiento de estos datos se puede seleccionar la dosis y con ello el grado de degradación de los alginatos de sodio, irradiados en estado sólido.

b) Determinación del rendimiento de la ruptura de cadenas y el grado de degradación

El valor G puede predeterminar la susceptibilidad del alginato frente a la degradación por irradiación. De alguna manera es el rendimiento de eventos producidos, se define como el número de eventos de radiólisis generados cada 100eV de energía absorbida (Syed 2011). Se puede calcular con la ecuación de Alexander-Charlesby-Ross (Charlesby 1960):

Ecuación 3.11

$$G = \frac{N_{av} \left(\frac{1}{M_n} - \frac{1}{M_{n0}} \right)}{6,24 \cdot 10^{16} \cdot D}$$

Donde N_{av} es el número de Avogadro, D es la dosis absorbida (kGy) y M_n y M_{n0} son las masas moleculares posteriores a la irradiación y la inicial respectivamente.

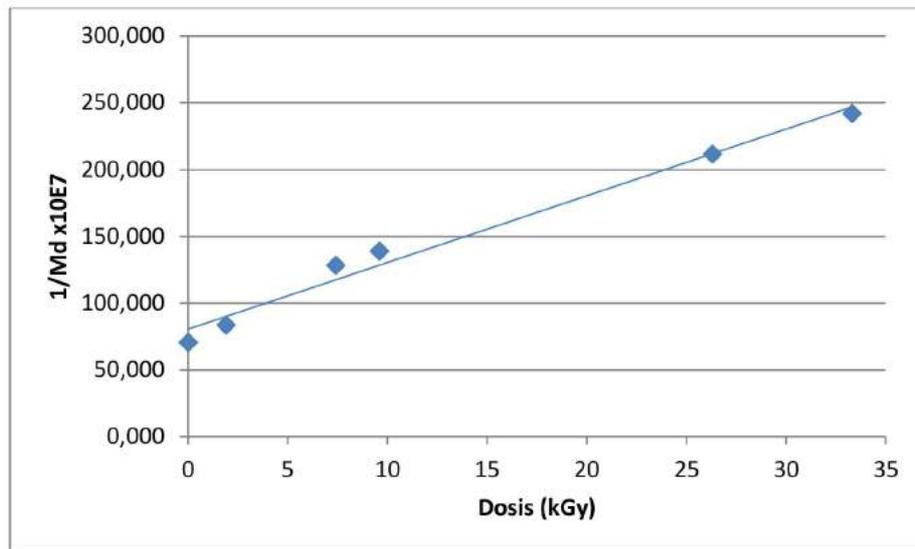


Figura 3.31 Gráfico de la inversa de la masa molecular a la dosis en función de la dosis aplicada (kGy) para la determinación de G en los alginatos de sodio irradiados en estado sólido, atmósfera de aire y temperatura ambiente.

El valor de la pendiente de la recta graficada da como resultado un G de 5, para un alginato de sodio irradiado en estado sólido, atmósfera de aire y a temperatura ambiente.

Según la bibliografía (Sen M 2010), este valor es específico de cada alginato de sodio irradiado porque es dependiente de la relación de gularónico y manurónico, la frecuencia de los homopolímeros, el tamaño de los bloques G y la masa molecular del polímero inicial. Se observa que a mayor relación de manurónico mayor es el grado de degradación encontrado (Sen M 2010), y quizás es atribuido a la disminución de la recombinación de los radicales en la cadena.

Según estudios anteriores, la irradiación de alginatos en estado líquido como por ejemplo al 1%, tiene un grado de degradación 30 veces mayor que en estado sólido (Nagasawa 2000). Esto puede ser debido a la supresión de la recombinación de las cadenas principales por la alta movilidad de las cadenas de alginato en solución. Los radicales H y OH formados en la radiólisis durante la irradiación de agua aceleran la ruptura de la cadena del alginato. Las reacciones entre los radicales libres y las moléculas de alginato llevan a una rápida degradación de los alginatos en solución acuosa.

Asimismo, estos radicales libres formados en la radiólisis del agua son agentes muy efectivos para llevar a cabo una reacción de entrecruzamiento (Nagasawa 2004).

c) Espectroscopia UV-vis

La espectroscopia ultravioleta-visible, es aplicada en el caso de soluciones obtenidas a partir de alginato de sodio irradiado a altas dosis, a temperatura ambiente y en aire. El objetivo es evidenciar la ruptura de enlaces del alginato.

Las irradiaciones son altas en el rango de 500 kGy, 750 kGy y 1000 kGy, las muestras se preparan en bolsas de polietileno no permeable (Figura 3.32) y se irradian por varios días, en una misma posición, a una tasa de dosis aproximada de 10 kGy/h.

Las muestras se llevan al laboratorio, observándose cambios de coloración y aspecto.

Se realizan disoluciones entre 0.25 % y 5 % en agua destilada con el fin de obtener los mejores espectros UV, para cada dosis. Las Figuras 3.33, 3.34 y 3.35 muestran algunos diagramas de UV-vis.

Se identifican picos de UV en 268 nm en dosis crecientes con completa desaparición para 1000 kGy.



Figura 3.32: Muestras de alginato de sodio irradiadas a dosis altas 500 kGy, 750 kGy, 1000 kGy

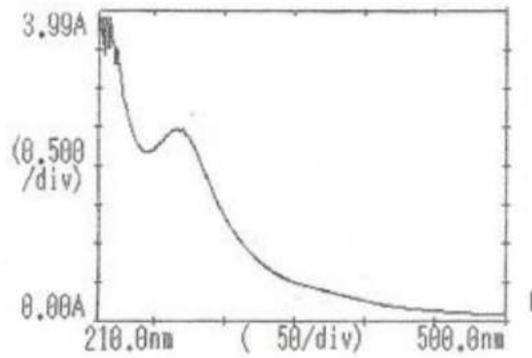


Figura 3.33: Espectro de UV-vis obtenido de una solución (1% m/m) de alginato de sodio irradiado con 500 kGy en estado sólido a temperatura ambiente.

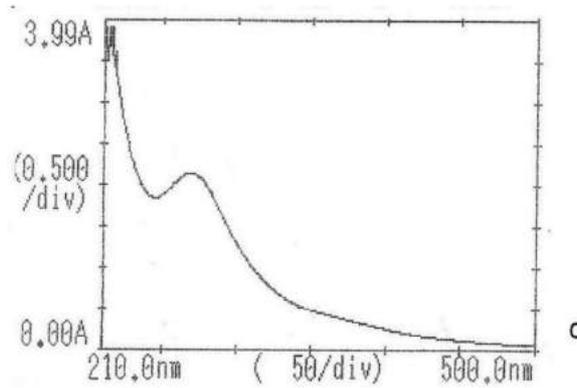


Figura 3.34: Espectro de UV-vis obtenido de una solución (0,5% m/m) de alginato de sodio irradiado con 750 kGy en estado sólido a temperatura ambiente.

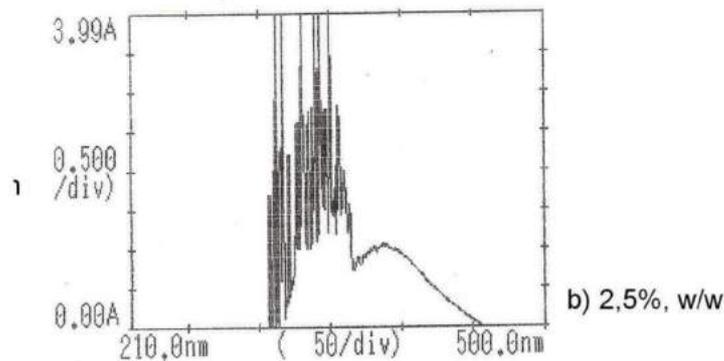


Figura 3.35: Espectro de UV-vis obtenido de una solución (2,5% m/m) de alginato de sodio irradiado con 1000 kGy en estado sólido a temperatura ambiente.

Los resultados de los espectros UV-vis obtenidos de las soluciones de alginato de sodio preparadas a partir del material irradiado a muy altas dosis (500 kGy, 750 kGy y 1000 kGy) en estado sólido, muestran correlación con el aspecto físico del material, donde existe un cambio brusco en el aspecto y color, quedando un polvo duro y marrón.

Los alginatos irradiados a dosis de 50 kGy -100 kGy en solución al 4% presentan un pico de absorción de 265nm en el espectro UV (Nagasawa 2000), que aumenta progresivamente hasta 200 kGy.

En nuestro caso también se observa la banda de absorción a 265 nm que se incrementa con la dosis pero desaparece a dosis cercanas a 1000 kGy donde muestra una nueva banda próxima a 427 nm.

Se puede asignar la banda de absorción de 265 nm a los dobles enlaces de alginato formados posteriores a la ruptura de la cadena principal y/o a la abstracción de hidrógeno por irradiación (Figura 3.36)

En el caso comparativo de irradiación en estado sólido y líquido, como se indica anteriormente, para tener el mismo grado G de degradación en estado líquido se requiere menor dosis, por lo que se estudia las soluciones irradiadas de alginato de sodio al 1% en dosis finales de 10 kGy, 25 kGy, 50 kGy y 75 kGy.

En ningún caso se pudo obtener picos de absorción, similares a altas dosis. Por lo que en principio, este nivel de degradación no se encuentra a estas dosis en estado líquido.

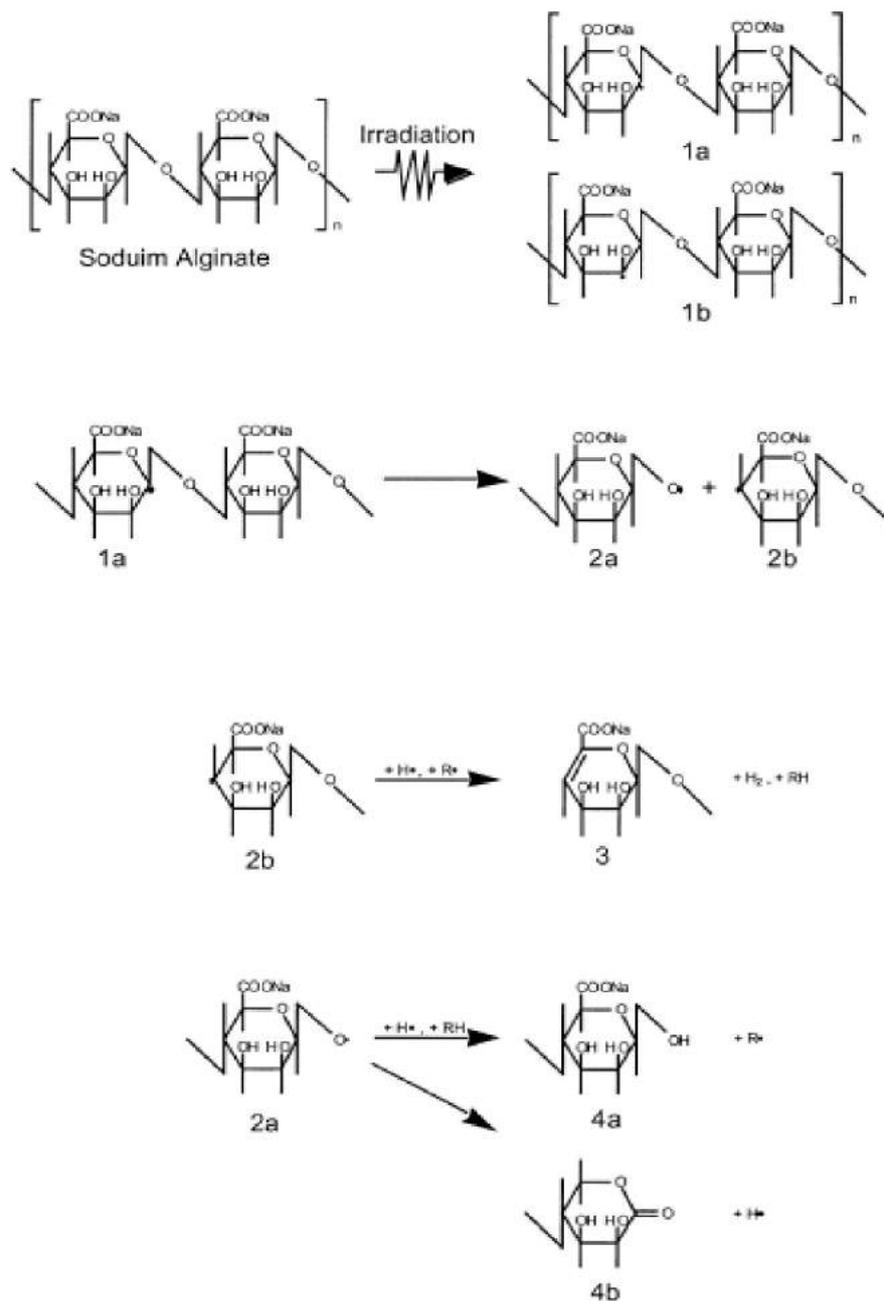


Figura 3.36: Mecanismo de degradación del alginato de sodio bajo irradiación gamma

Nagasawa (Nagasawa 2000) y otros investigadores propusieron un mecanismo de degradación que se ajusta a nuestros resultados, en la Figura 3.36 se observa la formación de radicales en C1 (1a) y C2 (1b). Esta formación en la posición C1 es la causa principal de la ruptura de las cadenas en dos especies, el radical de la posición C1 se convierte a la posición C4 (2b) que puede desprenderse del hidrogeno quizás por la presencia de radicales OH que rodean al macroradical. Como resultado de ello, se forma un doble enlace entre C4 y C5 para la estabilizar la estructura (especie 3). Quizás éste doble enlace sea el observado en las bandas del espectro UV-vis, al igual que los cambio en la coloración del material. El radical O de la ruptura de la cadena principal (2 a) puede dar un grupo terminal mediante la combinación con el hidrógeno (4a) o la forma del grupo carbonilo (4b) por transposición.

d) Espectroscopia FTIR: Estudio de la degradación de alginato de sodio

Otra herramienta empleada para estudiar la degradación de alginato con el empleo de radiación gamma es la espectroscopia infrarroja.

Los espectros se obtienen de la medición de pastillas con KBr según lo indicado en la sección 3.2 Materiales y métodos.

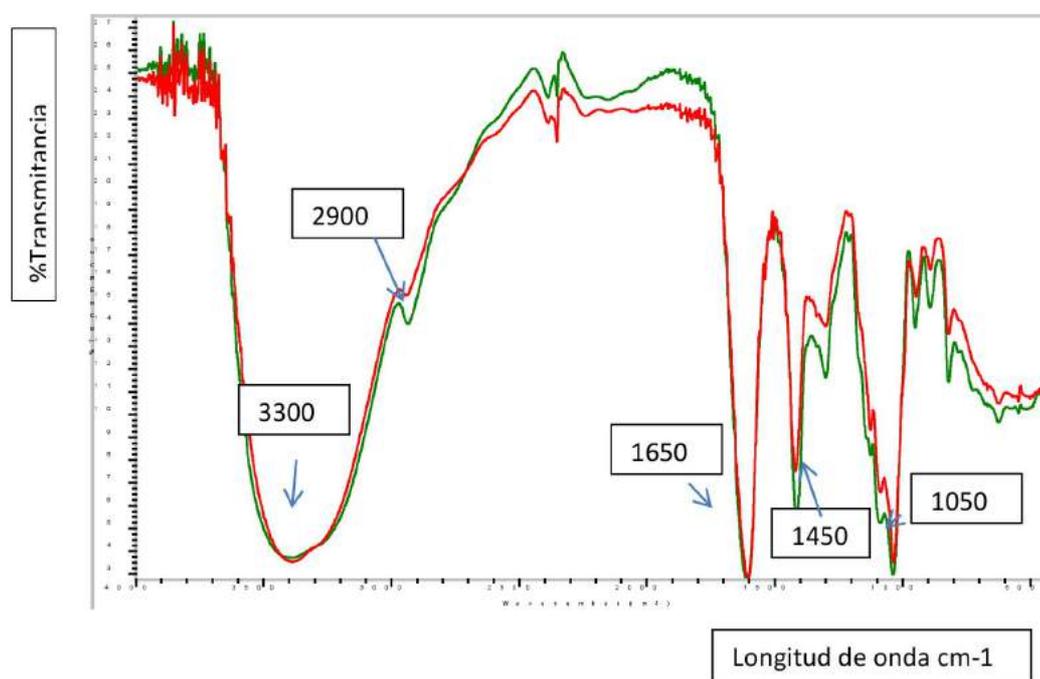


Figura 3.37: Espectros FTIR de alginato de sodio sin irradiar

El espectro FTIR de alginato de sodio sin irradiar (figura 3.37), muestra bandas de absorción importantes en la zona de hidroxilo, grupos funcionales éter y carboxílicos. Las vibraciones de estiramiento de enlaces O-H aparecen en el intervalo 3000-3600 cm^{-1} , los estiramientos vibracionales de alcoholes alifáticos C-H en 2900 cm^{-1} , las bandas en 1650 y 1450 cm^{-1} se atribuyen a las vibraciones simétricas y asimétricas de estiramiento de iones de carboxilato C=O. Las bandas 1050 cm^{-1} son atribuidas al estiramiento de los C-O del anillo piranósico y el estiramiento C-O con contribuciones de las deformaciones de C-C-H y C-O-H.

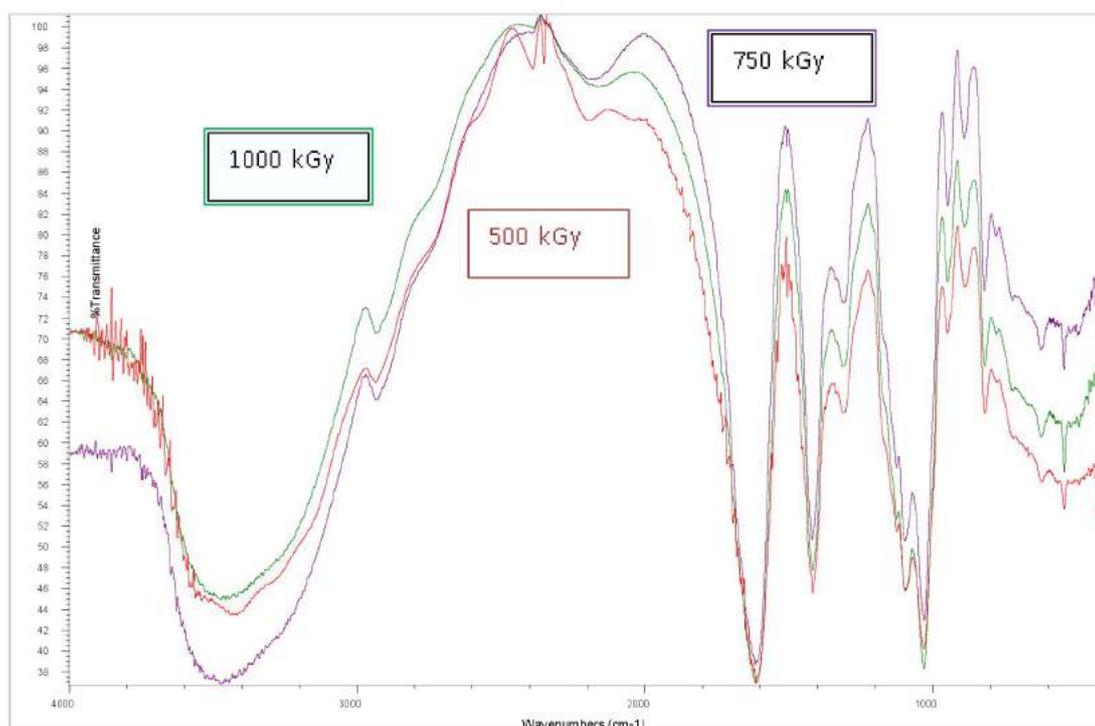


Figura 3.38: Espectro FTIR de alginato de sodio irradiado a 500 kGy, 750 kGy y 1000 kGy en estado sólido y atmósfera de aire.

En general, los espectros FTIR de alginato irradiado a 1000 kGy (Figura 3.38) muestran un aspecto similar a los alginatos sin irradiar. No hay evidencia de nuevos grupos.

e) Espectroscopia FTIR: Estudio de la degradación de k-carragenano

Los polisacáridos en general, sometidos a altas dosis, sufren la ruptura de cadenas, sin embargo, los espectros FTIR son similares puesto que aún el número de unidades monoméricas medida es alto como para evidenciar la ruptura.

Para confirmar esta estimación, se incorpora para su evaluación otro polisacárido irradiado en las mismas condiciones que el alginato de sodio.

Los polvos de carragenato están formados por polisacáridos de elevado peso molecular que se forman de manera natural extraídos de algas rojas. Se componen de copolímeros alternantes de β -D-galactosa y 3,6-anhidro- α -D-galactosa unidos por enlaces 1-3 y 1-4, respectivamente. Estas unidades se asocian alternando enlaces glucosídicos α -1,4 y β -1,4. En función del alga de la que se extraigan y de la técnica utilizada en la preparación, se producen tres tipos de carragenatos principales kappa (κ)-carragenato, lambda (λ)-carragenato e iota (ι)-carragenato. Debido a la naturaleza iónica de estos polímeros, su gelificación está significativamente influenciada por la presencia de electrolitos.

Se irradian en conjunto con las sales de alginato, y se realiza la misma evaluación de su degradación por radiación en estado sólido. La Tabla 3.13 muestra los resultados de la variación de la masa molecular con respecto a la dosis.

Tabla 3.13: Datos de la masa molecular calculados por viscosimetría en polvos de k-caragenatos (Soriano) en función de la dosis

Dosis (kGy)	η intrínseca	Masa Molecular
0	0,85705	380.798
1,9	0,6487	272.243
7,4	0,35405	131.254
9,6	0,26865	94.120
26,3	0,1544	48.292
33,3	0,1256	37.658

El valor de la pendiente de la recta graficada con la ecuación de Alexander-Charlesby-Ross (Charlesby 1960) da como resultado un G de 7 para estado sólido en aire, siendo un valor mayor que para los alginatos. Siendo el k-caragenato más susceptible a la degradación por radiación (Abad 2010).

Para la evaluación de los polvos irradiados por FTIR, se preparan films transparentes de soluciones de k-caragenatos irradiados a distintas dosis en concentraciones de 1% m/m. Las soluciones son preparadas empleando agua bidestilada y agitación constante, durante aproximadamente 30 minutos. Se

colocan 10 ml en capsulas de Petri y se dejan secar a temperatura ambiente. Los films obtenidos son de 20 μm de espesor y se llevan a los soportes adecuados para la medición por FTIR.

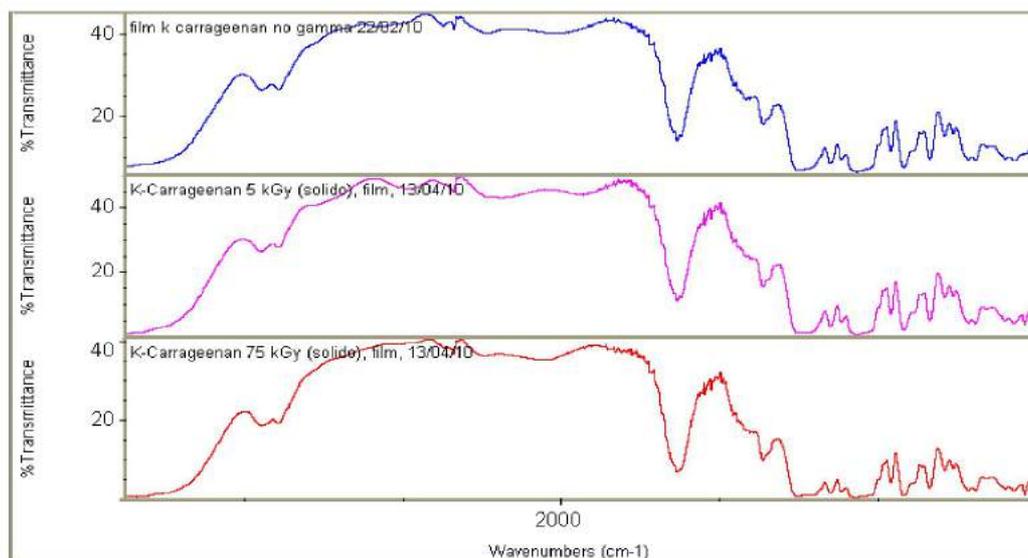


Figura 3.39 Espectro FTIR de k-caragenato (Soriano SA, tipo 200) sin irradiar, a 5 kGy y 75 kGy. Transmittancia vs longitud de onda

Los resultados son similares a los encontrados para alginato en las mismas dosis e irradiados en estado sólido. No hay evidencia de nuevas bandas de absorción.

3.3.3 Irradiación en estado pastoso

Cuando las concentraciones de los polímeros se encuentran en el orden 20 % - 60 % el sistema es llamado pastoso ("paste-like state") (Zhao 2009). En nuestro trabajo es empleado el ácido acrílico (AA, Sigma Aldrich) en distintas concentraciones con el objeto de lograr un injerto del monómero en la estructura del polisacárido.

Este tipo de copolimerización está recientemente siendo estudiada por métodos químicos, puesto que hay un gran interés en emplear polisacáridos naturales modificándolos con monómeros sintéticos para mejorar sus propiedades como por ejemplo su grado de hinchamiento y con ello su interés en aplicaciones industriales (Sadaghi 2014).

a) Preparación de la muestra alginato-ácido acrílico

Se selecciona una concentración de polisacárido de 40 % m/v con soluciones acuosas de ácido acrílico en dos concentraciones al 50 % y al 10 % m/v.

20 g de alginato de sodio en polvo se coloca en un vaso de Teflón y se adiciona 30ml de solución acuosa de ácido acrílico. Se mezcla homogéneamente y estas muestras son transferidas a viales de vidrio para su irradiación. Así se irradia en la PISI a dosis finales de: 5 kGy, 12.5 kGy, 25 kGy, 50 kGy, and 75 kGy, a temperatura ambiente y tasa de dosis de 10 kGy/h.

Las muestras irradiadas, se lavan y se preparan para su determinación por FTIR mezcladas con KBr (300 mg: 2 mg muestra) formando pastillas por compresión y vacío.

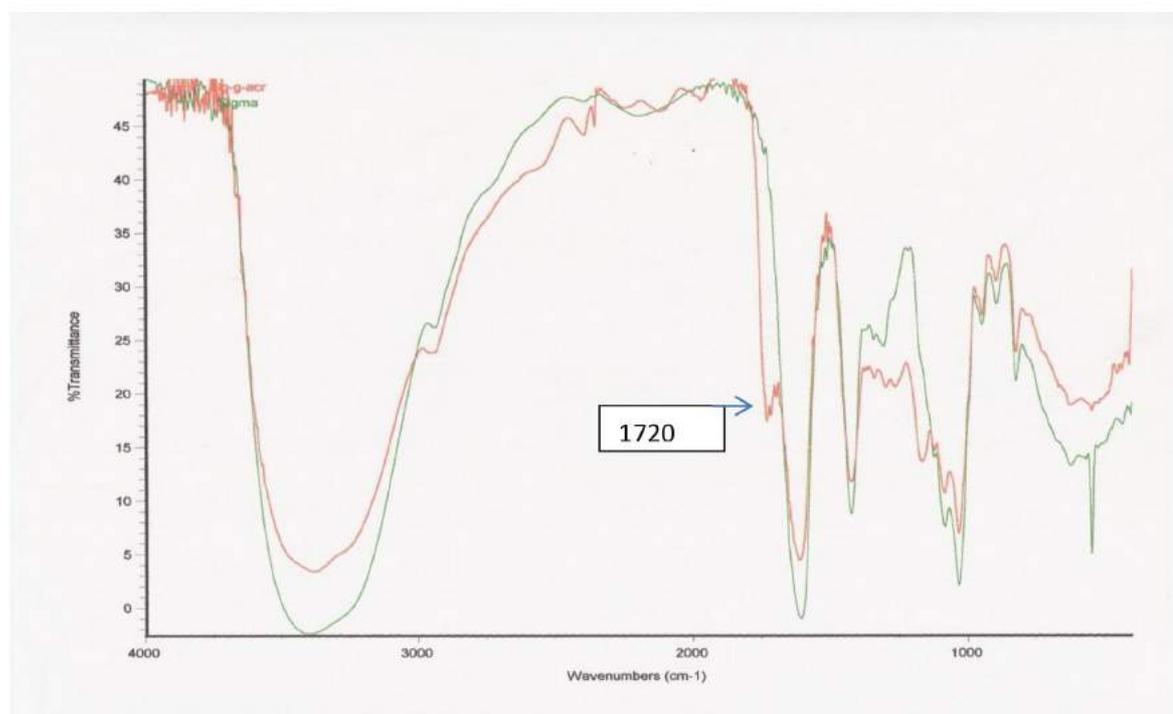


Figura 3.40: Espectro FTIR de alginato de sodio (verde) y alginato de sodio-g-pAAc obtenido por irradiación en estado pastoso a 25 kGy

Para evaluar los posibles entrecruzamientos entre los polímeros de ácido acrílico y alginato, se emplea FTIR para muestra de alginato, de ácido poliacrílico y muestras de ambos compuestos sometidos a polimerización y copolimerización bajo radiación gamma.

Los espectros encontrados son de pastillas con KBr según el protocolo de preparación establecido. Se registran barridos entre 4000-400 cm^{-1} .

El espectro de alginato muestra un pico ancho cerca de $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a los grupos O-H típico de los polisacáridos, un fuerte pico de absorción cercano a 1620 cm^{-1} debido a las vibraciones asimétricas del grupo COO^- , dos picos en aproximadamente 1420 y 1320 cm^{-1} debido a los grupos C-H de los alcoholes secundarios, y tres picos en aproximadamente 1120 , 1090 y 1030 cm^{-1} debido a la vibración asimétrica de los grupos C-O-C, del estiramiento de C-O en la estructura CH-OH, y la banda de vibración simétrica de estiramiento del C-O en la estructura de C-O-C, respectivamente. También en este caso se puede observar el pico en 820 cm^{-1} debido a Na-O.

Una muestra típica de ácido acrílico tiene bandas de estiramiento de grupos OH en la zona 3200 cm^{-1} , estiramiento del grupo carbonilo en 1700 cm^{-1} , y una banda en 2670 cm^{-1} característica de una vibración de estiramiento del enlace C-H y en 1440 cm^{-1} , se muestra una banda de deformación correspondiente al enlace O-H. Por último, a 1245 cm^{-1} una banda vibracional de estiramiento del enlace C-O.

El injerto se confirma mediante la comparación de los espectros FTIR del sustrato polisacárido con la de los productos injertados. En los espectros de la muestra compuesta, se evidencia un nuevo pico en 1720 cm^{-1} correspondiente a la banda de vibración del estiramiento del grupo $-\text{COOH}$, asumiendo la presencia de un injerto en la cadena de alginato, SA-g-pAAc.

Estos resultados son coincidentes con la bibliografía donde se realizan injertos y formación de geles híbridos con el uso de entrecruzadores (Peniche 1999, Yin 2007).

b) Estudios de gelificación post irradiación

Las muestras irradiadas se llevan a soluciones acuosas del 6 % m/v con agua destilada. Para evaluar su poder de gelificación se coloca en placas de Petri 3 ml en forma extendida sobre la superficie y se baña con 5ml de solución de cloruro de calcio al 6 %.

Las muestras de SA-g-PAAC no gelifican en forma de película en ninguna de las dosis aplicadas en contacto con solución de calcio. En cambio, forman geles transparentes, rígidos y con características de hinchamiento en agua destilada, estas características se podrán tener en cuenta para otras aplicaciones, que escapa al alcance del trabajo.

De tal manera, no se pueden evaluar en cuanto a sus propiedades mecánicas, midiendo la fuerza de corte y la fuerza de adhesión al no tener la capacidad de formar geles en forma de film sobre una superficie. Por cuanto, a pesar de evidenciar la posibilidad de hacer un injerto y una simultánea polimerización de ácido acrílico sobre la cadena de alginato en estado pastoso no son materiales que cumplan las características para este trabajo.

3.3.4 Irradiación en estado líquido.

En función de los datos anteriores, y siguiendo con la perspectiva de polimerizar e injertar simultáneamente monómeros en la estructura de un polisacárido, en esta etapa se usa acrilamida como monómero sabiendo de sus propiedades adhesivas y de formación de hidrogeles, ya descrito, lo que implicaría mayor estabilidad en las cadenas (Solpan 2008). Se evalúa la efectividad de una copolimerización en estado líquido a baja tasa de dosis y baja dosis final de tal manera de evitar degradar en forma sustancial a la cadena polimérica pero con la intención de agilizar la movilidad de los radicales necesarios para la reacción.

En principio, cuando se irradia en solución, la acrilamida genera radicales libres de su propio monómero, así mientras la irradiación continúa comienza a entrecruzarse y las cadenas entrecruzadas pueden seguir ramificándose unas con otras, y va ocurriendo la formación de nuevos polímeros ramificados. En la siguiente figura 3.41 se describe la reacción que se quiere realizar (propuesto por Solvan y Guven (Solpan 2008):

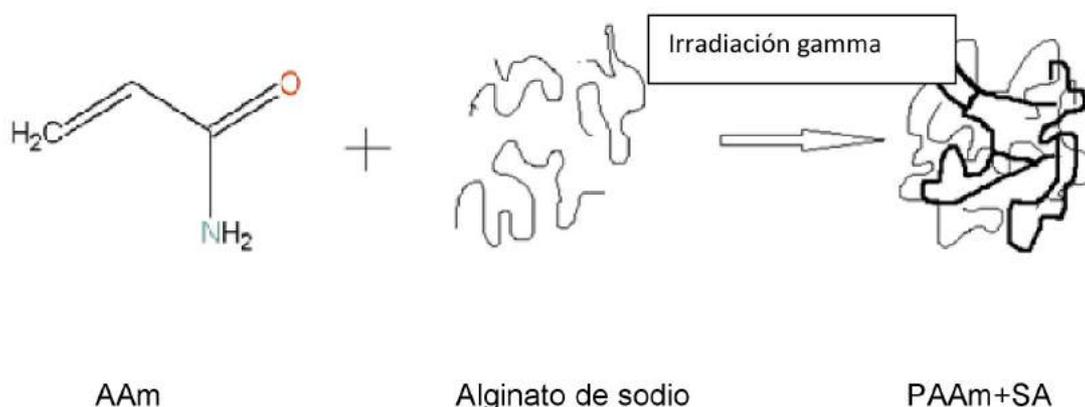


Figura 3.41: Descripción de la formación de un nuevo material de poliacrilamida (PAAm) y alginato de sodio (SA) entrecruzados por irradiación, a partir de acrilamida (AAM)

a) Preparación de la muestra de alginato de sodio y acrilamida

Las soluciones se conforman con una mezcla acuosa de alginato de sodio (Sigma, 38000 g/mol aproximadamente) en 6.08 % m/m, preparada con agua bidestilada a temperatura ambiente con agitación constante durante 20 minutos.

Por otro lado, se prepara la solución acuosa de acrilamida (Sigma, 71.1 g/mol) de concentración 17 % m/m con agitación constante durante 15 minutos.

Luego se mezclan volúmenes adecuados para formar soluciones finales con relación molar de acrilamida: alginato de sodio correspondiente a 0.5, 1 y 20 aproximadamente según se muestra en la Tabla 3.14.

Asimismo, se evalúan la influencia de otros solventes como: etanol, glicerol y ácido acético, en concentraciones de 20 % v/v y 40 % v/v (Tablas 3.15, 3.16, 3.17, 3.18).

Tabla 3.14: Masas colocadas de cada compuesto para la formación de mezclas de alginato de sodio (SA), agua, acrilamida (AAm), y su relación molar final.

Serie agua				relación
Muestra	SA (g)	H ₂ O (g)	Aam (g)	molar Aam:SA
blanco	1.82	28.2	0	0
1	3.65	56.4	0.004	0.62
2	1.82	28.2	0.004	1.23
3	3.65	56.4	0.176	25.8

Tabla 3.15: Masas colocadas de cada compuesto para la formación de mezclas de alginato de sodio (SA), agua, acrilamida (AAm), etanol (EtOH), y su relación molar final.

Serie etanol					relación
Muestra	SA (g)	H ₂ O (g)	Aam (g)	EtOH (g)	molar Aam:SA
blanco	1.82	22.2	0	6	0
1	3.65	44.4	0.005	12	0.72
2	1.82	22.2	0.004	6	1.05
3	3.65	44.4	0.157	12	23

Tabla 3.16: Masas colocadas de cada compuesto para la formación de mezclas de alginato de sodio (SA), agua, acrilamida (AAm), ácido acético (CH₃COOH) y su relación molar final.

Serie ácido acético					relación
Muestra	SA (g)	H2O (g)	Aam (g)	CH₃COOH(g)	molar Aam:SA
blanco	1.82	22.2	0	6	0
1	3.65	44.4	0.004	12	0.62
2	1.82	22.2	0.004	6	1.28
3	3.65	44.4	0.160	12	23.5

Tabla 3.17: Masas colocadas de cada compuesto para la formación de mezclas de alginato de sodio (SA), agua, acrilamida (AAm), glicerina (gly) y su relación molar final.

Serie glicerol 20%					relación
Muestra	SA (g)	H2O (g)	Aam (g)	Gly (g)	molar Aam:SA
blanco	1.82	22.2	0	6	0
1	3.65	44.4	0.004	12	0.58
2	1.82	22.2	0.006	6	1.81
3	3.65	44.4	0.151	12	22.1

Tabla 3.18: Masas colocadas de cada compuesto para la formación de mezclas de alginato de sodio (SA), agua, acrilamida (AAm), glicerina (gly) y su relación molar final.

Serie glicerol 40%					relación
Muestra	SA (g)	H2O (g)	Aam (g)	Gly (g)	molar Aam:SA
blanco	1.82	16.2	0	12	
1	3.65	32.4	0.006	24	0.82
2	1.82	16.2	0.004	12	1.28
3	3.65	32.4	0.153	24	22.40

Las irradiaciones de las soluciones se realizan en viales de vidrio de 20 ml cerrados, a temperatura ambiente y se colocan sobre la superficie de un Gammacell, donde se tiene una dosis finales de 0.5 kGy a 1 kGy con una tasa de dosis de 1 kGy/día.

b) Evaluación de los parámetros de adhesión

Posterior a la irradiación, las muestras se preparan para su gelificación en los soportes adecuados junto a una solución de Ca²⁺. Las mediciones de

adhesividad se realizan con el instrumento diseñado para tal fin y se trabaja con el valor medio de cada solución obtenida (n = 3 - 5)

Los resultados obtenidos de la medición de la fuerza de adhesión y de la fuerza de corte se detallan en las siguientes tablas en función de la composición final del hidrogel en base a SA:Aam.

Tabla 3.19: Variación de los parámetros de adhesión con la dosis en soluciones de SA-AAm-agua

Relación molar	Dosis	Fuerza de adhesión	Fuerza de corte
AAm/SA	(kGy)	(N)	Pa (N/m ²)
0	0	0.14±0.02	0.97±0.15
	1	0.18 ± 0.07	1.24±0.43
	2	0.21 ± 0.01	1.40±0.05
0.6	1	0.19 ± 0.03	1.30±0.18
	2	0.21 ± 0.03	1.40±0.18
1.2	1	0.24 ± 0.09	1.60±0.57
	2	0.31 ± 0.04	2.09±0.23
25.8	1	0.17 ± 0.04	1.15±0.25
	2	0.25 ± 0.03	1.64±0.23

Tabla 3.20: Variación de los parámetros de adhesión con la dosis en soluciones de SA-AAm-etanol al 20 %

Relación molar	Dosis	Fuerza de adhesión	Fuerza de corte
AAm/SA	(kGy)	(N)	Pa (N/m ²)
0	0	0.24 ± 0.02	1.63 ± 0.14
	1	0.26 ± 0.05	1.73 ± 0.33
	2	0.20 ± 0.02	1.32 ± 0.12
0.7	0.5	0.20 ± 0.01	1.34±0.06
	1	0.30 ± 0.07	1.99±0.44
	2	0.22 ± 0.02	1.45±0.13
1.1	1	0.34 ± 0.07	2.28±0.44
	2	0.22 ± 0.02	1.47±0.17
23.0	0.5	0.23 ± 0.04	1.52±0.24
	1	0.21± 0.01	1.45±0.04
	2	0.26 ± 0.04	1.71±0.24

Tabla 3.21: Variación de los parámetros de adhesión con la dosis en soluciones de SA-AAm-ácido acético al 20 %

Relación molar	Dosis	Fuerza de adhesión	Fuerza de corte
AAm/SA	(kGy)	(N)	Pa (N/m ²)
0	0	0.14 ± 0.01	1.11 ± 0.10
	1	0.14 ± 0.05	0.91±0.31
	2	0.16 ± 0.01	1.08±0.02
0.6	1	0.09 ± 0.02	0.57±0.16
	2	0.17 ± 0.01	1.11±0.07
1.3	1	0.10 ± 0.04	0.65±0.23
	2	0.14 ± 0.02	0.92±0.14
23.5	1	0.08 ± 0.02	0.54±0.11
	2	0.24 ± 0.04	1.61±0.24

Tabla 3.22: Variación de los parámetros de adhesión con la dosis en soluciones de SA-AAm-glicerol al 20 %

Relación molar	Dosis	Fuerza de adhesión	Fuerza de corte
AAm/SA	(kGy)	(N)	Pa (N/m ²)
0	0	0.16 ± 0.01	1.11±0.44
	1	0.24 ± 0.01	1.61±0.05
	2	0.21 ± 0.02	1.42±0.13
0.6	0.5	0.17 ± 0.07	1.15±0.45
	1	0.25 ± 0.03	1.65±0.18
	2	0.20 ± 0.02	1.32±0.17
1.8	1	0.20 ± 0.01	1.32±0.01
	2	0.21 ± 0.01	1.38±0.05
22.1	0.5	0.20 ± 0.01	1.33±0.02
	1	0.25 ± 0.03	1.64±0.23
	2	0.20 ± 0.02	1.32±0.17

Tabla 3.23: Variación de los parámetros de adhesión con la dosis en soluciones de SA-AAm-glicerol al 40 %

Relación molar AAm/SA	Dosis (kGy)	Fuerza de adhesión (N)	Fuerza de corte Pa (N/m ²)
0	0	0.14 ± 0.01	0.94±0.10
	1	0.25 ± 0.10	1.70±0.60
	2	0.23 ± 0.02	1.51±0.13
0.8	0.5	0.18 ± 0.03	1.23±0.18
	1	0.15 ± 0.02	0.99±0.13
	2	0.23 ± 0.04	1.57±0.26
1.3	1	0.12 ± 0.01	0.83±0.08
	2	0.20 ± 0.03	1.35±0.17
22.4	0.5	0.27± 0.05	1.77±0.30
	1	0.11 ± 0.03	0.76±0.19
	2	0.19 ± 0.01	1.28±0.08

La variación de la fuerza de adhesión (N) en función de la relación molar de AAm:SA, a distintos solventes, con dosis final de 1 kGy se observa en la tabla 3.24 y en la figura 3.41

Tabla 3.24: Fuerza de adhesión (N) vs AAm:SA con diferentes solventes agua, glicerol y etanol (20 % m/m) a 1 kGy de dosis final.

Solvente	Relación SA:AAm			
	0	0.6	1	24
Agua	0.18 ± 0.07	0.19 ± 0.03	0.24 ± 0.09	0.17 ± 0.04
Glicerol	0.24 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.20 ± 0.01	0.25 ± 0.03
Etanol	0.26 ± 0.05	0.30 ± 0.07	0.34 ± 0.07	0.21 ± 0.01

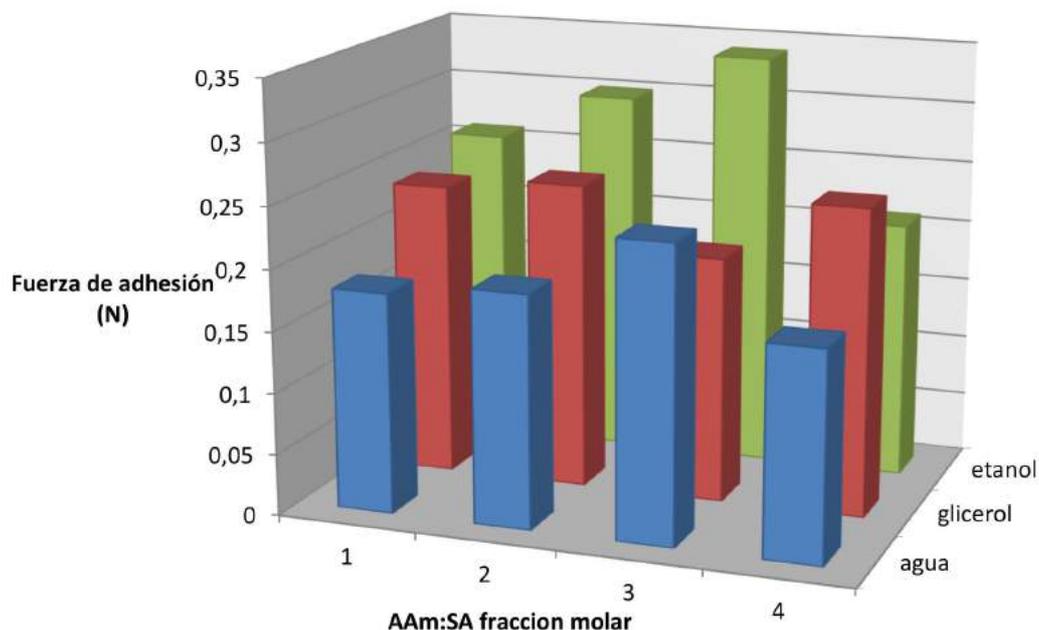


Figura 3.42: Cuadro comparativo de la fuerza de adhesión (N) en distintos films irradiados a 1 kGy en presencia de agua, etanol y glicerol, a distintas concentraciones del monómero 0, 0.6, 1 y 24 (1, 2, 3 y 4 respectivamente).

El diagrama de bloques de la Figura 3.42 muestra los resultados de las mediciones de la fuerza de adhesión de los films de soluciones de alginato puro adicionando 20 % glicerol y 20 % etanol, (rojo y verde respectivamente), irradiados a 1 kGy y relaciones molares variables de acrilamida:alginato de sodio de 0; 0.6, 1 y 24.

Con una simple observación se puede afirmar que el agregado de acrilamida aumenta la fuerza de adhesión en soluciones acuosas y en etanol, manteniéndose constante para glicerol.

Las mezclas con mayor grado de fuerza de adhesión y resistencia al corte son en solución acuosa y con etanol al 20 % en una relación aproximada de monómero y polisacárido 1:1 molar para 1 kGy.

Las composiciones con cada uno de los solventes se las compara con su blanco que llamaremos a las mezclas sin acrilamida, así tendremos 5 series en forma independientes, en dosis variables de 1kGy - 2 kGy, siendo los resultados muy significativos.

En solución acuosa la fuerza de adhesión y la resistencia al corte aumentan con respecto al aumento de dosis sin monómero presente, el mismo fenómeno ocurre con las soluciones con glicerol en las dos concentraciones evaluadas. Para las mezclas con etanol y ácido acético como segundo solvente, no hay diferencias significativas entre las muestras irradiadas a dosis 1 kGy – 2 kGy sin monómero presente.

Para la comparación de los resultados con respecto a la incorporación de acrilamida y la irradiación, se tendrá en cuenta estos valores tomados como blanco o situación inicial.

Al considerar todos los parámetros como concentración del monómero, los solventes y las dosis, los máximos incrementos en las fuerzas de adhesión y de corte se observaron en:

Solución acuosa, un máximo de 48 % en fuerza de adhesión y 49% resistencia al corte para dosis de 2 kGy y concentración de acrilamida: alginato igual a 1.2 (Figura 3.43).

En el uso de segundos solventes se observan para etanol un incremento máximo de 30 % en la fuerza de adhesión y 31 % en la de corte, a dosis de 1 kGy y relación molar de 1:1.

Mientras que con ácido acético se observa un incremento solo cuando la concentración de acrilamida es alta, a dosis 2 kGy.

Las fuerzas de adhesión para soluciones de alginato y acrilamida con glicerol como segundo solvente en sus dos concentraciones (20 % y 40 %) no presentaron una diferencia significativa en el aumento de las fuerzas de adhesión y de corte cuando se irradian a dosis de 1 kGy – 2 kGy con respecto a sus valores iniciales.

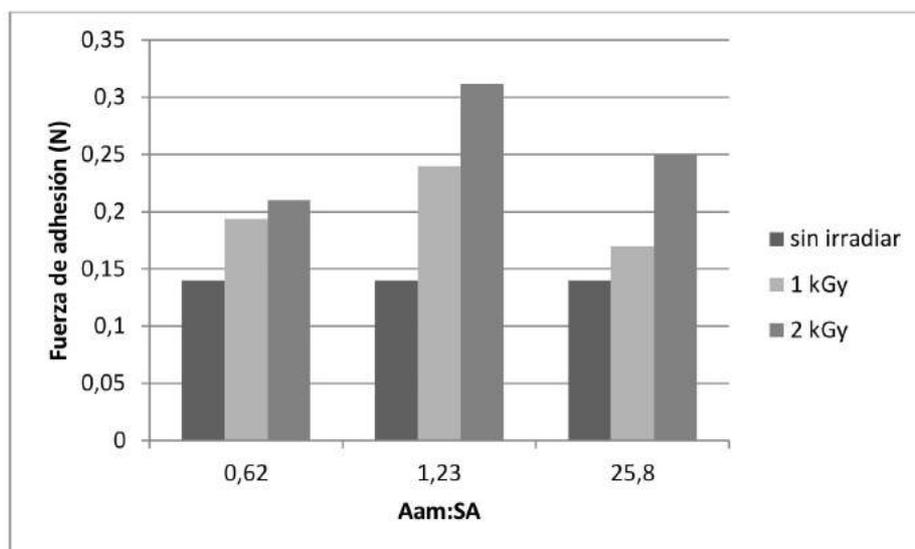


Figura 3.43: Gráfico comparativo de la fuerza de adhesión (N) de los films formados por soluciones acuosas de alginato de sodio con acrilamida sin irradiación e irradiadas a 1 kGy y 2 kGy.

Finalmente, los resultados sugieren que la adición de acrilamida a soluciones acuosas de alginato de sodio en una relación aproximada de 1,2 molar , irradiadas a 2 kGy mejora la fuerza de corte y adhesión.

c) Evaluación de la viscosidad

Las mediciones se lleva a a cabo en los viscosímetros de vidrio tipo Oswald ($k_1= 0,92 \pm 0,04$ cSt/seg y $k_2= 4,6 \pm 0,3$ cSt/seg), a Temperatura de 20.0 ± 0.1 °C.

Tabla 3.25: Viscosidad de soluciones de SA-AAm-agua, T= 20 °C

Viscosidad (cSt)				
Relación AAm/SA	molar	No γ	~ 1 kGy	~ 2 kGy
0		2795	1427.5	415.0
0,6			1269.6	623.3
1,2			1556.3	535.9
25,8			2525.4	1529.5

Tabla 3.26: Viscosidad de soluciones de SA-AAm-Glicerol 40 %, T = 20 °C

Viscosidad (cSt)				
Relación AAm/SA	molar	No γ	~ 1 kGy	~ 2 kGy
0			4738.0	
0,8			5543.0	4462.0
1,3			6150.2	4425.2
22,4			6283.6	5179.6

Tabla 3.27: Viscosidad de soluciones de SA-AAm-etanol 20 %, T = 20 °C

Viscosidad (cSt)				
Relación AAm/SA	molar	No γ	~ 1 kGy	~ 2 kGy
0		4579.8	3210.8	1876.8
0,7			2829.0	2214.9
1,1			2879.6	1899.8
23,0			3657.0	2654.2

Tabla 3.28: Viscosidad de soluciones de SA-AAm-ácido acético 20 %, T = 20 °C

Viscosidad (cSt)				
Relación molar AAm/SA	No γ	~ 1 kGy	~ 2 kGy	
0	4343.9	846.4		
0,6		1253.5	694.6	
1,3		1023.5	648.6	
23,5		1023.5	754.4	

Tabla 3.29: Viscosidad de soluciones de SA-Aam-Glicerol 20 %, T = 20 °C

Viscosidad (cSt)				
Relación molar AAm/SA	No γ	~ 1 kGy	~ 2 kGy	
0		2840.5	2083.8	
0,6		2911.8	2369.0	
1,8		2964.7	2164.3	
22,1		3780.1	2833.6	

En solución acuosa la viscosidad disminuye a la mitad (50 %) con la primera irradiación de 1 kGy. A 2 kGy disminuye un 85% con respecto a la misma solución sin irradiar.

En etanol y glicerina la viscosidad disminuye entre 30 % -60 % para 1 kGy y 2 kGy.

Mientras que las soluciones con ácido acético como segundo solvente disminuye notablemente un 85 % y se mantiene independiente de la dosis.

En cuanto a la concentración de acrilamida en la solución, la viscosidad disminuye al disminuir la concentración.

d) Espectroscopia FTIR

Para evaluar los posibles entrecruzamientos entre los polímeros de acrilamida y alginato, se emplea FTIR para geles de alginato, geles de poli(acrilamida) y geles intermedios de ambos polímeros sometidos a polimerización y copolimerización bajo radiación gamma.

Los espectros encontrados son de films secos y reservados en el laboratorio para su medición. Se registran barridos entre 4000-400 cm^{-1} .

El gel de alginato muestra un pico ancho cerca de 3600-3200 cm^{-1} que ya hemos descrito que corresponde a los grupos O-H típico de los polisacáridos, un fuerte pico de absorción cercano a 1620 cm^{-1} debido a las vibraciones asimétricas del grupo COO-, dos picos en aproximadamente 1420 y 1320 cm^{-1} debido a los grupos C-H de los alcoholes secundarios, y tres picos en aproximadamente 1120, 1090 y 1030 cm^{-1} debido a la vibración asimétrica de los grupos C-O-C, del estiramiento de C-O en la estructura CH-OH, y la banda de vibración simétrica de estiramiento del C-O en la estructura de C-O-C, respectivamente.

Un gel típico de poli(acrilamida) da espectros que tienen bandas a 3360 cm^{-1} y 3200 cm^{-1} , que corresponde a señales de estiramiento del grupo N-H, y en 1670 cm^{-1} para estiramiento del grupo C=O. Las bandas a 1620 cm^{-1} (deformación de amina primaria N-H), 1420 cm^{-1} (estiramiento de C-N), 1350 cm^{-1} (deformación C-H) también se han detectado (Sun J 2012).

El injerto se confirma mediante la comparación de los espectros FTIR del sustrato polisacárido con la de los productos injertados. En los espectros del gel híbrido, un nuevo pico en 1280 cm^{-1} siendo el estiramiento de amida secundaria. También muestra una nueva banda característica a 1680 cm^{-1} que permite verificar la formación de alginato-g-PAAm. Este pico atribuido a C=O se extiende en grupos funcionales carboxamida de PAAm. La banda ancha en 3200-3400 cm^{-1} se debe al estiramiento de los grupos-OH de alginato y que se solapa con la banda de estiramiento de los grupos -NH.

Además, la intensidad de las bandas de absorción (1620, 1420 cm^{-1}) que están relacionados con amida primaria, y la intensidad de NH₂ en el plano de oscilación de pico se redujeron (1120 cm^{-1}). Las intensidades de pico de estiramiento de O-H (3400 cm^{-1}), el estiramiento en la estructura CH-OH (1090 cm^{-1}), y el estiramiento simétrico en la estructura de C-O-C (1030 cm^{-1}) se han disminuido. No se observa el grupo Na-O en 820 cm^{-1} . Este resultado indica nuevos enlaces formados entre grupos-NH₂ de poli(acrilamida) y los grupos carboxilos de alginato.

Estos resultados son coincidentes con la bibliografía donde se realizan injertos y formación de geles híbridos con el uso de entrecruzadores (Sun J 2012, Rezanejade Bardajee 2008, Sadegui 2014) (Figura 3.45)

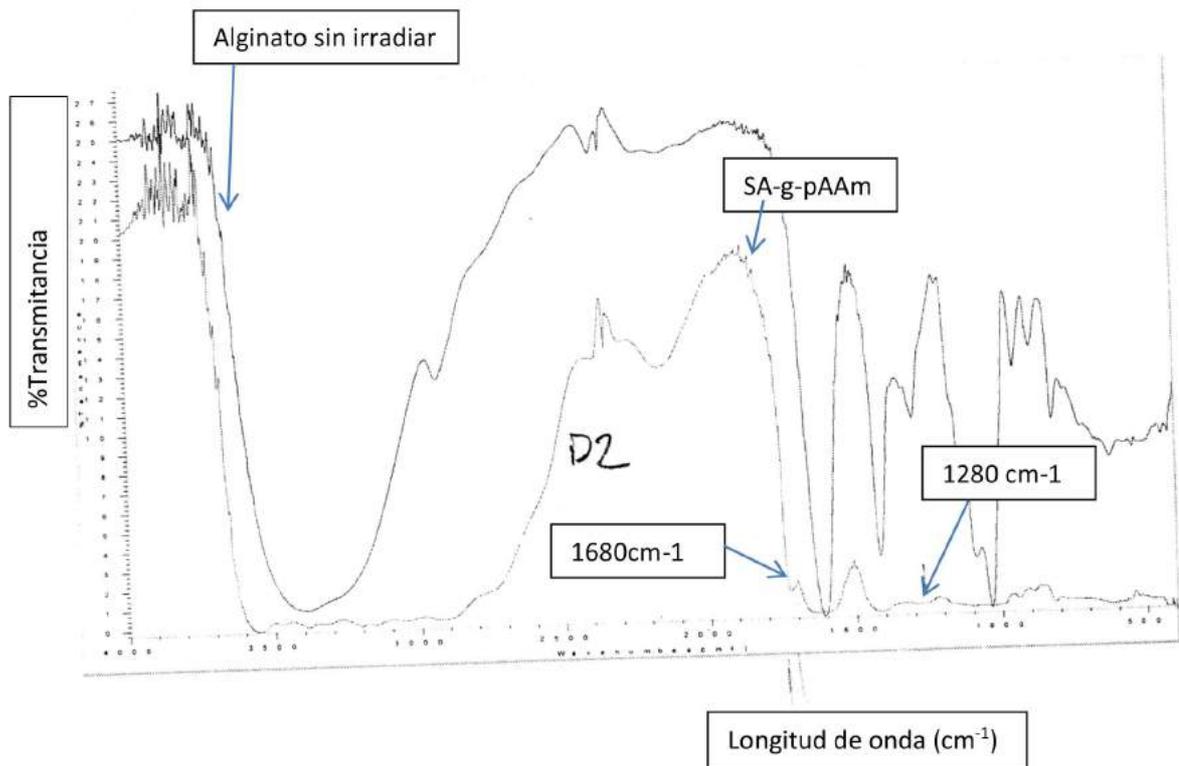


Figura 3.44: Espectro FTIR de alginato de sodio (Sigma) junto al material obtenido de alginato de sodio copolimerizado con acrilamida (SA-g-pAAm)

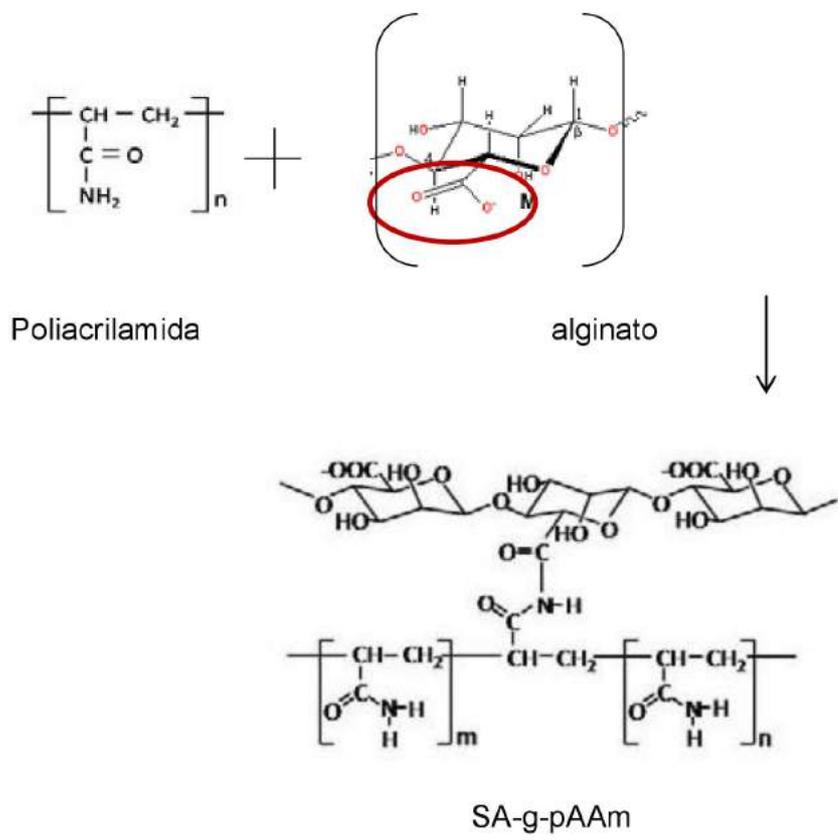


Figura 3.45: Esquema de formación de la polimerización del alginato de sodio con poliacrilamida. (SA-g-pAAm) (Sun J.2012)

3.4 Hidrogeles con aplicación en curación de heridas

Actualmente en el mercado se conoce un hidrogel con características atípicas para hidrogeles puesto que tiene como componente principal el glicerol. En este trabajo se estudiara la posibilidad de polimerizar acrilamida aplicando radiaciones ionizantes en presencia de glicerol como solvente y evaluar sus propiedades para su potencial aplicación en heridas.

Las características más representativas de este nuevo compuesto en general están vinculadas a:

- El hidrogel debe formar una barrera contra la excesiva pérdida de fluido corporal.
- Permitir la difusión de oxígeno hacia la herida.
- Ser suave y elástico pero mecánicamente fuerte.
- Poseer una buena adhesión a la herida y a la piel sana, pero sin tendencia a la pegajosidad excesiva ya que debe permitir su remoción sin dolor o cambio sin perturbar el proceso de curación.
- Debe ser transparente de modo que pueda ser monitoreado el proceso de curación, sin necesidad de removerlo.
- Aliviar el dolor y proveer un ambiente óptimo de humedad constante para la curación de la herida.
- Ser estéril y fácil de usar.
- Barrera a infecciones
- Con capacidad de adquirir formas específicas
- Refrescante

El uso de la radiación ionizante para la formación y modificación de hidrogeles tiene grandes ventajas generales resolviendo problemas como: la esterilización, ausencia de iniciadores con residuos tóxicos, y se adapta fácilmente a los niveles de producción a gran escala.

3.4.1 Formación de hidrogeles en base de acrilamida, agua y glicerol

La selección de acrilamida como un monómero hidrofílico para esta composición siendo el agente fundamental en la formación de la estructura polimérica se debe a varios factores; en general de bajo costo, soluble en agua, neutro y biocompatible, y también es conocida por sus múltiples aplicaciones en el campo de la biotecnología y biomédicos.

En la actualidad se encuentra un producto comercial que contiene en su composición 10 % - 25 % de un polímero sintético y glicerina en el orden del 60

% , con al menos 11 patentes en Estados Unidos.

Conociendo esta posibilidad, se toma de base este valor de glicerina, con la que se realizan los primeros hidrogeles tratados con radiación ionizantes en concentraciones variables de glicerol (37 % al 60 %) y de acrilamida disminuyendo la relación polímero-solvente.

El monómero de acrilamida (AAm) (Sigma) se emplea glicerol (Gly) (Anedra) y agua destilada. Se pesan las masas relativas para lograr una disolución en agua y otra disolución en glicerol usando la balanza analítica. Luego se mezclan en un vaso de precipitados con agitación constante ambas soluciones que son enviadas a la planta de irradiación para su tratamiento con radiaciones ionizantes, en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con un volumen aproximado de 15 ml.

La irradiación se lleva a cabo en la PISI donde se emplea ^{60}Co como fuente de rayos gamma, se realiza en atmosfera de aire y a temperatura ambiente.

La dosis final recibida fue hasta 30 kGy, con una tasa de dosis de 10 kGy/h aproximadamente. Las dosis fueron determinadas empleando dosímetros convencionales y calibrados bajo protocolo de la CNEA.

Estas dosis empleadas y su tasa son consideradas altas y están por encima de la dosis requerida para esterilización del producto.

En la Tabla 3.30 se observa un detalle de los resultados obtenidos con este ejercicio de barrido composicional.

Tabla 3.30: Composiciones de hidrogeles con base polimérica pAAm. La columna del cociente entre el % del polímero y el de la glicerina, indica además el estado físico del hidrogel.

FORMULACIONES	COMPOSICIONES (% m/m)				Estado
	Gly	AAm	H ₂ O	AAm/Gly	
I	40	40	20	1.00	aceptable
II	37	34	29	0.92	aceptable
III	44	24	32	0.55	pegajoso
IV	50	22	28	0.44	pegajoso
V	60	18	22	0.30	muy pegajoso

Los resultados obtenidos variando el contenido de glicerina, demostraron la imposibilidad de disminuir la pegajosidad de los hidrogeles a un nivel aceptable al menos que el contenido del mismo fuera del orden de 40 % o menor. Las muestras no se pueden desprender del soporte con facilidad y se muestran excesivamente elásticas.

Estudio del hinchamiento

Las composiciones llamadas I y II, son las que poseen características más aplicables para nuestro sistema, y por ello se les realiza el estudio de hinchamiento (swelling en inglés), calculando el porcentaje para comprender la naturaleza del producto formado (Nagasawa 2004, Liu 2005, Valles 2000).

Un ejemplo del comportamiento de estos hidrogeles se encuentra detallado en la Tabla 3.31 y representado gráficamente en la Figura 3.46.

Tabla 3.31: Grado de hinchamiento en solución acuosa en función del tiempo para hidrogeles en composiciones aceptables (a)

Tiempo (min)	Hinchamiento (%)
15	0.4
45	66.1
105	85.4
130	135.8
155	173.5
175	187.3
195	216.3
225	232.5
330	313.2
1365	729.3
1425	766.1
1435	774.1
1485	793.8
1510	820.0
1535	835.7
1550	839.1
1600	839.1
1650	839.1

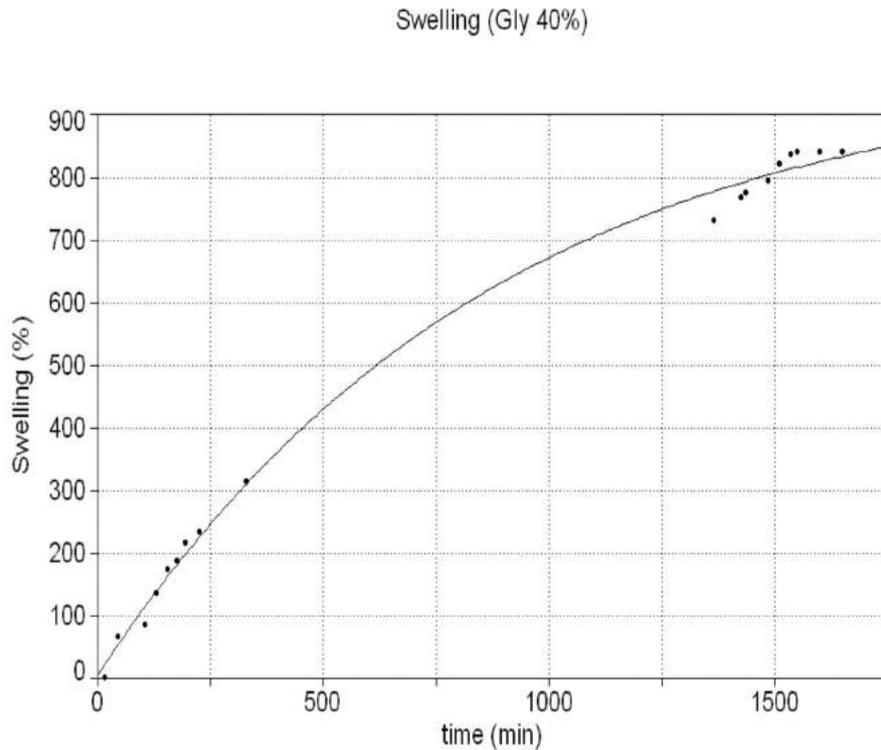


Figura 3.46: Comportamiento en solución acuosa de hidrogeles de pAAm en función del tiempo

El cálculo del porcentaje de hinchamiento se hace mediante la conocida expresión para ello dada por la siguiente ecuación (Nagasawa 2004):

Ecuación 3.12
$$S = \frac{m_s - m_d}{m_d} * 100$$

donde S es el valor del hinchamiento en porciento y ms y md son los pesos de los hidrogeles hinchados y el deshidratado respectivamente.

De la Figura 3.46 puede deducirse que la saturación del hidrogel se realiza asintóticamente después de 27 horas con un valor de 840 veces el peso seco, mientras que la mitad del hinchamiento de equilibrio toma lugar después de aproximadamente 8 horas.

Este comportamiento es similar a los geles obtenidos de poliacrilamida, donde se los considera “super” absorbentes con porcentajes de hinchamiento similares (Saraydin 2014).

Los geles obtenidos por irradiación de una mezcla inicial de glicerina (37 % -40 %), acrilamida (34 % - 40 %) y agua, a 25 kGy aproximadamente, con una tasa de dosis de 10 kGy, en atmósfera de aire y temperatura ambiente, muestran una aceptable transparencia, adquiere la forma del soporte irradiado y es de fácil despegue del mismo sin ruptura.

Sin embargo, la cantidad de glicerina y de polímero no es la recomendada para simular la composición de un modelo comercial tomado como referencia y bajo patente, donde la relación polímero/glicerina es 0.27 aproximadamente (Southwest Technologies Inc, Elasto-Gel TM).

3.4.2 Incorporación de entrecruzadores

Para aumentar el contenido de glicerina en los hidrogeles se diseñaron nuevas composiciones con la introducción de los monómeros funcionales acrílicos compatibles con el polímero básico.

Una de las principales técnicas para la síntesis de hidrogeles es el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas lineales mediante el empleo de pequeñas cantidades de agente entrecruzante. Para ello se emplean monómeros multifuncionales que pueden ser incorporados a las cadenas poliméricas por ambos extremos. Para llevar a cabo el entrecruzamiento de las redes sintetizadas en nuestro trabajo, se ensayaron varios agentes que por lo general, le dan estructura a la red (como los monómeros de grupos acrílicos) y vinculados a la glicerina y a la acrilamida.

Se ensayaron para tal fin los siguientes monómeros:

T: trimetacrilato de trimetilol propano (trimethylol propanetrimethacrylate)

D: glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato (glycerol 1,3 diglycerolate diacrylate)

G: dimetacrilato de dietilen glicol (diethylene glycol dimethacrylate)

M: dimetacrilato de glicerol (glycerol dimethacrylate).

a) Preparación de las muestras

Antes de su introducción estos monómeros que ingresarían como aditivos minoritarios dentro de la composición básica, fueron ensayados para verificar su capacidad de solubilidad dentro de las composiciones básicas.

Las soluciones iniciales se componen de glicerina-acrilamida-agua (Gly-Aam-H₂O) en 40 %, 53,1 %, 61,8 % y 70,5 % de glicerol.

Según el solvente seleccionado para cada entrecruzador se realizan las composiciones finales con 1 %, 2 %, 5 % y 10 % m/m con respecto a acrilamida (Aam) en la solución para su evaluación pos irradiación.

El dimetacrilato de etilen glicol (G) no es soluble en la mezcla inicial en todas las composiciones ensayadas por lo que debe solubilizarse previamente en etanol (1:1).

El trimetacrilato de trimetilol propano (T) no es soluble en la mezcla inicial, por lo que se adiciona glicerol en relacion 1:1. Sin embargo, hay que tener en cuenta que 12 hs posteriores a su preparación las soluciones se separan en dos fases, por los que debe agregarse en el momento previo a la irradiación.

La adición de glicerol dimetacrilato (M) también debe realizarse disolviendo en etanol (1:1) pero presenta polimerización rápida en frío, por lo que debe conservarse a temperatura ambiente durante el período de pre-irradiación.

El agregado de glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato (D) se realiza sin inconvenientes al disolverse en la mezcla inicial.

b) Variación de las composiciones

La Tabla 3.32 muestra la serie de composiciones básicas preparadas con acrilamida con proporciones crecientes de glicerol en valores aproximados de 40 %, 53 %, 62 %, 70 % y 79 % m/m.

Tabla 3.32: Tipo de composiciones básicas seleccionadas incrementando el porcentaje en masa de glicerina (Gly), acrilamida (AAm) y agua.

Muestra N°	Composición (% m/m)		
	Gly	AAm	H ₂ O
I	40.0	30.0	30.0
II	53.0	23.5	23.5
III	62.0	19.0	19.0
IV	70.0	15	15
V	79.0	10.5	10.5

La introducción de los monómeros modificadores de la red fueron incorporados en valores crecientes desde 0,10 a 6,00 % (m/m) en relación con la concentración del polímero base de acrilamida.

La Tabla 3.33 muestra los valores porcentuales de entrecruzador para cada una de las cantidades propuestas para los niveles de los mismos (1 %, 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %) en función del porcentaje del polímero en las composiciones básicas.

Tabla 3.33: Cantidades de entrecruzadores a colocar manteniendo la relación porcentual en las mezclas básicas de acrilamida

Entrecruzador (%)	AAm (% m/m)				
	10.5	15.0	19.0	23.5	30.0
1	0.10	0.15	0.19	0.24	0.30
2	0.20	0.30	0.38	0.48	0.60
5	0.50	0.75	0.95	1.18	1.50
10	1.05	1.50	1.90	2.35	3.00
15	1.57	2.25	2.85	3.53	4.50
20	2.10	3.00	3.80	4.70	6.00

Dado la variedad de posibles composiciones ensayadas se utiliza un código para identificarlas de la siguiente manera:

Se emplea un conjunto de tres símbolos para ellas donde el primero es la composición básica elegida, el segundo es la letra que identifica al monómero agregado y la tercera letra indica la participación porcentual del mismo respecto al polímero pAAm de acuerdo a:

U: 1 %
S: 2 %
C: 5 %
Z: 10 %
Q: 15 %
V: 20 %

Una determinada composición tendrá una identificación como por ejemplo; 1TU, que significa: fórmula básica 1, con un porcentaje U del aditivo T. En esta etapa se considera la introducción de un solo monómero en cada composición, lo cual se mantendrá dentro de este informe.

Se elaboran de esta manera 120 composiciones diferentes que surgen de tener 5 composiciones básicas, 4 tipos de monómeros funcional y 6 concentraciones distintas de estos monómeros en las mezclas.

El contenido detallado de algunas de las composiciones estudiadas de acuerdo con esta nomenclatura se encuentra representadas en las Tablas 3.34, 3.35, 3.36 y 3.37 para las composiciones con los monómeros funcionales T, D, G y M respectivamente.

Tabla 3.34: Composiciones evaluadas conteniendo diferentes concentraciones de trimetacrilato de trimetilol propano (T), donde U= 1 %, S= 2 %, C= 5 % y Z= 10 % (con respecto a la cantidad de polímero en la composición inicial). Donde gly=glicerol y AAm es acrilamida.

	Gly (%)	AAm (%)	H₂O (%)	T (%)
1TU	40,07	29,82	29,82	0,30
1TS	40,14	29,63	29,63	0,59
1TC	40,34	29,11	29,11	1,45
1TZ	40,66	28,28	28,28	2,79
2TU	53,08	23,34	23,34	0,23
2TS	53,08	23,23	23,23	0,46
2TC	53,05	22,91	22,91	1,12
2TZ	53,02	22,41	22,41	2,17
3TU	61,78	19,01	19,01	0,20
3TS	61,73	18,94	18,94	0,40
3TC	61,61	18,71	18,71	0,98
3TZ	61,41	18,34	18,34	1,90
4TU	70,47	14,67	14,67	0,18
4TS	70,40	14,62	14,62	0,36
4TC	70,20	14,46	14,46	0,88
4TZ	69,87	14,20	14,20	1,73

Tabla 3.35: Composiciones evaluadas conteniendo diferentes concentraciones de glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato (D), donde U= 1 %, S=2 %, C= 5 % y Z= 10 % (con respecto a la cantidad de polímero en la composición inicial). Donde gly=glicerol y AAm es acrilamida.

	Gly (%)	AAm (%)	H₂O (%)	D (%)
1DU	39,88	29,91	29,91	0,30
1DS	39,76	29,82	29,82	0,60
1DC	39,41	29,56	29,56	1,48
1DZ	38,83	29,13	29,13	2,92
2DU	52,97	23,40	23,40	0,23
2DS	52,85	23,35	23,35	0,46
2DC	52,49	23,19	23,19	1,14
2DZ	51,90	22,93	22,93	2,24
3DU	61,69	19,05	19,05	0,20
3DS	61,57	19,01	19,01	0,40
3DC	61,21	18,90	18,90	0,99
3DZ	60,61	18,72	18,72	1,96
4DU	70,42	14,70	14,70	0,18
4DS	70,29	14,67	14,67	0,36
4DC	69,92	14,60	14,60	0,89
4DZ	69,30	14,47	14,47	1,77

Tabla 3.36: Composiciones evaluadas conteniendo diferentes concentraciones de dimetacrilato de dietilen glicol (G), donde U= 1 %, S=2 %, C= 5 % y Z= 10 % (con respecto a la cantidad de polímero en la composición inicial) Donde gly=glicerol, AAm es acrilamida y EtOH corresponde a etanol.

	Gly (%)	AAm (%)	H₂O (%)	G (%)	EtOH (%)
1GU	39,76	29,82	29,82	0,30	0,30
1GS	39,53	29,64	29,64	0,59	0,59
1GC	38,84	29,13	29,13	1,45	1,44
1GZ	37,77	28,32	28,32	2,80	2,79
2GU	52,85	23,35	23,35	0,23	0,23
2GS	52,61	23,24	23,24	0,46	0,45
2GC	51,90	22,93	22,93	1,12	1,11
2GZ	50,79	22,44	22,44	2,17	2,16
3GU	61,57	19,02	19,02	0,20	0,20
3GS	61,33	18,94	18,94	0,40	0,39
3GC	60,61	18,72	18,72	0,98	0,97
3GZ	59,47	18,37	18,37	1,90	1,89
4GU	70,29	14,67	14,67	0,18	0,18
4GS	70,04	14,62	14,62	0,36	0,36
4GC	69,30	14,47	14,47	0,88	0,88
4GZ	68,11	14,22	14,22	1,73	1,72

Tabla 3.37: Composiciones evaluadas conteniendo diferentes concentraciones de dimetacrilato de glicerol (M), donde U= 1 %, S=2 %, C= 5 % y Z= 10 % (con respecto a la cantidad de polímero en la composición inicial) Donde gly=glicerol, AAm es acrilamida y EtOH corresponde a etanol.

	Gly (%)	AAm (%)	H₂O (%)	M (%)	EtOH (%)
1MU	39,75	29,82	29,82	0,30	0,31
1MS	39,51	29,63	29,63	0,59	0,62
1MC	38,81	29,11	29,11	1,45	1,53
1MZ	37,71	28,28	28,28	2,79	2,94
2MU	52,84	23,34	23,34	0,23	0,24
2MS	52,59	23,24	23,24	0,46	0,48
2MC	51,87	22,92	22,92	1,12	1,18
2MZ	50,73	22,41	22,41	2,17	2,29
3MU	61,57	19,01	19,01	0,20	0,21
3MS	61,32	18,94	18,94	0,40	0,42
3MC	60,58	18,71	18,71	0,98	1,03
3MZ	59,41	18,35	18,35	1,90	2,00
4MU	70,29	14,67	14,67	0,18	0,19
4MS	70,03	14,62	14,62	0,36	0,38
4MC	69,27	14,46	14,46	0,88	0,93
4MZ	68,05	14,21	14,21	1,73	1,82

c) Irradiación de las muestras

Se preparan dos formas de hidrogeles para distintos fines. Una de 2 cm³ en tubos tipo Eppendorf para los ensayos de hinchamiento volumétrico y otra en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con un volumen aproximado de 13 ml y espesor de 3 mm.

Todas estas formas fueron dispuestas en forma apropiada para su tratamiento radiológico en la PISI, recibiendo una dosis esterilizante de 25 kGy, a tasa de dosis de 10 kGy/h aproximadamente, en atmosfera de aire y a temperatura ambiente.

Las Figuras 3.47 y 3.48 muestran la disposición de las distintas muestras en los dispositivos de sostén de los hidrogeles para su tratamiento por radiaciones ionizantes.

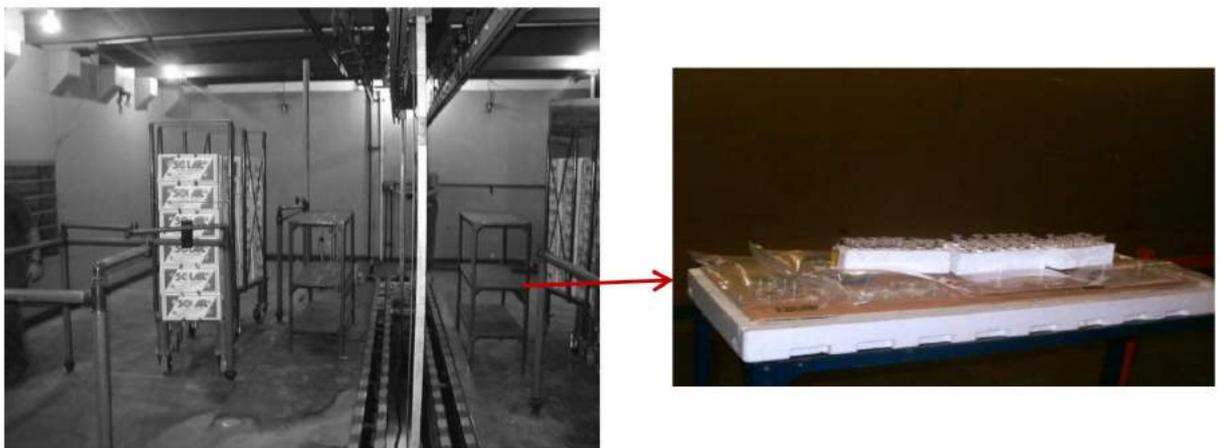


Figura 3.47: Disposición de las muestras para su tratamiento por radiaciones ionizantes. La planta de irradiación y sus posiciones en soportes específicos.



Figura 3.48: Muestras preparadas para su irradiación

De las primeras observaciones físicas (en forma cualitativa) se puede afirmar que los geles obtenidos por radiación ionizante empleando en su composición cualquiera de los entrecruzadores ensayados (T, M, G y D) a concentraciones de glicerina entre 40 % - 50 % son materiales que contienen moderada a nula adherencia. Por lo general, la concentración de los entrecruzadores aumenta, esta propiedad disminuye, mientras que T muestra una moderada y constante adherencia independientemente de la concentración. Los geles que contienen concentraciones de glicerina mayores al 60 % presentan una alta adherencia para los entrecruzadores T y G, mientras que al emplear D y M dan geles con adherencia moderada y maleabilidad, propiedades de nuestro interés. Estas propiedades disminuyen con el aumento de la concentración de los entrecruzadores hasta anularse.

d) Estudio de hinchamiento

Una de las características más importantes y selectiva de los hidrogeles es su capacidad de absorber agua y conserva su forma hinchada. En este apartado, se evalúa la incorporación de agua por un material durante largos períodos de tiempo hasta no observar cambios significativos, donde se cree que se alcanza un equilibrio de hinchamiento (máximo).

Según las teorías termodinámicas clásicas (Flory 1953) la dimensión física de un hidrogel neutro en equilibrio viene determinada por el balance entre la energía libre de mezcla y la energía elástica de la red que se opone a la expansión del gel.

Asimismo, como hinchamiento máximo se entiende a un estado que resulta de un balance entre las fuerzas osmóticas que causan que el agua penetre entre

las cadenas del polímero hidrófilo y las fuerzas cohesivas existentes entre estas cadenas que oponen resistencia a la expansión.

Durante el hinchamiento, las cadenas que conforman la red se estiran. Simultáneamente aparece una fuerza retráctil en oposición al proceso de hinchamiento, ejercida por las cadenas de la red sobre el disolvente contenido en ella. El hinchamiento alcanza su valor máximo, o de equilibrio, cuando se obtiene un balance entre ambas fuerzas. Por cuanto este valor tiene una importancia característica y nos indica el máximo posible de incorporación.

En los ensayos de hinchamiento se emplean hidrogeles en forma cónicas, de 2cm^3 aproximadamente.

Las muestras post irradiación son todas de la misma geometría para no tener problemas en la interpretación de los resultados y su comparación, empleando un procedimiento estándar.

El análisis del hinchamiento se lleva a cabo con agua destilada, a $\text{pH } 7,0 \pm 0,3$, con una temperatura de $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, y en un volumen tal que las proporciones del solvente sean 50 veces mayores al peso de la muestra y se mantuvo constante durante todo el proceso. Las muestras se introducen en el sistema y se dejan hinchar hasta alcanzar el equilibrio.

Con el fin de estudiar la cinética del hinchamiento, a intervalos de tiempo determinados las muestras son extraídas del medio de hinchamiento, secando cuidadosamente su superficie con papel de filtro, pesadas en una balanza analítica, para ser finalmente devueltas al mismo medio. Todo este proceso no debe demorar más de 1 minuto, de tal manera de garantizar que se mantenga las características de la muestra antes y finalizado el mismo.

El grado de hinchamiento normalizado a un tiempo $S(t)$, se calcula en términos de peso de agua por peso de polímero seco empleando la Ecuación 3.12.

Dentro del hinchamiento puede considerarse tanto su valor en el equilibrio (máximo) como la velocidad que tarda en alcanzarlo y el mecanismo a través del cual lo alcanza.

Puesto que el comportamiento de los copolímeros no puede describirse simplemente considerando las características aisladas de los homopolímeros, cada material con composición diferente de monómeros y entrecruzadores da lugar a nuevos fenómenos que deben afectar tanto al equilibrio como a la dinámica de hinchamiento de los geles. Así, se obtienen diversas curvas que forman parte del análisis posterior.

En la Figura 3.49 y la Tabla 3.38 se presentan el hinchamiento máximo (condición de equilibrio) de un hidrogel con 40 % de contenido aproximado de glicerina en función de la concentración del monómero M, dimetacrilato de glicerol. Se debe aclarar que el valor colocado del porcentaje es en relación a la cantidad de AAm en la muestra.

Como puede observarse, este comportamiento es rápidamente decreciente en función del aumento del monómero M de tal manera que disminuye 10 veces, de 900 a 90 %, cuando el monómero varía de 0 a 10.

Tabla 3.38: Valores experimentales del hinchamiento máximo porcentual (de equilibrio) en solución acuosa de los geles de poliacrilamida con glicerina al 40% con variaciones crecientes de entrecruzador M.

M (%)	S (%)
0	839
1	400
2	232
5	154
10	130

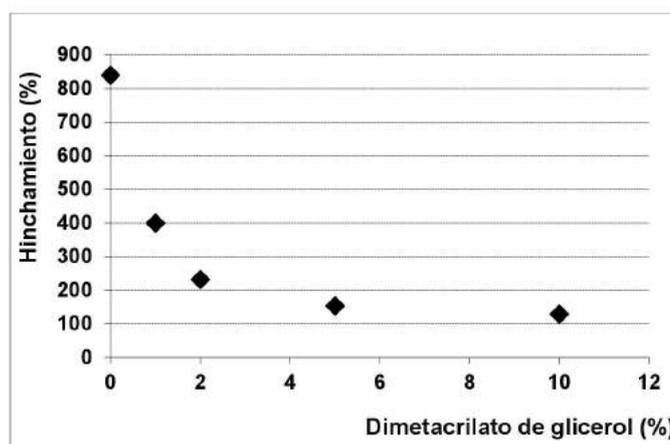


Figura 3.49: Curva de hinchamiento de equilibrio (máximo) para distintos hidrogeles de pAAm, 40% de glicerina en función de la concentración del entrecruzador "M" (dimetacrilato de glicerol)

El comportamiento del hinchamiento de los geles de poliacrilamida, con glicerina al 40% y tomando el entrecruzador M como modelo, se observa en la siguiente figura 3.50 donde varía los porcentajes de M en la muestra.

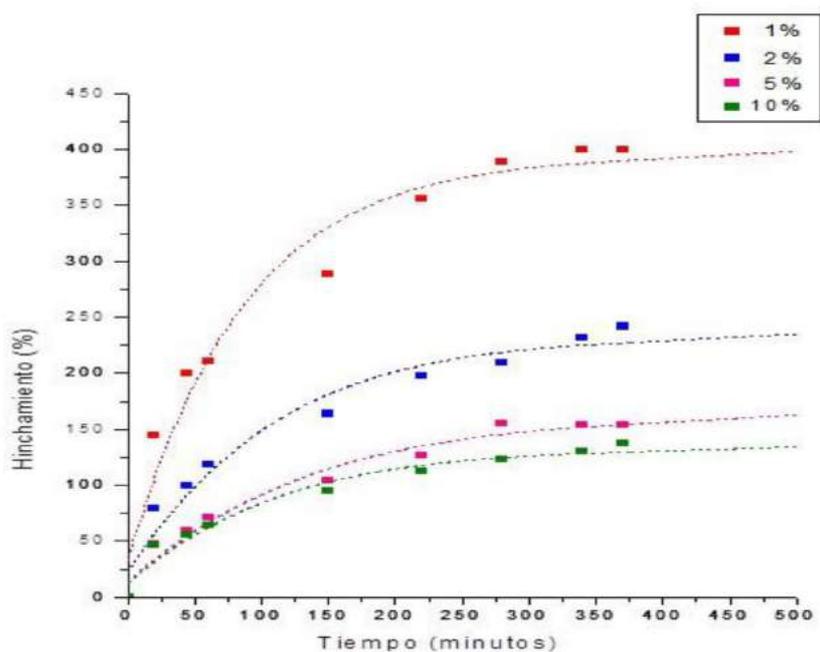


Figura 3.50: Curvas de hinchamiento de hidrogeles de PAAm con 40 % m/m de glicerol y porcentajes variables de entrecruzador dimetacrilato de glicerol "M" (1 %, 2 %, 5 %, 10 %) en función del tiempo.

Las muestras con mayor cantidad de entrecruzador, a la misma cantidad de glicerina y acrilamida, presentan un menor grado de hinchamiento máximo, y también como se observan en las curvas en función del tiempo, alcanzan un 100% de hinchamiento a los 20 minutos, 45 minutos, 150 minutos y 220 minutos cuando tienen 1 %, 2 %, 5 % y 10 % respectivamente. Asimismo, los porcentajes con mayor entrecruzador alcanzan el equilibrio más rápidamente y se mantienen sin disolverse. Los cambios en las curvas en función del tiempo son más notables para los de menor grado de M, mientras que las variaciones en el comportamiento para los geles con 5 % y 10 % no son altamente significativas.

Para estudiar la influencia de la concentración de glicerina en la mezcla, se toma como modelo el sistema del entrecruzador M. Se presentan a continuación los datos en la Tabla 3.39 y la Figura 3.51, donde se observa la variación en la concentración de glicerina y de M.

Tabla 3.39: Datos de hinchamiento máximo (de equilibrio) de hidrogeles de

pAAm, con concentraciones variables de entrecruzador M y glicerol en la formula

Hinchamiento				
Glicerol dimethacrilato [M] %				
Gly (%)	1	2	5	10
40	400.0	232.0	154.1	130.0
53	418.1	247.4	194.6	139.1
62	293.2	249.6	190.8	142.5
70	282.3	223.8	155.7	123.9

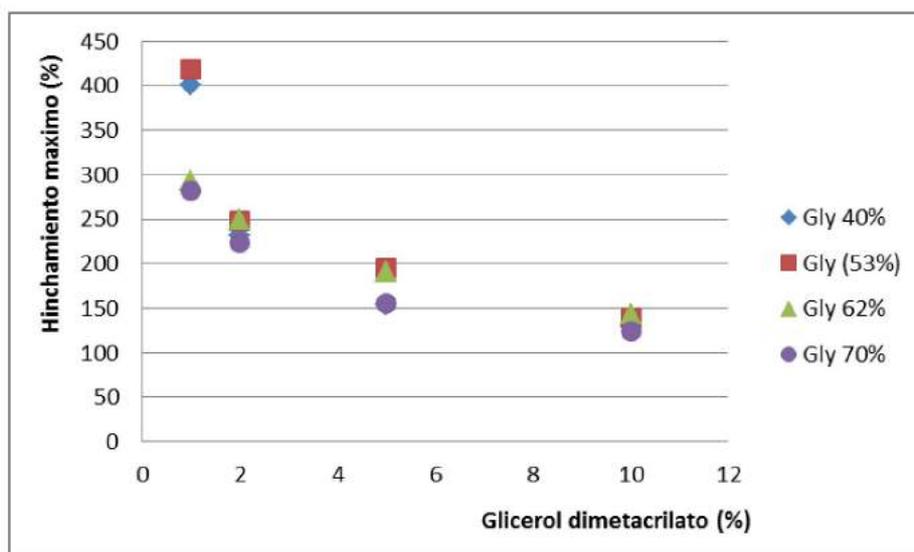


Figura 3.51: Curvas de hinchamiento máximo (de equilibrio) de hidrogeles de pAAm, con concentraciones variables de entrecruzador "M" (1 %, 2 %, 5 %, 10 %) y concentraciones variables de glicerol (40 %, 53 %, 62 %, 70 %)

De los datos anteriores se puede interpretar, que la glicerina no participa del hinchamiento de los geles como un agente principal, mientras que si lo hace el monómero. Esto indicaría que no hay interacciones importantes de expulsión de glicerina y que independiente de su concentración, la mayoría está atrapada en la red polimérica, evitando que salga y pueda dar lugar a espacios libres que intente ocupar el solvente. Se puede trazar una curva general con la media y los intervalos de confianza para unificar el comportamiento.

El siguiente ejemplo la Figura 3.52 y la Tabla 3.40 muestran el hinchamiento porcentual relativo de una serie de hidrogeles con composición de glicerina

creciente y constancia en la adición del monómero funcional (DQ), mostrando nuevamente un comportamiento prácticamente equivalente con un máximo de hinchamiento en 6 a 7 horas y un 50 % de hinchamiento en 90 minutos

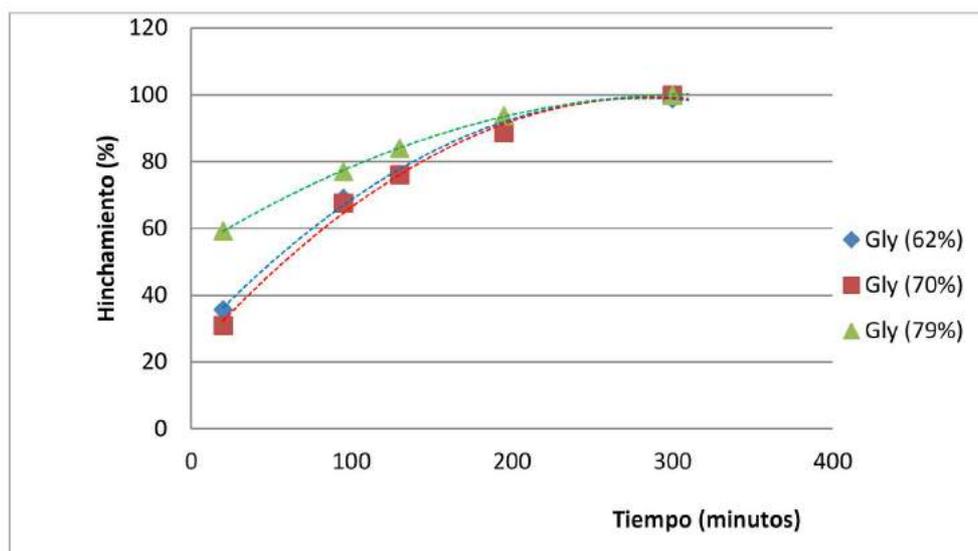


Figura 3.52: Curvas de hinchamiento porcentual relativo en solución acuosa de hidrogeles de pAAm, 15% de entrecruzador “D” y concentraciones variables de glicerina (62, 70 y 79 % m/m) en función del tiempo.

Tabla 3.40: Datos experimentales del hinchamiento porcentual relativo de una serie de hidrogeles de pAAm y 15 % de entrecruzador “D” , y composición de glicerina creciente (62 %, 70 % y 79 %) en función del tiempo.

Muestra	tiempo(min)				
	20	95	130	195	300
3DQ	35.7	69	76.2	91.7	98.9
4DQ	31	67.6	76.1	88.7	100
5DQ	59.3	77	84.1	93.8	100

Como se observa en los gráficos anteriores, a una concentración definida de entrecruzador no hay grandes variaciones en la dinámica de hinchamiento salvo

en la primera media hora para geles con alto contenido de glicerina (80 %). Asimismo, no hay cambios en el estado de equilibrio por lo que se afirma que el contenido de glicerina en los geles de poliacrilamida no interfiere significativamente en la dinámica ni en el hinchamiento máximo. Los comportamientos entre los distintos entrecruzadores tomados como ejemplos son similares.

En conjunto, se demuestra con el gráfico siguiente (Figura 3.53) que tiene similar comportamiento en concentraciones de entrecruzador por encima del 2 % para D y M, en geles de poliacrilamida a la misma concentración de glicerina (60 %), cuando alcanzan los hinchamientos máximos.

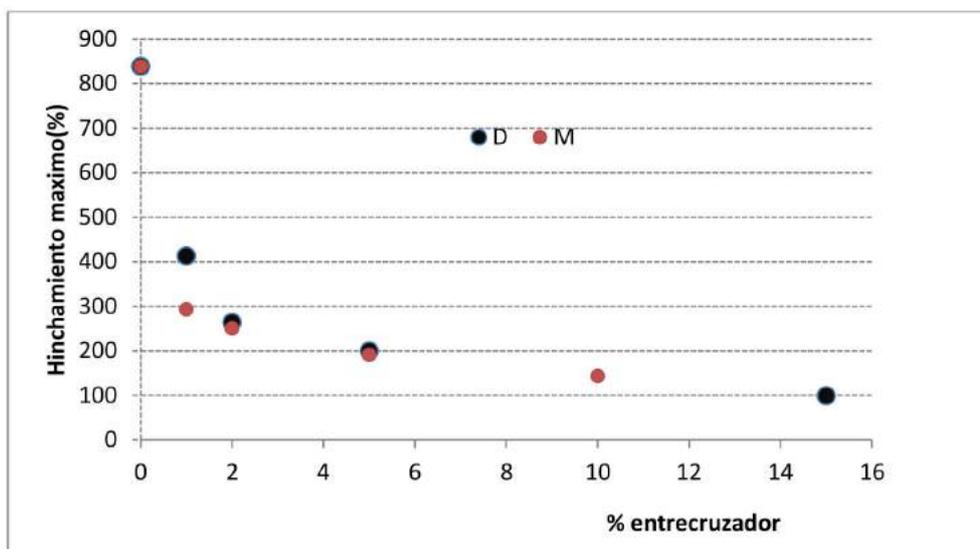


Figura 3.53: Curva de hinchamiento máximo para hidrogel de pAAM, con glicerina al 60 % y concentraciones variables de dos entrecruzadores “D” y “M” (1 %, 2 %, 5 %, 10 %, 15 %).

Además, se presenta el gráfico (Figura 3.54) para observar la dinámica de hinchamiento de los dos entrecruzadores a bajas concentraciones (<2 %) donde se refleja alguna diferencia.

Para concentraciones mayores las curvas son similares para ambos entrecruzadores.

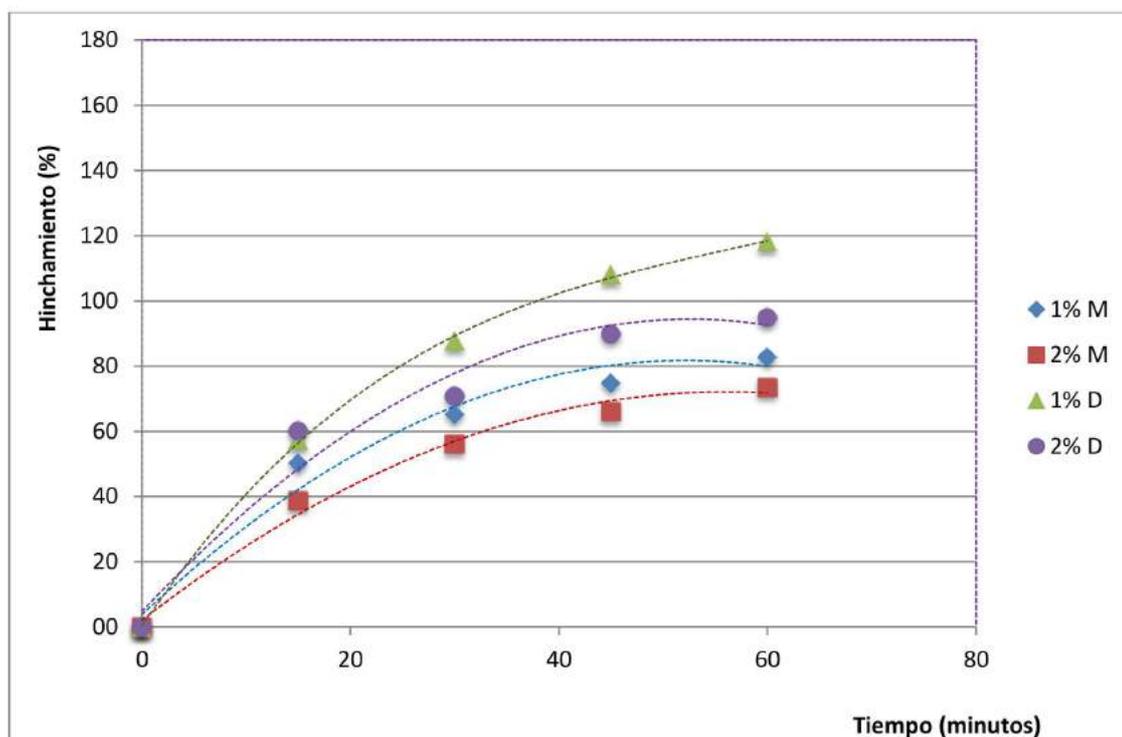


Figura 3.54: Curvas de hinchamiento porcentual de los hidrogeles de pAAm, con glicerina al 62 % y concentraciones variables de dos entrecruzadores "D" y "M", en función del tiempo.

Por otro lado, representaremos los datos experimentales para los geles de poliacrilamida conteniendo M como entrecruzador, con glicerina al 61,8 % (valor requerido como modelos) obtenido durante el hinchamiento en la primera hora en la Tabla 3.41 y su gráfico correspondiente (Figura 3.55)

Tabla 3.41: Datos experimentales de hinchamiento de hidrogeles de pAAm, con glicerina al 62 % y concentraciones variables de entrecruzador "M" (1 %, 2 %, 5 %, 10 %) en función del tiempo.

M(%)	15 min	30min	45 min	60 min
1	50.4	65.4	71.4	78.9
2	38.3	56.2	66.1	73.6
5	34.8	41.8	53.9	63.1
10	28.8	39.7	41.1	47.9

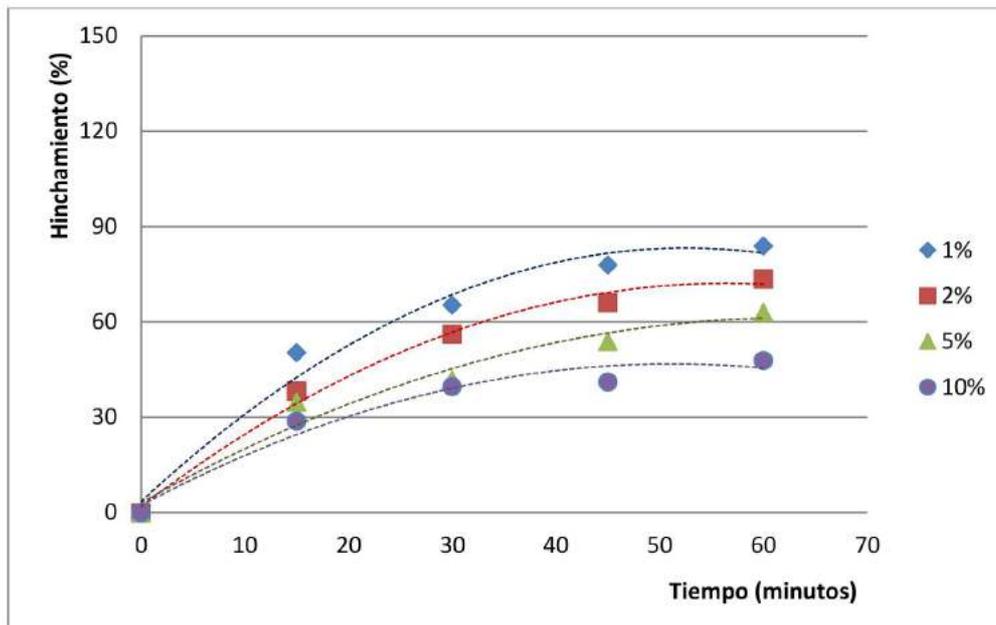


Figura 3.55: Curvas de hinchamiento de hidrogel de PAAm, Glicerol (62 %) y concentraciones variables de entrecruzador "M" (1 %, 2 %, 5 %, 10 %) en función del tiempo.

Según los gráficos anteriores, las muestras con mayor cantidad de entrecruzador, a la misma cantidad de glicerina y acrilamida, presentan un menor grado de hinchamiento máximo. Los porcentajes con mayor entrecruzador alcanzan el equilibrio más rápidamente, y durante la primera hora los hinchamientos máximos son próximos al 75 % para 1 % y 2 % de entrecruzador y cercanos a 60 % y 50 % para 5 % y 10 % de M.

Se muestra a continuación el comportamiento de otro entrecruzador seleccionado en forma cualitativa según las propiedades físicas más aceptadas para nuestro propósito, el diglicerol diacrilato (D) (Tabla 3.42). Las curvas según los datos experimentales de los geles de poliacrilamida, en presencia de 61,8 % de glicerina se observan en la Figura 3.56.

Tabla 3.42: Datos experimentales de hinchamiento vs tiempo de hidrogeles de pAAm, glicerol (62 %), y concentraciones variables de entrecruzador (1 %, 2 %, 5 %, 15 %)

D (%)	15 min	30 min	45 min	60 min
1	57.4	87.8	108.1	125
2	53.7	63.9	75.5	87.1
5	59.1	72.7	88.2	101
15	30.1	62.4	63	63.2

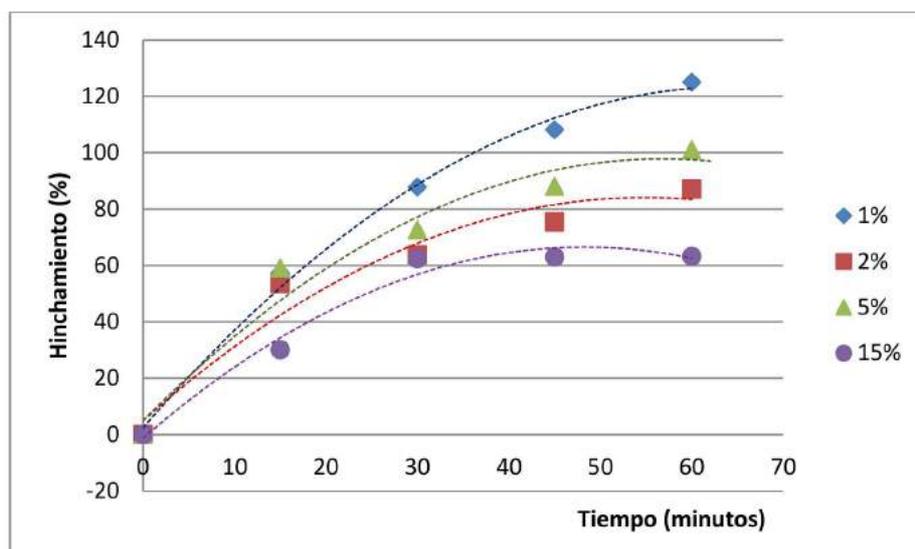


Figura 3.56: Curvas de hinchamiento de hidrogeles de PAAm, Glicerol (62 %) y concentraciones variables de entrecruzador “D” (1 %, 2 %, 5 %, 15 %) en función del tiempo.

Se muestra un hinchamiento máximo no saturado durante la primera hora, con aumento del hinchamiento del 60 % durante los primeros 10 minutos salvo para altas concentraciones del entrecruzador D que toma este valor recién a los 30 minutos. El hinchamiento es relativamente rápido para este tipo de geles.

e) Cinética de hinchamiento.

La hidrofiliidad de los hidrogeles es debida a la presencia de grupos $-OH$, $-COOH$, $-CONH_2$, $-SO_3H$ en las cadenas poliméricas. La insolubilidad es consecuencia del entrecruzamiento (uniones físicas o químicas) existente entre las cadenas poliméricas. El estado de hinchamiento es el resultado de un balance entre las fuerzas dispersivas de los grupos hidrofílicos y las fuerzas cohesivas que impiden la disolución del polímero en agua.

Así, la propiedad más característica de los hidrogeles y que los hace adecuados para cualquiera de sus aplicaciones es su capacidad de hinchamiento. Ya hemos explicado la importancia de su estudio en cuanto a la obtención de información característica de la estructura, la hidrofilia del material, comportamientos, etc. En esta etapa, tomaremos en cuenta su cinética y algunas consideraciones matemáticas para comprender o estimar el mecanismo de hinchamiento.

Recordemos que el comportamiento de un polímero en un medio determinado, refleja el balance de interacciones entre los propios segmentos de sus cadenas y las moléculas que los rodean. En las disoluciones acuosas, las interacciones agua-agua son especialmente fuertes, al introducir el gel en un medio acuoso, las interacciones agua-polímero compiten con las de agua-agua.

En la literatura pueden encontrarse diversas teorías que explican la transición de fase de los geles (Yamamoto 1989, Hirotsu 1987, Marchetti 1990, Lee K.K 1990, Otake 1990, Tanaka 1989, Eichenbaum 1999, Huang 2002).

Algunos modelos incluyen también interacciones específicas del gel en medio acuoso (Flory 1953)

En general estas teorías contienen tres términos, uno debido a la energía libre de mezcla, otro entrópico debido a la elasticidad de las cadenas, y un tercero cuando hay cargas, debido a la presión osmótica introducida por éstas.

Un análisis cinético del hinchamiento resulta muy interesante para el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos basados en matrices poliméricas hinchables, ya que puede ser empleado cuando se requiera para predecir la velocidad de liberación de las sustancias farmacológicamente activas.

f) Consideraciones matemáticas

El hinchamiento de los hidrogeles implica movimientos segmentales de gran escala, que generan como respuesta una separación entre las cadenas de los hidrogeles que se va incrementando cada vez más con el hinchamiento. En estos sistemas a medida que se difunde el disolvente dentro del hidrogel, la respuesta de las cadenas no es inmediata. De manera que la penetración de las moléculas de agua dentro de las redes de un hidrogel (HG) es una función de la estructura de la red. En una estructura rígida con una alta densidad de entrecruzamientos disminuyen los espacios entre las cadenas del hidrogel y la misma no podrá ser expandida ni mantener una gran cantidad de agua.

En la literatura hay una gran variedad de modelos y ajustes para describir e interpretar la cinética de hinchamiento de los hidrogeles, no es parte del trabajo discutirlos y por lo tanto hemos seleccionado y definidos las ecuaciones finales de uso.

Cinética de primer orden (modelo de Fick).

Si suponemos que la difusión del disolvente tiene lugar en un lámina de dimensiones infinitas perpendicular a la dirección de difusión (es decir, el espesor de la lámina es pequeño comparado con su superficie), además de que el coeficiente de difusión, D , permanece constante y que el tiempo de difusión es muy grande, entonces la velocidad de absorción del solvente puede escribirse como:

Ecuación 3.13
$$\frac{m_t}{m_\infty} = \sqrt{\frac{4Dt}{\pi l^2}}$$

Donde, m_t es la masa de solvente absorbido por la matriz a un tiempo t , m_∞ es la masa absorbida máxima, D es el coeficiente de difusión, π es la presión osmótica y l es el espesor de la matriz.

La difusión del solvente al polímero es el factor principal que determina el hinchamiento y se ha demostrado que existe una dependencia lineal entre la ganancia del solvente m_t y la raíz cuadrada del tiempo para los primeros estadios, planteando que el sistema presente un comportamiento Fickiano.

Cuando el hinchamiento está controlado por este mecanismo se puede determinar el coeficiente de difusión (D) mediante el uso de la Ley de Fick, a partir de la cual se puede graficar m_t/m_∞ en función a la raíz cuadrada del tiempo ($t^{1/2}$), ya que l es el espesor de la muestra, π es la presión osmótica, se obtiene una línea recta y de su pendiente se adquiere el valor del coeficiente de difusión (D).

Cinética de segundo orden.

Otros autores, han propuesto una ecuación cinética de segundo orden para describir el hinchamiento (Ritger y Peppas 1987) .

Ecuación 3.14
$$\frac{m_t}{m_\infty} = F = kt^n$$

donde, k es la constante característica del sistema red del polímero/solvente y n es el exponente difusional que rige el modo de transporte del agua, m_t es la masa de agua absorbida a un tiempo t y m_∞ se refiere a la absorción lograda en el equilibrio.

Graficándose $\ln(m_t/m_\infty)$ en función de $\ln t$, se determina el exponente difusional (n)

Es importante que esta ecuación se aplique solo al primer 60 % de la cantidad total absorbida, suponiendo que la densidad del material no cambia significativamente ($m_t/m < 0.6$). Es de uso común en las primeras etapas del hinchamiento.

Dependiendo de las formas, se puede resumir que un valor de n entre 0,45 y 0,50 indica un mecanismo de difusión Fickiana, mientras que si n está entre 0,5 y 1 define un mecanismo de difusión anómalo o no Fickiano (Ritger y Peppas 1987). En este último caso, los valores indican que durante el proceso de hinchamiento, el fenómeno de difusión, está simultáneamente acompañado por la relajación viscoelástica de las cadenas del polímero (ambos procesos tienen velocidades similares) (Alpesh 2011).

Se ha reportado que $n = 1$ corresponde a una difusión anómala No-Fickiana tipo transporte caso II donde la penetración del agua hacia el hidrogel es controlada por la rapidez de relajación de las cadenas del polímero (Alpesh 2011).

Para tiempos mayores a 100 horas de hinchamiento el espesor del hidrogel no permanece constante y la Ecuación 3.14 no es aplicable. Por cuanto la ecuación de Robinson-Schott (Schott 1992) ha considerado esta tendencia y presenta una cinética de segundo orden para el cálculo de los parámetros:

Ecuación 3.15
$$\frac{t}{S} = A + B * t$$

donde S es el hinchamiento a un tiempo t , al graficar t/m versus t , del intercepto de la línea recta se puede calcular la constante de hinchamiento k y el hinchamiento en el equilibrio (m_{∞}) ya que:

$$A = \frac{1}{kS_{\infty}^2}$$

$$B = \frac{1}{S_{\infty}}$$

Esta ecuación puede ser aplicada a tiempos cortos y largos.

A tiempos largos, $B * t \gg A$, por lo que la pendiente de la recta (B) es la recíproca del hinchamiento máximo.

Por el contrario, a tiempos cortos, $A \gg B * t$ y puede despreciarse, por lo que A es igual a la inversa de la velocidad inicial de hinchamiento (Schott 1992):

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \left(\frac{dS}{dt} \right) = \frac{1}{A}$$

Tanto la cinética de primer orden como la de segundo han sido empleadas para el análisis de los datos experimentales de hinchamiento de los hidrogeles, y es discutible cada una de las aplicaciones.

Estas ecuaciones se aplican a continuación a los hidrogeles de poliacrilamida, glicerol (62 %) y entrecruzador glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato (**M**) a modo de ejemplo y posteriormente se evalúan los hidrogeles con mayores concentraciones de entrecruzador dimetacrilato de glicerol (**D**), ambos tomados como ejemplos en la curvas de hinchamiento.

Como hemos aclarado, el estudio de la cinética se emplea para determinar el orden. Así este estudio ayuda a comprender el sistema de difusión dentro del hidrogel. Se aplica la ley de Fick para los primeros tiempos de hinchamiento debido a que los efectos a largo plazo tienen desviaciones en su comportamiento, por cuanto, se establece en concordancia con la bibliografía el

valor de < 0.60 fracción de hinchamiento. El modelo de Schott es usado para periodos mayores donde hay incremento de la densidad de las muestras.

Aplicación de la ecuación de Schott (Ecuación 3.15) a tiempos mayores y segundo orden.

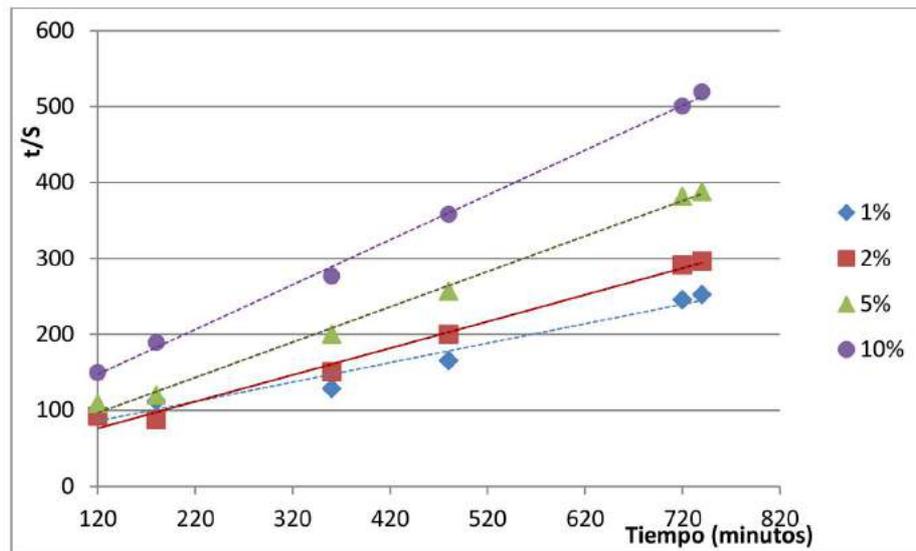


Figura 3.57: Curvas obtenidas con la ecuación de Schott para hidrogeles de pAAm, glicerol (62 %) y concentraciones crecientes de entrecruzador “M” (1 %, 2 %, 5 %, 10 %).

Tabla 3.43: Datos de la Ecuación de Schott (Ecuación 3.15), aplicada al hinchamiento de hidrogeles de pAAm glicerol (62 %) y entrecruzador "M" en concentraciones crecientes.

M (%)	ecuación	correlación (r²)	m equilibrio	k (min-1)
1 %	y=0,2561x+55,149	0,9671	3,905	0,0012
2 %	y=0,3512x+34,236	0,9889	2,847	0,0036
5 %	y=0,4654x+40,882	0,9955	2,149	0,0053
10 %	y=0,5899x+76,796	0,9980	1,695	0,0045

En la Tabla 3.43 se muestran los valores obtenidos a partir de rectas análogas para todos los hidrogeles de AAm, glicerol (62 %) y M como entrecruzador en concentraciones 1 %, 2 %, 5 % y 10 %; en cuanto a la constante de rapidez (k) y el contenido de agua en equilibrio (m[∞]).

Se puede observar que el contenido del agua en equilibrio (m[∞]) aumenta a medida que disminuye la concentración del entrecruzador durante la síntesis de los hidrogeles. Los resultados obtenidos corroboran que efectivamente está aumentando el grado de cadenas entrecruzadas en la estructura de los hidrogeles, tal como se observa en las curvas de hinchamiento iniciales.

La difusión del agua desde la superficie del polímero hacia el interior de la red del hidrogel sigue el modelo de Schott, con muy buenas correlaciones (r²) en sus aproximaciones. Por lo que demuestra que los sistemas tienen un comportamiento de segundo orden en la cinética de hinchamiento y a tiempos largos el fenómeno está gobernado no solo por la difusión sino también por la relajación de las cadenas poliméricas.

Durante la fase inicial, podemos aplicar la ecuación de Fick (Ecuación 3.14), y graficar ln F vs ln * t, donde se obtiene el siguiente gráfico para el mismo sistema.

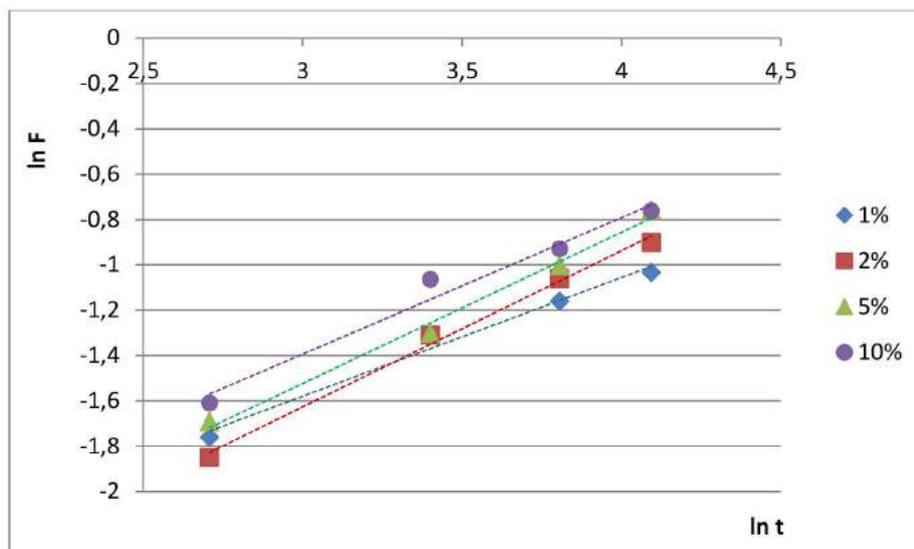


Figura 3.58: Curvas de hinchamiento al aplicar la ecuación de Fick para la fase inicial de hidrogeles de pAAm, glicerol (62 %) y entrecruzador M en concentraciones 1 %, 2 %, 5 % y 10 %.

Tabla 3.44: Datos de la ecuación de Fick para fase inicial de hinchamiento en hidrogeles de pAAm, Glicerol (62 %) y entrecruzador M en concentraciones crecientes (1 %, 2 %, 5 %, 10 %).

M (%)	ecuación	r ²	n
1 %	y=0,5243x-3,1529	0,9839	0,52
2 %	y=0,6895x-3,6952	0,9942	0,69
5 %	y=0,6665x-3,5229	0,9910	0,67
10 %	y=0,6021x-3,2002	0,9736	0,60

Los valores de la Tabla 3.44 indican que el tipo de difusión en la primera etapa de hinchamiento, estos valores están por encima de 0,50.

La difusión de agua dentro de los hidrogeles de pAAm, glicerol (62 %) y entrecruzador M en concentraciones 1 % 2 %, 5 % y 10 % tienen un carácter no Fickiano o Anómalo.

Esto generalmente es explicado como una consecuencia de la lenta relajación en la matriz polimérica (Peppas 1987).

Por otro lado, tomaremos las curvas de correspondientes a hinchamiento de hidrogeles de pAAm, glicerol (62%) y entrecruzador D.

En el gráfico de la Figura 3.59 se observa la aplicación de la ecuación de Schott para largos tiempos de hinchamiento y la Tabla 3.45 correspondiente a las ecuaciones.

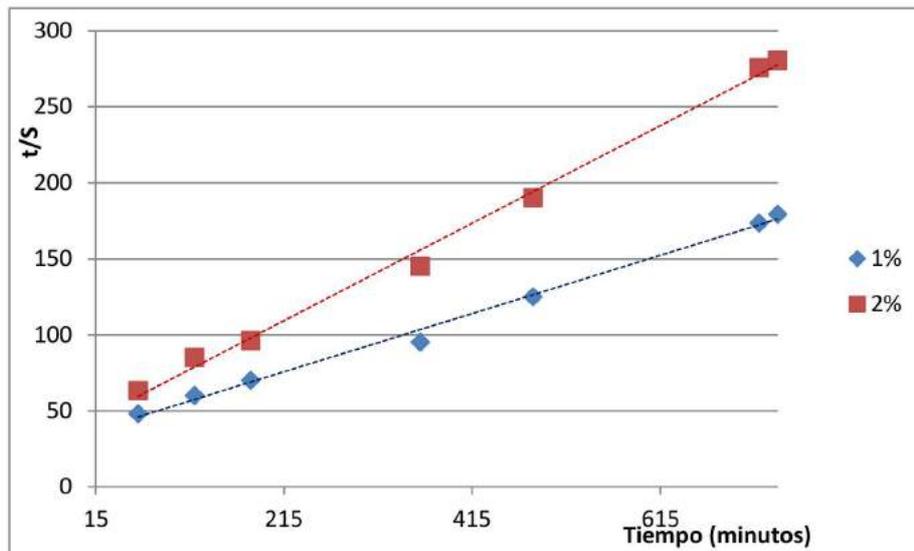


Figura 3.59: Curvas obtenidas con la ecuación de Schott para hidrogeles de pAAm, glicerol (62 %) y concentraciones crecientes de entrecruzador "M" (1 %, 2 %, 5 %, 10 %).

Tabla 3.45: Datos de la Ecuación de Schott, aplicada al hinchamiento de hidrogeles de pAAm glicerol (62 %) y entrecruzador "D" en dos concentraciones

D (%)	ecuación	r ²	m equilibrio	k (min-1)
1 %	y=0,1915x+34,476	0,9945	5,222	0,0011
2 %	y=0,3208x+40,307	0,9954	3,117	0,0026

Tanto el gráfico de la Figura 3.59 como los datos de la Tabla 3.45, demuestran una buena correlación en las aproximaciones cuando se aplica la ecuación de Schott de segundo orden, por lo que la incorporación de agua dentro del hidrogel en estos casos, también están involucrados los proceso de difusión y relajación de las cadenas. En consecuencia, también a mayores concentraciones de entrecruzador, menor es la cantidad máxima incorporada.

Durante la fase inicial, podemos aplicar la ecuación de Fick, y graficar $\ln F$ vs $\ln t$, donde se obtiene el siguiente gráfico (Figura 3.60) y Tabla 3.46 para el mismo sistema.

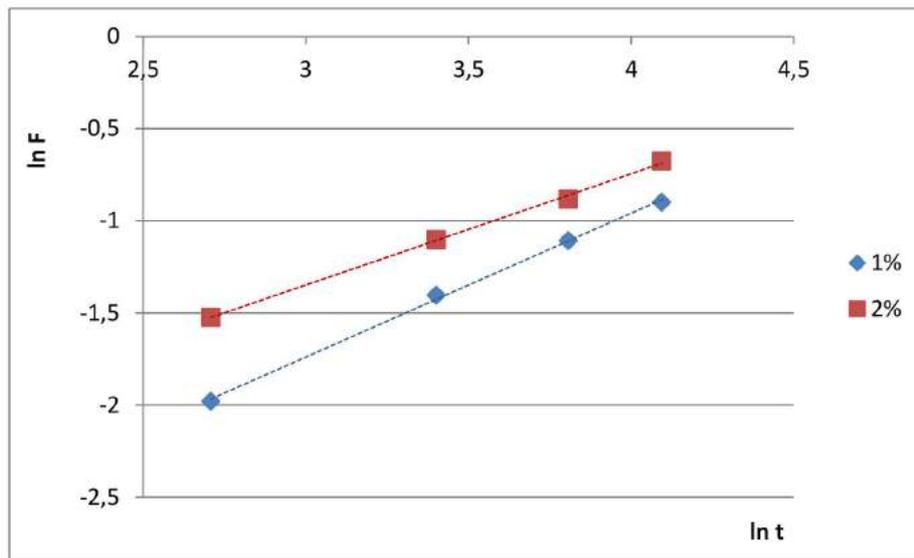


Figura 3.60: Curvas de hinchamiento al aplicar la ecuación de Fick para la fase inicial de hidrogeles de pAAm, glicerol (62 %) y entrecruzador D e n concentraciones 1 %, 2 %

Tabla 3.46: Datos de la ecuación de Fick para fase inicial de hinchamiento en hidrogeles de pAAm, Glicerol (62 %) y entrecruzador D en concentraciones crecientes (1 %, 2 %)

D (%)	ecuación	r2	n
1 %	$y = 0,6037x - 3,1594$	0,9984	0,60
2 %	$y = 0,7798x - 4,0775$	0,9988	0,78

Los resultados expuestos demuestran que para hidrogeles de poliacrilamida, glicerol (62 %) y entrecruzador "D" y los formados por poliacrilamida, glicerol (62 %) y entrecruzador "M", las curvas de cinética para largos tiempos de hinchamiento corresponden a segundo orden y tienen una difusión no fickiana o anómala durante la etapa de difusión de agua dentro del hidrogel.

Los valores de n y de velocidad de hinchamiento obtenidos son de órdenes parecidos entre los hidrogeles teniendo un comportamiento similar al usar ambos entrecruzadores, salvo para el nivel máximo de absorción de agua, siendo este mayor para hidrogeles con D.

g) Obtención de materiales diversos

En busca de la formulación adecuada y en las diversas composiciones ensayadas, se forman nuevos materiales con características muy particulares que se puede observar con claridad en las Figuras 3.61, 3.62, 3.63 y 3.64.

La importancia de la incorporación de otro solvente en la irradiación es notoria con respecto a la variedad de materiales fabricados con características muy particulares como transparencia, pegajosidad, elasticidad y rápido hinchamiento, abriendo un campo novedoso para su aplicación en diversas áreas. Todas ellas contienen un alto contenido de glicerina (> 60 %).



Figura 3.61: Hidrogel de poliacrilamida, agua y glicerina de alta elasticidad.



Figura 3.62: Hidrogel de poliacrilamida, agua y glicerina de alta pegajosidad.

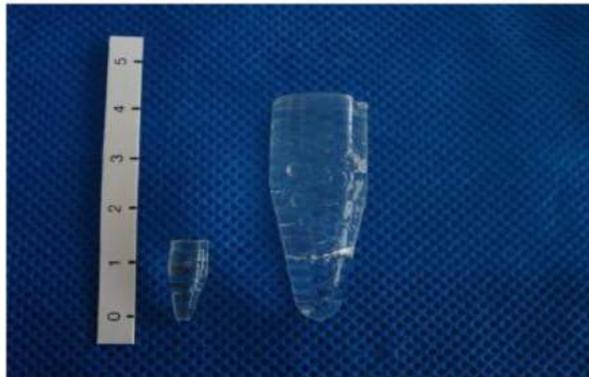


Figura 3.63: Modificación del tamaño en hidrogeles conformados por glicerina (> 60 %) posterior a su hinchamiento en solución acuosa. Peso seco: 0.28 g Peso saturado: 3.30 g.

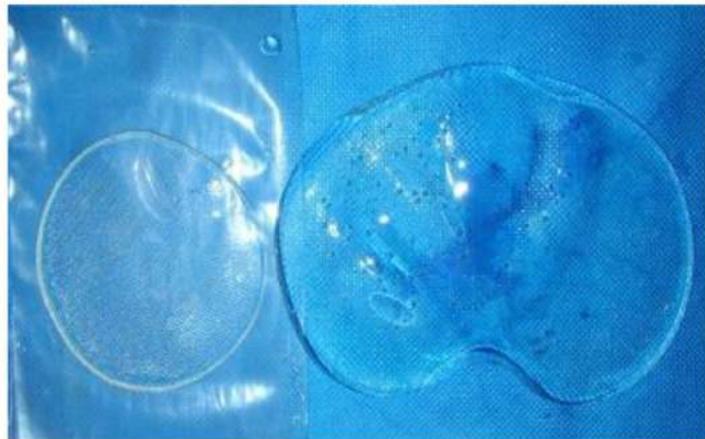


Figura 3.64: Conservación de la transparencia y la forma posterior a su hinchamiento en solución acuosa.

3.4.3 Estudio de la formulación final.

La formulación nueva de un GLYGEL obtenido con el empleo de radiaciones ionizantes a dosis finales de 25 kGy, a una tasa de dosis de 10 kGy/h aproximadamente, con rotación, a temperatura ambiente y atmósfera de aire.

La formulación final contiene: 60,6 % de glicerina, 18,7 % de acrilamida, 18,7 % de agua destilada y 1,96 % (1.7 - 2) de entrecruzador D (glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato) y la llamaremos GLYGEL. La preparación de un conjunto de muestras requiere alrededor de 6 horas, con materiales de uso habitual de laboratorio.

En general el procedimiento es sencillo y con 200 g aproximadamente de mezcla inicial se logran 15 discos de 3mm de espesor y 9cm de diámetro.(Figura 3.65)



Figura 3.65: Hidrogeles obtenidos por irradiación a 25 kGy, formados por poliacrilamida, glicerol 1.3 diglicerolato diacrilato, agua y glicerol (60 %).

a) Estabilidad pre- irradiación

Para evaluar una posible pre polimerización durante el almacenamiento previo a la irradiación, se preparan soluciones a distintos tiempos 12 h, 24 h y 36 h pre-irradiación. Se conservan a $T = 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ y recubiertas de papel aluminio hasta su utilización. El entrecruzador D se adiciona 12 h antes de la irradiación a las soluciones preparadas, con agitación constante y a atmósfera N_2 , durante 20 minutos (mínimo).

Se mide la viscosidad de las soluciones preparadas con el viscosímetro de vidrio tipo Cannon -Fenske 350 previamente calibrado a una temperatura de $20,0 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de su irradiación.

Las soluciones preparadas (AAm-Gly- H_2O -D) se colocan en placas de Petri de 9cm diámetro. Se irradian a una dosis final de 25kGy, con una tasa de dosis de 10kGy/h aproximadamente, con rotación, a temperatura ambiente, según el protocolo establecido para esta formulación.

En todos los casos las muestras luego de la irradiación se desprenden fácilmente del soporte, adquiriendo su forma, con elasticidad suave, transparente y sin adherencia, no evidenciando cambios según observación visual.

Las muestras preparadas con el entrecruzador 12 h antes de su irradiación presentan mayor viscosidad (12 %) pero los estudios post-irradiación no muestran diferencias significativas en su aspecto.

b) Evaluación con respecto a la temperatura

Con el objetivo de comprobar la versatilidad del Glygel obtenido en cuanto a mantener la temperatura inicial, se lo somete a enfriamiento y calentamiento una vez formado. Las muestras fueron preparadas aplicando el protocolo ya definido en placas de Petri de 9cm de diámetro y un espesor de 3mm, se retiran del soporte y se lleva a temperatura de $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. Luego se mide la variación de la temperatura en función del tiempo mientras el glygel se encuentra a temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Los resultados se muestran en las Tablas 3.47 y 3.48 y las Figuras 3.66 y 3.67.

No hay cambio de masa significativo con respecto a la temperatura inicial de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y final de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabla 3.47: Datos de temperatura (°C) en función del tiempo (minutos) que requiere un glygel luego de colocarlo a -5 °C y exponerlo a temperatura ambiente.

T (°C)	t (min)
11 ± 1	10
14 ± 1	15
17 ± 2	20
20 ± 2	25
23 ± 2	30
24 ± 2	35

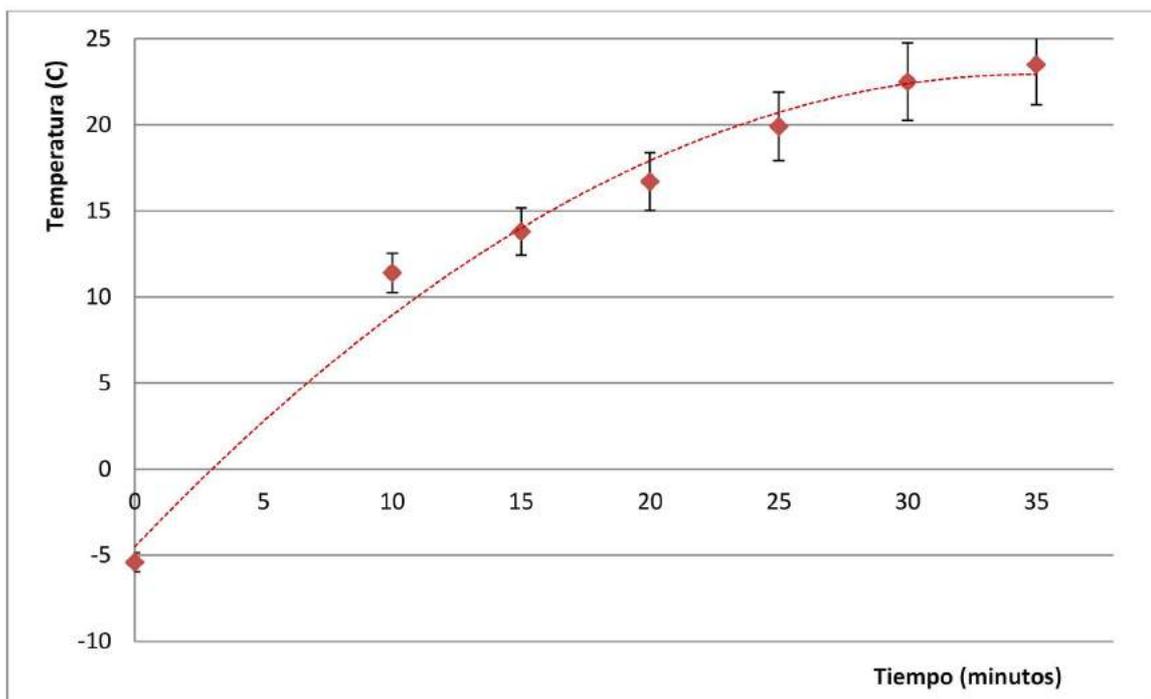


Figura 3.66: Curva que indica la variación de temperatura vs tiempo que posee el glygel partiendo de -5 °C hasta alcanzar la temperatura ambiente (n=3).

Según los datos obtenidos, el material de 3 mm de espesor y diámetro de 9 cm, requiere alrededor de 35 minutos para alcanzar la temperatura ambiente desde que se lo extrae de un sistema frío.

Mientras que el comportamiento del gel cuando se lo calienta y luego se lo expone a temperatura ambiente para que se estabilice se observa en la figura 3.67. No hay cambios significativos en la masa inicial y final (de 110 °C a 25 °C), al igual que cuando se lo somete a baja temperatura.

Tabla 3.48: Datos de temperatura (°C) en función del tiempo (minutos) que requiere un glygel luego de colocarlo a 110 °C y exponerlo a temperatura ambiente.

T (C)	t (min)
110 ± 2	0
39 ± 3	6
37 ± 2	10
35 ± 2	12
30 ± 2	18
25 ± 2	24

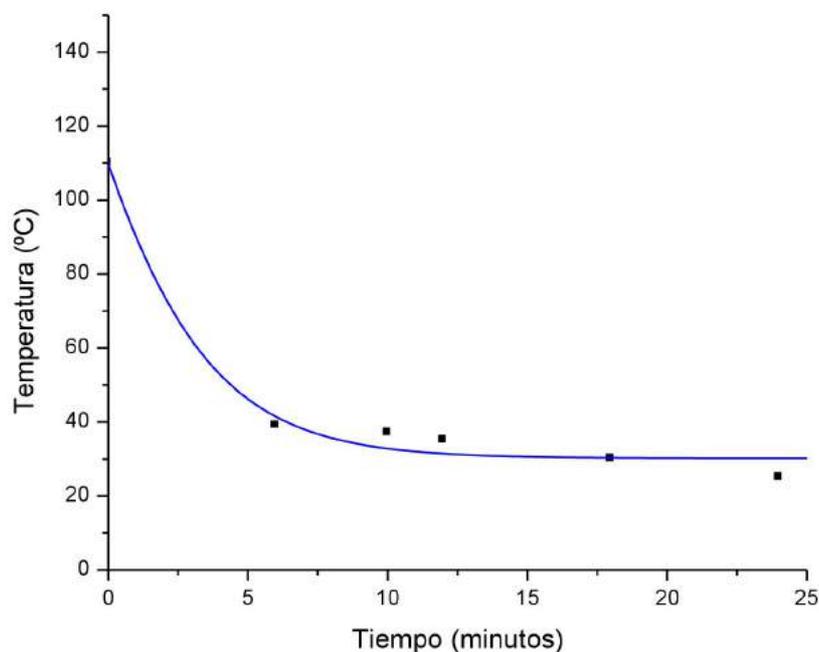


Figura 3.67: Curva que indica la variación de temperatura vs tiempo que posee el glygel partiendo de 110 °C hasta alcanzar la temperatura ambiente (n = 3).

Cuando se somete a 85 °C durante 25 minutos no hay cambios de masa ni de aspecto, mientras que a 125 °C puede aparecer color. Cuando se lo somete a calor el material alcanza a los 25 minutos aproximadamente la temperatura ambiente.

No se evidencia pérdida de masa en ninguno de los dos casos, y retrasa el alcance de la temperatura ambiental cuando el hidrogel es enfriado, dando una propiedad interesante para su aplicación.

Como estudio complementario al producto final obtenido, se realiza un microscopía de barrido electrónico (SEM) para observar su morfología. Las muestras se preparan para su medición en el laboratorio de la Universidad Nacional de Quilmes, donde se realizan las fotografías. A continuación se presentan dos de ellas.

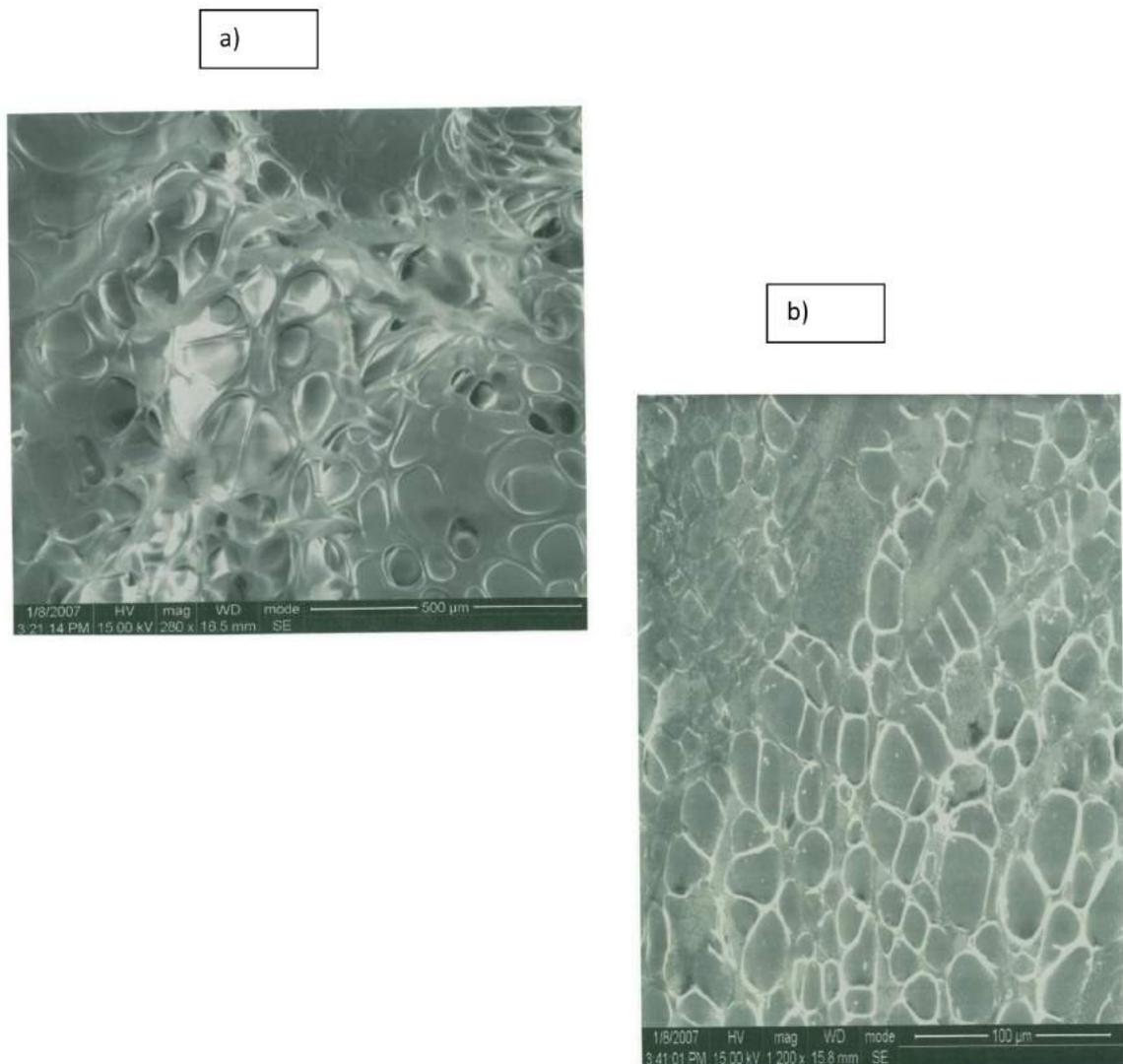


Figura 3.68: Vista general de un fragmento del material final. Matriz de poliacrilamida con glicerol (Magnificación x280 a) y x1200 b), tensión de aceleración 15 kV

4. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

4.1 Resultados Hidrogeles para mucosa bucal

Teniendo en cuenta que no se contaba con un equipo comercial para la medición de fuerza de adhesión y la resistencia al corte de películas, se diseñó un equipo para la evaluación de películas de hidrogeles formadas instantáneamente sobre una superficie adecuada. El equipo fabricado posibilitó seleccionar de manera efectiva y rápida las diversas composiciones ensayadas. Permitió cambiar la superficie donde se lo forma y se lo somete a esfuerzo al hidrogel. Los valores comparativos fueron fundamentales para decidir en cuanto a las mejores formulaciones para el tipo de hidrogeles que se busca.

Durante la primera etapa se formaron mezclas de mucoadhesivos comúnmente empleados sin el uso de la radiación ionizante. Los hidrogeles binarios con mezclas físicas de PVP y alginato, poseen una mayor fuerza de adhesión donde la fracción de alginato en los mismos (independientemente del segundo componente) es $>0,7$ en peso seco. Por lo que sugiere que los hidrogeles en su mayoría deben estar compuestos por alginato.

Sobre un total de 40 muestras individuales de hidrogeles terciarios modificándose la fracción de CMC (y en consecuencia PVP), los resultados mostraron, que la presencia de PVP como aditivo en las soluciones terciarias aumenta la fuerza de adhesión de los hidrogeles, mientras que la CMC la disminuye.

Para las soluciones cuaternarias formadas por alginato, PVP, CMC e HEC no se encontró diferencia significativa entre los esfuerzos de cada fracción.

Con estos resultados se pudo afirmar que los hidrogeles de alginato de sodio junto a los aditivos CMC, PVP e HEC presentan una excelente compatibilidad entre sí, y gelifican a una misma concentración de iones calcio en solución acuosa y temperatura ambiente en forma instantánea. Asimismo, el agregado de HEC y de CMC no alteró significativamente la fuerza de adhesión.

La incorporación de la tecnología de las radiaciones para la modificación de alginatos con el objeto de encontrar formulaciones con mayor capacidad de adhesión que las mezclas físicas, implica que se realice previamente el estudio del comportamiento de estos polisacáridos bajo irradiación gamma. Los dos efectos que pueden ocurrir son la degradación y la copolimerización en presencia de monómeros. Claro está que la prevalencia de estos procesos depende de muchos factores, y por lo general del tipo de polisacárido y las condiciones de irradiación (dosis, tasa de dosis y el medio).

La utilización de la radiación ionizante como método de despolimerización de polisacáridos naturales es rápida, eficaz y económica. Actualmente es un campo muy estudiado dado que se descubrió que se forman oligosacáridos con propiedades tales que tienen funciones biológicas tan diversas desde promotores del crecimiento hasta actividades antifúngicas sobre diversos tipos de vegetales.

Esto en parte explica el interés de los organismos internacionales como la Agencia Internacional de Energía Atómica, en armonizar la forma de medición de la viscosidad y con ella estimar las masas moleculares de los polisacáridos degradados. Esto también está vinculado a la potencialidad que estos oligosacáridos tienen en el área industrial. Así, quedó establecido un protocolo que se desarrolló con algunos de los resultados de este trabajo, promovido por la posibilidad existente en el país de irradiar a altas dosis. Esto a su vez es también de sumo interés en la búsqueda de nuevos materiales.

El mencionado protocolo propone que la medición de las viscosidades de las soluciones formadas por polisacáridos irradiados a distintas dosis permite estimar con elevado grado de confiabilidad el valor de la masa molecular y con ella el grado de degradación que sufrió.

Los resultados obtenidos muestran que la aplicación de la radiación gamma produce una disminución de la viscosidad de las soluciones como causa directa de la irradiación, lo que implica una reducción en las masas moleculares de los alginatos muy abrupta durante los primeros 20 kGy. Luego el proceso se hace más lento observando una curva asintótica sobre el eje de las dosis en función de la masa molecular.

El valor G entendido como la susceptibilidad del alginato frente a la degradación por irradiación en estado sólido, en atmósfera de aire y a temperatura ambiente es menor que el encontrado para k-carragenano en las mismas condiciones.

Este valor es específico del tipo de alginato irradiado, puesto que la degradación depende de las unidades de gulurónico y manurónico y su distribución. Pese a lo cual, los valores G encontrados de alginato son comparables con los obtenidos en la bibliografía para irradiaciones en estado sólido, atmósfera de aire y temperatura ambiente.

Los resultados de los espectros UV-vis obtenidos de las soluciones de alginato de sodio en estado sólido, preparadas a partir del material irradiado a muy altas dosis (500 kGy, 750 kGy y 1000 kGy), muestran correlación con las propiedades físicas del material, donde existe un cambio brusco en el aspecto y color, quedando un polvo duro y marrón. Se observa la banda de absorción a 265 nm que se incrementa con la dosis pero desaparece a dosis cercanas a 1000 kGy donde muestra una nueva banda próxima a 427 nm.

Se puede asignar la banda de absorción de 265 nm a los dobles enlaces de alginato formados posteriores a la ruptura de la cadena principal y/o a la abstracción de hidrógeno por irradiación. Esta situación es coincidente con la literatura.

Sin embargo, al irradiarse soluciones acuosas de alginato al 1 % con dosis finales de 10 kGy - 75 kGy, no se observan estos picos en ninguna de ellas, lo que sugiere que ese grado de degradación encontrado por encima de 300 kGy en estado sólido no se observa en las soluciones líquidas. Teniendo en cuenta que la irradiación en solución acuosa favorece en varios órdenes el grado de degradación por la presencia de mayor cantidad de radicales libres de la radiólisis del agua, aun con estas dosis no alcanza tal degradación que sea posible de observar en el espectro UV-vis.

En el estudio de los espectros de FTIR para polvos de alginato de sodio irradiado a altas dosis (hasta 1000 kGy) comparados con los alginatos sin irradiar, son similares en cuanto a las bandas de absorción encontradas. Lo mismo se encuentra para k-carragenano, y en ambos casos, no pierden la capacidad de gelificación. Esto indicaría que la espectrometría IR es una herramienta complementaria en el estudio de la degradación y es necesario realizar otros estudios.

La irradiación en estado pastoso es una herramienta que permite injertar monómeros dentro de la estructura de un polisacárido con dosis más altas que las necesarias para soluciones. Con 40 % m/m de alginato en solución acuosa con ácido acrílico irradiado a 25 kGy se puede generar un nuevo material producto de la copolimerización. El injerto se confirma mediante la comparación de los espectros FTIR del sustrato polisacárido con la de los productos injertados. En los espectros de la muestra compuesta fue observado un nuevo pico en 1720 cm^{-1} evidenciando la presencia de un injerto en la cadena de alginato, SA-g-pAAc.

Las muestras de SA-g-PAAc llevadas a solución acuosa (6 % m/v) gelifican en forma heterogénea, forman geles transparentes, rígidos y con capacidad de hinchamiento en agua, pero no forman una película uniforme y delgada, propiedad importante para el objetivo establecido.

En la evaluación de los posibles entrecruzamientos entre los polímeros de acrilamida y alginato, se emplea FTIR para geles de alginato, geles de poli(acrilamida) y geles intermedios de ambos polímeros sometidos a polimerización y copolimerización bajo radiación gamma a dosis bajas 1 kGy - 2 kGy en estado líquido y atmósfera de aire.

En los espectros del gel híbrido, nuevos picos en 1280 cm^{-1} y en 1680 cm^{-1} fueron observados que inducen la formación de un material tipo alginato-g-

PAAm. La banda ancha en $3200-3400\text{ cm}^{-1}$ se debe al estiramiento de los grupos-OH de alginato y que se solapa con la banda de estiramiento de los grupos -NH.

En principio, cuando se irradia en solución, la acrilamida genera radicales libres de su propio monómero, así mientras la irradiación continúa, comienza a entrecruzarse y las cadenas entrecruzadas pueden seguir vinculándose unas con otras y formando un polímero ramificado. Las viscosidades de las soluciones acuosas tienen un leve aumento al aumentar el grado de acrilamida a la misma dosis.

Cuando se somete a dosis creciente en comparación con la solución sin irradiar hay una disminución en la viscosidad a la misma concentración de acrilamida.

En solución acuosa la viscosidad disminuye a la mitad con la primera irradiación de 1 kGy. A 2 kGy disminuye un 85 % con respecto a la misma solución sin irradiar. En etanol y glicerina la viscosidad disminuye entre 30 % - 60 % para 1 kGy y 2 kGy. Mientras que las soluciones con ácido acético como segundo solvente disminuye notablemente un 85 % y luego se mantiene independiente de la dosis. Esto puede explicarse con la degradación del polisacárido por irradiación, los solventes pueden activar o disminuir la cantidad de radicales libres presentes.

La evaluación de las fuerzas de adhesión de las soluciones de alginato irradiadas en presencia de acrilamida a dosis de 0.5 kGy, 1 kGy y 2 kGy, con tasa de dosis de 1 kGy/día en presencia de dos solventes proporciona una importante información para establecer una formulación posible de crear hidrogeles en forma de película con una mayor adhesión.

De los resultados obtenidos se puede afirmar que el agregado de acrilamida aumenta la fuerza de adhesión en soluciones acuosas y en etanol (20 %), manteniéndose constante para glicerol en concentraciones de 20 % y 40 %.

Las composiciones con cada uno de los solventes se las compara con soluciones sin acrilamida. Los resultados fueron particulares puesto que se observa un aumento de la adhesión y resistencia al corte en mezclas en solución acuosa y con glicerol sin el monómero presente, irradiadas a bajas dosis 1 kGy – 2 kGy . Esto no ocurre con soluciones compuestas por etanol y ácido acético como segundo solvente que se mantienen constantes. Ello obliga a comparar los efectos producidos por la radiación con estas soluciones tomadas como referencia inicial.

Las soluciones de alginato de sodio sometidas a irradiación muestran máximos incrementos en solución acuosa de 48 % y 49 % fuerza de adhesión y resistencia al corte respectivamente, a una dosis de 2 kGy y relación molar de acrilamida: alginato igual a 1.2

En el uso de segundos solventes se observan para etanol un incremento máximo de 30 % en la fuerza de adhesión y 31 % en la de corte, a dosis de 1 kGy y relación molar de 1:1.

Mientras que con ácido acético no se observa un aumento relativo salvo a concentraciones altas de acrilamida y dosis de 2 kGy.

Finalmente, las fuerzas de adhesión para soluciones de alginato y acrilamida con glicerol como segundo solvente en sus dos concentraciones (20 % y 40 %) no presentaron una diferencia significativa en el aumento de las fuerzas de adhesión y de corte cuando se irradian a dosis de 1 kGy - 2 kGy con respecto a sus valores iniciales.

Las irradiaciones de las soluciones a 2 kGy muestran un aumento notable en la adhesión para soluciones acuosas no ocurriendo para soluciones con etanol.

Finalmente, los resultados sugieren que la adición de acrilamida a soluciones acuosas de alginato de sodio en una relación aproximada de 1:1 molar, irradiadas a 2 kGy mejora la fuerza de corte y adhesión, siendo estos los parámetros a reproducir para la obtención de hidrogeles instantáneos con capacidad mucoadhesiva.

Los alginatos forman geles de tipo físico en presencia de iones calcio. Esta propiedad tan particular es la que motivó su aplicación inicial para uso en mucositis, teniendo en cuenta que las condiciones de los pacientes con esta problemática tienen concentraciones más elevadas de calcio en saliva. Sin embargo y a pesar de contar con esta aumentada concentración de calcio, con este tipo de alginatos de baja cantidad de grupos gulurónicos no fue posible la gelificación sin agregado de calcio extra a los pacientes. Por otro lado, el tipo de gel formado inicialmente tenía relativamente baja adherencia y se presentaba bastante débil, lo que motivó la modificación de los alginatos con la incorporación de acrilamida. Esto se logra a 2 kGy final, tasas de dosis de 1 kGy/día y en solución acuosa de 6 %, formando hidrogeles en contacto con solución de Ca 3 % - 6 % dando películas uniformes, estables, adherentes y delgadas.

Dada la dificultad técnica de aplicar estos geles a la superficie mucosa en estos pacientes con mucositis, y siendo imposible realizarlo mediante una solución acuosa que pueda aplicarse en formato de buches, es como se desarrolló este sistema de aplicación en forma de spray. El mismo consta de dos soluciones separadas. Una de ellas contendrá las sales de alginato modificada con poliacrilamida junto a la morfina (solución A) y la otra contendrá la solución que aportará los iones calcio necesarios para que se forme un hidrogel en forma inmediata (solución B), de muy bajo espesor, mucoadhesivo y estable. Esto se consigue al aplicar en forma sucesiva primero el spray con la solución A y luego sobre esta una segunda aplicación con el spray de solución B. En este caso la aplicación del analgésico es de vital importancia, ya que el dolor

asociado a la mucositis es el síntoma más inhabilitante en este tipo de pacientes. Lo que se busca con esta aplicación es obtener un efecto doble: por un lado lograr una barrera que proteja al epitelio dañado y por el otro un mayor tiempo de contacto de este sistema tipo película con la mucosa, lo que haría suponer que la administración tópica del analgésico (morfina por ejemplo) al estar en mayor concentración y mayor tiempo conlleve a mejorar la eficacia terapéutica.

Se deberá corroborar y evaluar con estudios *in vivo* futuros el comportamiento de estos hidrogeles con la droga, ya que podemos suponer que la formación de geles instantáneos hacen complicada la predicción de la cesión de la droga dificultando las estimaciones de un modelo matemático, entre otras cosas por la variabilidad presentada en el espesor del hidrogel formado en la mucosa.

4.2 Resultados Hidrogeles como cobertores de heridas

Las primeras experiencias en los geles de acrilamida demuestran la imposibilidad de disminuir la alta pegajosidad de los hidrogeles formados a un nivel aceptable, al menos que se disminuya la concentración de glicerina por debajo del 40 % m/m. Las muestras con alto contenido de glicerina no se pueden desprender del soporte con facilidad y se muestran excesivamente elásticas.

Si se disminuye la mezcla inicial con valores de glicerina (37 % - 40 %), acrilamida (34 % - 40 %) y agua, y se irradia a 25 kGy aproximadamente, con una tasa de dosis de 10 kGy/h, en atmósfera de aire y temperatura ambiente, muestran una aceptable transparencia, adquiere la forma del soporte irradiado y son de fácil despegue del mismo sin ruptura.

Como característica más importante, estos hidrogeles presentan una alta capacidad de hinchamiento alcanzando valores de 800 veces el peso seco inicial a las 27 horas, mientras que la mitad del hinchamiento de equilibrio toma lugar después de aproximadamente 8 horas.

En comparación con la bibliografía, estos hidrogeles se los llama superabsorbentes (lo hacen rápido y en gran cantidad) y tienen características similares a los obtenidos usando como solvente único el agua, o sea geles de poliacrilamida.

No es nuestro objetivo formar geles superabsorbentes aunque son de amplio estudio actual en el área de los nuevos polímeros, sin embargo, debemos resaltar que la presencia de agua absorbida en la matriz orgánica juega un papel muy importante en las propiedades de biocompatibilidad, permeabilidad y

difusión, pero afecta negativamente sus propiedades mecánicas. Una forma de paliar estos inconvenientes es aumentar el grado de entrecruzamiento, y también así poder incorporar mayor concentración de glicerina en la formulación (>40 %). Por tales motivos se adiciona agentes entrecruzadores para evaluar su comportamiento frente a la red de poliacrilamida bajo irradiación.

Así se trabaja con trimetacrilato de trimetilol propano (T), glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato (D), dimetacrilato de dietilen glicol (G) y dimetacrilato de glicerol (M).

La observación en forma cualitativa de las 120 formulaciones ensayadas resultó muy efectiva para separar rápidamente las mezclas de interés que requieran su repetición y un mayor estudio posterior.

De las primeras observaciones se puede afirmar que los geles obtenidos por radiación ionizante empleando en su composición cualquiera de los entrecruzadores ensayados (T, M, G y D) a concentraciones de glicerina entre 40%-50% son materiales que contienen moderada a nula adherencia. Por lo general, cuando la concentración de los entrecruzadores aumenta, esta propiedad disminuye, salvo T muestra una moderada y constante adherencia independientemente de la concentración.

Los geles que contienen concentraciones de glicerina mayores al 60 % presentan una alta adherencia para los entrecruzadores T y G, mientras que al emplear D y M dan geles con adherencia moderada y maleabilidad, propiedades de nuestro interés. Estas propiedades disminuyen con el aumento de la concentración de los entrecruzadores.

Así, como son propiedades variables según las concentraciones de entrecruzadores y glicerol, se hace un estudio de los hidrogeles formados por D y M que se pueden adecuar para nuestro objetivo de aplicación como cobertores de heridas en piel dañada.

Los estudios de hinchamiento son muy importantes para comprender las relaciones entre la red y los solventes, más aún en este nuevo hidrogel formado por dos solventes.

El estado de máximo hinchamiento es el resultado de un equilibrio entre las fuerzas osmóticas que causan que el agua penetre entre las cadenas del polímero hidrófilo y las fuerzas cohesivas existentes entre estas cadenas que oponen resistencia a la expansión.

Como se condice con la literatura de referencia uno de los factores más importantes de la capacidad de expansión es el grado de entrecruzamiento. A mayor concentración de ambos entrecruzadores hay un mayor grado de reticulación y con ello la disminución del máximo hinchamiento. Mayor cantidad de cadenas entrelazadas hace pensar la difícil incorporación de agua y la expansión de las mismas.

Los hidrogeles con 1 % de M alcanzan el máximo al 400 %, mientras que para 10 % de entrecruzador en la mezcla, el máximo hinchamiento es cercano al 130 %.

También requieren de más tiempo para alcanzar el mismo nivel de hinchamiento que los geles que tienen menor concentración.

Las curvas de hinchamiento presentan algunas diferencias entre los entrecruzadores seleccionados D y M solo a bajas concentraciones de los mismos, cuando es más evidente el accionar de cada uno sobre la red y su modificación. Cuando el entrecruzamiento es alto los comportamientos son similares a la misma concentración de acrilamida y glicerol.

Los resultados demuestran que la glicerina no participa del hinchamiento de los geles como un agente principal, mientras que sí lo hace el monómero.

Esto indicaría que no hay interacciones importantes de expulsión de glicerina y que independiente de su concentración, la mayoría está atrapada en la red polimérica, evitando que salga y pueda dar lugar a espacios libres que intente ocupar el solvente.

Las teorías conocidas debido a la incorporación de agua dentro de los hidrogeles tienen controversias en cuanto a las unidades de agua ligada a las cadenas y el agua libre, se introduce ahora otro solvente y con ello aumenta en grado de estimaciones en cuanto a las unidades disponibles de los solventes, junto con la interacción ente ellos. En este sentido, los resultados de las micrograffías obtenidas por microscopia electrónica junto con los estudios de hinchamiento sugieren la formación de una red de poliacrilamida entrecruzada formando poros, con secciones bien definidas y homogéneas, tipo burbujas y dan un esquema de posible formación de grupos de glicerina asociada a las cadenas donde el agua juega un rol importante de interfase entre ambas especies.

La importancia práctica para la tecnología de la liberación controlada del estado del agua en los hidrogeles es su relación con el transporte. El agua que está firmemente unida al polímero no podrá contribuir mucho a la solvatación de otras especies que se difunden. Por el contrario, el agua libre en el hidrogel facilita el transporte del soluto. En principio, uno podría estimar que son hidrogeles con menor capacidad de hinchamiento y transporte que uno formado solamente con agua a la misma composición polimérica, pero que tienen en principio mejores propiedades mecánicas puesto que forman mayor cantidad de enlaces. También, al incorporar un segundo solvente las dificultades en la predicción del comportamiento aumenta.

Es importante conocer cuál es la cinética de hinchamiento de los hidrogeles que contienen el fármaco, ya que el proceso afecta su liberación. Así, los resultados expuestos demuestran que para hidrogeles de poliacrilamida,

glicerol (62 %) y entrecruzador D y los formados por poliacrilamida, glicerol (62 %) y entrecruzador M, las curvas de cinética para largos tiempos de hinchamiento corresponden a segundo orden, siguen el modelo de Schott con muy buenas correlaciones en sus aproximaciones y tienen una difusión no fickiana o anómala durante la etapa de difusión de agua dentro del hidrogel. Por lo que, a tiempos largos el fenómeno está gobernado no solo por la difusión sino también por la relajación de las cadenas poliméricas.

Finalmente, se establece una formulación final y novedosa de un hidrogel obtenido con el empleo de radiaciones ionizantes a dosis finales de 25 kGy, a una tasa de dosis de 10 kGy/h aproximadamente, con rotación, a temperatura ambiente y atmósfera de aire, compuesto por acrilamida, glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato, agua y altas concentraciones de glicerina.

En general el procedimiento es sencillo y con 200 g aproximadamente de mezcla inicial se logran 15 discos de 3 mm de espesor y 9 cm de diámetro. También se puede adquirir otra forma simplemente colocando el soporte adecuado y definitivo para su manipulación posterior a la irradiación, teniendo en cuenta que el producto en estas dosis se encuentra estéril.

De los estudios previos a la irradiación, la estabilidad se evalúa a 36 h antes de su irradiación, conservadas a 8 °C, en las mezclas hay un aumento de la viscosidad en un 12 %, indicando una posible pre polimerización, sin embargo, no presenta diferencia en aspecto general luego de irradiadas en comparación con las muestras preparadas inmediatamente antes de irradiarse.

Cuando al material se lo coloca en un sistema frío (8 °C) el hidrogel se enfría, si se lo saca a temperatura ambiente de 25 °C tarda aproximadamente 35 minutos en alcanzarla. Cuando se lo somete a temperaturas altas de 85 °C tarda en alcanzar una temperatura ambiental unos 25 minutos, sin alterar el color, la forma y la transparencia. Solo a temperaturas por encima de 120 °C cambia su coloración.

No se evidencia pérdida de masa en ninguna de las dos situaciones, lo que implica que los solventes están asociados en gran parte a la estructura del hidrogel.

Esta posibilidad de adquirir una baja temperatura le da una propiedad interesante para su aplicación.

La incorporación de la droga en estos hidrogeles permanentes que sometidos a la radiación gamma se polimeriza el monómero acrilamida y se copolimeriza con el agregado de glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato, en presencia de agua y glicerol, puede realizarse en dos etapas bien diferenciadas, antes de su irradiación con la mezcla del monómero, y posterior a su formación por la capacidad de que tienen estos materiales de hincharse y así incorporar la droga.

La incorporación de mupirocina al 2 % (tomada como referencia) en la mezcla inicial previo a su irradiación, no permite la formación de hidrogeles de similar aspecto que los obtenidos sin la droga, no son fácilmente extraíbles del soporte y pierden rigidez.

Las muestras que incorporan la solución de mupirocina lo hacen muy lentamente, > 12 h para 1ml y el dispositivo se opaca.

Estos resultados demuestran la dificultad de colocar drogas dentro del dispositivo, ya sea antes o luego de ser irradiado. En la práctica clínica cobra importancia su estudio in vivo, ya que sorprendentemente este dispositivo resalta por sus propiedades físico químicas sin la droga, lo que lo convierten en un excelente y competitivo apósito para heridas de piel, tratamiento posteriores a una cirugía estética, parches empleados en lactancia, etc.

Su alto contenido en glicerina, su capacidad de intercambio de gases, transparencia, posibilidad de enfriarse y mantener esta propiedad sobre la herida, usarlo por periodos largos de tiempo, permanecer estéril en su envoltorio que también es irradiado, y con posibilidades de producirse en la forma que se requiera (tamaño y espesor) hacen de este dispositivo un material muy interesante. Si bien la aplicación tópica de sustancias que puedan mejorar la cicatrización de una herida, ya sean antibióticos para prevenir la infección, como también analgésicos para reducir el dolor vehiculizados por este apósito puede considerarse un valor agregado al material nativo, es sorprendente encontrar con que las propiedades antes descritas, tan útiles en proceso de cicatrización, por si solas ya sean el gran valor de estos dispositivos como adyuvantes en el proceso de cicatrización.

5. CONCLUSIONES

Se ha logrado un sistema mucoadhesivo a base de alginato de sodio modificado con acrilamida usando radiaciones ionizantes, el cual podrá utilizarse en forma tópica sobre la mucosa bucal.

También se han sintetizado hidrogeles basados en poliacrilamida, agua y alto contenido de glicerol aplicando la tecnología de las radiaciones con una formulación única y novedosa, capaces de formar dispositivos cobertores de heridas.

Las principales conclusiones del trabajo son:

Una de las principales aplicaciones de los hidrogeles en el campo médico está vinculada a la formación de nuevas formas farmacéuticas. Se pueden formar a partir de polímeros naturales como los alginatos de sodio y polímeros sintéticos como poliacrilamida.

La tecnología de las radiaciones es una herramienta excelente para la preparación de hidrogeles, no requiere iniciadores, no genera residuos, puede polimerizar, copolimerizar y degradar distintos materiales modificando sólo algunos parámetros como: estado físico, dosis y tasa de dosis. Es una tecnología de relativamente bajo costo, disponible y eficiente.

La modificación de polímeros naturales mediante entrecruzamiento, injertos y degradación es un campo que actualmente reviste grandes expectativas, y es un área de estudio nueva en el país. La obtención de nuevos oligosacáridos que se desprenden de algunos de los resultados aquí obtenidos está siendo actualmente estudiada por diversos países como promotores de crecimiento vegetal. La modificación también es un área de interés internacional para la generación de materiales intrínsecamente biocompatibles con mejoras en sus propiedades mecánicas y capacidad de hinchamiento.

La incorporación de grupos de poliacrilamida a la cadena del alginato proporciona mejores propiedades mecánicas cuando se irradian a bajas dosis como por ejemplo 2 kGy, y continúan formando geles en presencia de calcio y en forma instantánea posterior a su irradiación en estado líquido.

La irradiación en estado líquido implica mayor ruptura de enlaces por acción directa de la radiación sobre el polisacárido pero fundamentalmente por la presencia de radicales libres producto de la radiólisis del agua que favorecen la ruptura, sin embargo estos mismos radicales son agentes muy efectivos para llevar a cabo una reacción de entrecruzamiento.

La irradiación en estado pastoso con porcentajes de polisacárido cercano al 40 % m/v es una excelente alternativa para las irradiaciones a dosis mayores y favorecer la copolimerización sin degradar significativamente la cadena del polímero natural.

El sistema mucoadhesivo obtenido en base a alginato de sodio copolimerizado con poliacrilamida con posibilidad de incorporar un analgésico para aplicación tópica en mucosa bucal debe estudiarse a futuro en aplicaciones clínicas.

La incorporación en las mezclas de un segundo solvente para la formación de un hidrogel permite obtener no solo el sistema buscado como apósito sino también originó una serie de materiales con características muy particulares como transparencia, adherencia, elasticidad y rápido hinchamiento de potenciales aplicaciones en diversos campos

El uso de las radiaciones ionizantes permite la formación de hidrogeles de poliacrilamida a partir simplemente de la solución inicial de los monómeros y los solventes, y simultáneamente a este nivel de dosis, se logra un producto estéril. La solución inicial se coloca en un envase con la forma y el tamaño que se requiera el parche y se somete a una dosis de 25 kGy. El hidrogel obtenido tiene las siguientes propiedades tales como: transparente, permitiendo observar el seguimiento del proceso de curación, elástico, levemente adherente, con capacidad para enfriarse y ofrecer sensación de frío, con capacidad de hincharse e intercambiar fluidos, pudiendo mantener la humedad de la zona dañada, fácilmente removible y lavable. Si bien la aplicación tópica de sustancias que puedan mejorar la cicatrización de una herida, ya sean antibióticos para prevenir la infección, como también analgésicos para reducir el dolor vehiculizados por este apósito puede considerarse un valor agregado puesto que el material como tal tiene propiedades muy útiles en el proceso de cicatrización.

6. RESUMEN

En forma simultánea a la investigación de nuevas moléculas de fármacos o a su mejora, la investigación y el desarrollo en el área farmacéutica llevan a cabo trabajos dirigidos a la búsqueda de nuevas formas de administración de drogas y medicamentos, que también suponen un claro beneficio para el paciente. Estos avances van en paralelo con el crecimiento de la química de los polímeros. Los hidrogeles cumplen un rol muy importante como nuevos materiales y su potencial uso en aplicaciones biomédicas.

En este trabajo se han propuesto dos tipos diferentes de hidrogeles para su potencial uso como sistemas liberadores de drogas en forma tópica: uno vinculado a la administración en mucosa oral y el otro en piel dañada. Esencialmente se ha buscado generar y aportar una nueva herramienta en el tratamiento de estas lesiones, a través de un control tópico del dolor, cicatrización e infección.

La tecnología de radiaciones es un excelente método para la obtención de nuevos materiales que puedan adaptarse a las necesidades de diseño. Además, resuelven el problema de la esterilización y generan productos más puros sin iniciadores residuales tóxicos. Nuestro país cuenta con irradiadores gamma que pueden ser empleados para la polimerización, copolimerización y degradación de polímeros. En este trabajo se desarrollan estos tres procesos aplicándose a polisacáridos de origen natural, monómeros y polímeros sintéticos.

Los alginatos tienen la propiedad de adherirse a la mucosa oral aplicados en forma de spray. Estos polisacáridos forman geles instantáneos en presencia de iones calcio pero en sus formas naturales presentan debilidad mecánica y son rápidamente reversibles. Con el fin de optimizar estas propiedades en esta parte del trabajo se injertaron grupos acrílicos a la cadena del alginato de sodio por medio de radiaciones ionizantes, sin el agregado de iniciadores o entrecruzadores de tal manera que se logró la polimerización y la simultánea incorporación de monómeros dentro de la cadena principal. Las evaluaciones involucraron el uso de ácido acrílico y acrilamida como monómeros, cambios en las dosis de irradiación y variaciones de solventes en la formulación. La caracterización de la formación de un nuevo compuesto se realiza con FTIR. Como uno de los efectos de la radiación en polímeros naturales es la degradación, se incluye su estudio en distintos estados de agregación a altas dosis.

Los hidrogeles que más se ajustaron a nuestro objetivo fueron los obtenidos con el uso de acrilamida:alginato en relación molar 1.2, y en las siguientes condiciones de irradiación: 2 kGy dosis final, a una tasa de dosis de 1 kGy/día, en estado líquido y atmósfera de aire. Estos hidrogeles se forman

instantáneamente en la mucosa oral, agregando una solución con iones calcio, formando una película transparente, viscosa, con mayor fuerza de adhesión (+50 %) que el polímero sin modificar. Este sistema mucoadhesivo con la incorporación de un analgésico es de interés para el uso en pacientes con mucositis con el objeto de formar una barrera y aumentar el tiempo de contacto con la droga y con ello la eficiencia terapéutica.

El otro hidrogel formado corresponde a una formulación obtenida a partir de la irradiación gamma de acrilamida en presencia de dos solventes: agua y glicerol. Por lo general, la mayoría de los hidrogeles están formados por agua, en este caso, hemos propuesto que el compuesto mayoritario sea glicerol y someterlo bajo radiación para la polimerización de acrilamida.

Se estudia la cinética de hinchamiento en solución acuosa de las mejores composiciones obtenidas con los entrecruzadores seleccionados, el glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato y el dimetacrilato de dietilenglicol, donde las curvas de cinética corresponden al segundo orden y tienen una difusión no fickiana o anómala durante la etapa de difusión de agua dentro del hidrogel.

Finalmente, se establece una formulación final y novedosa de un hidrogel obtenido con el empleo de radiaciones ionizantes a dosis finales de 25 kGy, a una tasa de dosis de 10 kGy/h aproximadamente, a temperatura ambiente y atmósfera de aire, compuesto por acrilamida, glicerol 1,3 diglicerolato diacrilato, agua y altas concentraciones de glicerina (>60 %).

Su alto contenido en glicerina, su capacidad de intercambio de gases y de fluidos, la transparencia, la posibilidad de enfriarse y mantener esta propiedad sobre la herida, usarlo por períodos largos de tiempo, permanecer estéril en su envoltorio que también es irradiado, y con posibilidades de producirse en la forma que se requiera (tamaño y espesor) hacen de este dispositivo un material muy interesante.

Un dispositivo como este debería alcanzar una rápida cicatrización y mínimos inconvenientes para el paciente, creando un ambiente óptimo que acompañe las distintas fases de curación.

Lo convierte en un excelente y competitivo apósito para heridas de piel, tratamientos posteriores a una cirugía estética, parches empleados en lactancia, etc. Ambos hidrogeles son una nueva formulación farmacéutica con vasto potencial para su uso clínico, de fácil producción en masa y a costos razonables.

El trabajo comprendió el estudio de la degradación producida por las radiaciones ionizantes en polímeros naturales especialmente polisacáridos que resulta ser de interés en la comunidad internacional, puesto que justamente estos oligosacáridos muestran diversas importantes aplicaciones en el área agrícola. Se estudia la viscosidad y las masas moleculares en función de las

dosis, como así también el grado de ruptura de las cadenas y su caracterización por UV-vis y FTIR.

Durante la búsqueda de la formulación final surgieron una serie de nuevos materiales con características muy particulares y variadas a saber: elásticos, transparentes, adhesivos y sumamente absorbentes, que serán objeto de estudios futuros para otras aplicaciones.

Este trabajo dio lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones a congresos:

Reportes anuales correspondientes al proyecto financiado por la IAEA (N° 14770/R0), bajo el título: Radiation processing of marine algal polysaccharides for agriculture, as plant growth promoters & preservation of foods and health care products as instant hydrogel formations for improved mucosa adhesion and medical applications. 2008, 2009 y 2010. Smolko E. Cerchietti M.L. Clozza M.

Cerchietti M.L., Mondino A. Smolko E. 2008. Obtention of radiation processed polysaccharide materials as – in situ- instant gels for medical applications. 8th International Symposium on Ionizing Radiation and Polymers, (IRAP). Rio de Janeiro, Brasil, 12-17 Octubre, 2008.

Mondino A., Sotelo J., Cerchietti M.L., Smolko E.2009. Hydrogels by radiation synthesis as transitory tissue covertures. ARCHIPOL'09, V Argentine-Chilean Polymer Symposium, VIII Argentine Polymer Symposium, IX Chilean Symposium, Los Cocos, Cordoba, 18-21 Octubre, 2009.

Cerchietti M.L., Giardina E, Villela F, Divo F, Clozza M. ,Smolko E. 2009. Polisacáridos Irradiados para su Aplicación en Agricultura. Resultados Preliminares. Actas de la XXXVI Reunión de la Asociación Argentina de Tecnología Nuclear (AATN), Buenos Aires, 16-20 de Noviembre 2009.

Nabinger P., Cerchietti M. L., Mondino A. ,Smolko E . 2009. Control de la Radiodegradación de Polímeros Naturales Mediante la Determinación del Peso Molecular por Medición de Viscosidad..Actas de la XXXVI Reunión de la Asociación Argentina de Tecnología Nuclear (AATN), Buenos Aires, 16-20 de Noviembre 2009.

Smolko E, Clozza M, Cerchietti M.L., Giardina E, Villela F, Divo 2009. M. Use of Marine Algal Polysaccharides for Agriculture. Sustainable Plant Management Using Biosourced Polymers. When Chemistry Meets Plant Biology Reunion. Universite de Reims-Champagne Ardenne, Reims, France, 14 October 2009.

Radiation Chemistry of Polysaccharides. IAEA Book, Vienna. Selected Applications; Chapter 8: Radiation degraded polysaccharides as plant growth promoters in horticultural species Clozza M., Divo M, Giardina E, Villela F, Smolko E, Cerchietti ML. 2017

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abad L., Kudo H., Saiki S, et al. 2010. Radiolysis studies of aqueous k-carrageenan. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B268*: 1607-1612
- Advance in radiation chemistry of polymers,2004. IAEA-TECDOC-1420
- Al-Assaf S, Phillips G, Williams P. 2007a. Application of ionizing radiations to produce new polysaccharides and proteins with enhanced functionality. *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res: B265*: 37-43.
- Al-Assaf, S., Phillips, G., Aoki, H. et al. 2007b. Characterization and properties of *Acacia senegal* (L.) Willd. var. *senegal* with enhanced properties (*Acacia* (sen) SUPER GUM(TM)): Part 1--Controlled maturation of *Acacia senegal* var. *senegal* to increase viscoelasticity, produce a hydrogel form and convert a poor into a good emulsifier *Food Hydrocolloids* 21: 319-328.
- Alpesh P., Mequanint K. 2011. Hidrogel Biomaterials, *Biomedical Engineering-Frontiers and Challenges*, Prof. Reza Fazel (Ed), In Tech. 275-296
- Am Ende M, Mikos A. 1997. Diffusión Controlled Delivery of Proteins from Hydrogels and other Hydrophilic Systems, in "Protein Delivery: Physical Systems", Editores L. M. Sanders, R. W. Hendren, Plenum Press, New York.
- Anders R, Merkle H. 1989. Evaluation of laminated mucoadhesive patches for buccal drug delivery. *Int J Pharm*: 49:231-40.
- Anh J, Choi K, Cho C. 2001. A novel mucoadhesive polymer prepared by template polymerization of acrylic acid in the presence of chitosan. *Biomaterials*: 22: 923-928.
- Arredondo Penaranda A, Londono Lopez M. 2009. Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos. *Revista Ingenieria Biomedica*, 3: 5: 83-94.
- Barbucci, R., Leone, G., Vecchiullo, A. 2004. Novel carboxymethylcellulose-based microporous hydrogels suitable for drug delivery. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 15: 607-619
- Benamer, S., Mahlous, M., Boukrif, A., et al 2006. Synthesis and characterisation of hydrogels based on poly(vinyl pyrrolidone). *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* : 284-290.
- Beyssac, Bregni, Aiache et al. 1996. Hydrogel implants for methotrexate obtained by ionizing radiation. *Drug Development and Ind. Pharmacy*: 22:439-444
- Boateng J, Matthews K, Stevens H, et al. 2008. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *Journal Pharm Science*: 97: 2892-2923

- Bouckaert S, Remon JP. 1993. *In-vitro* bioadhesion of a buccal, miconazole slow-release tablet. *J Pharm Pharmacol*: 45: 504–507.
- Boyapally H, Nukala R, Bhujbal P et al. 2010. Controlled release from directly compressible theophylline buccal tablets. *Colloids Surf B Biointerfaces*: 77: 227–233.
- Byrne M, Park K, Peppas N. 2002. Molecular imprinting within hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev*: 54, 149-161.
- Cabrera Sotelo J. 2010. Hidrogeles de PVA-PVP conteniendo nanoparticulas de plata obtenidos por radiación gamma. Ed. Asamblea Nacional de Rectores, Peru.
- Cerchietti L, Navigante A, Bonomi M, et al. 2002. Effect of topical morphine for mucositis-associated pain following concomitant chemo-radiotherapy for head and neck carcinoma. *Cancer*: 95: 2230-2236.
- Cerchietti L. 2007. Morphine mouthwashes for painful mucositis. *Support Care Cancer*: author reply 117, 15: 115-116.
- Charlesby A. 1960. *Atomic Radiation and Polymers*. Pergamonn Press. NY.
- Consuelo I, Falson F, Guy R et al. 2007. Ex vivo evaluation of bioadhesive films for buccal delivery of fentanyl. *J Control Release*: 122: 135–140
- Controlling of degradation effects in radiation processing of polymers IAEA, Vienna, 2009 IAEA-TECDOC-1617
- Cox J. 1982. Interruptions adversely affect local control and survival with hyperfractionated radiation therapy of carcinomas of the upper respiratory and digestive tracts. New evidence for accelerated proliferation from Radiation Therapy Oncology Group Protocol 8313. *Cancer*: 69: 2744-2748.
- Davidovich-Pinhas M, Havazelet Bianco-Peled. 2010. A quantitative analysis of alginate swelling. *Carbohydrate Polymers*: 79: 1020–1027
- De Haven-Hudkins D. 2003. Peripherally restricted opioids drugs: advances and retreats. *Current Opinion Anesthesiology*: 16: 541-545.
- Denham J. 1991. Concurrent cisplatin, infusional fluorouracil and conventionally fractionated radiation therapy in head and neck cancer: dose limiting mucosal toxicity. *J Clin Oncol*: 458-463.
- Donnelly R, McCarron P, Zawislak A et al. 2006. Design and physicochemical characterisation of a bioadhesive patch for dose-controlled topical delivery of imiquimod. *Int J Pharm*: 307: 318–325.

Eichenbaum, G. M., Kiser, P. F., Dobrynin et al. 1999. Investigation of the swelling response and loading of ionic microgels with drugs and proteins: the dependence on cross-link density, *Macromolecules*, vol 32 no. 15: 4867 - 4878

Fang Y, Al-Assaf S, Phillips G. 2007. Multiple steps and critical behaviors of the binding of calcium to alginate. *J. Phys. Chem: B*: 15,111(10): 2456-2462.

Fernandez de Giorgi C, Mallo R, Smolko E. et al. 1995. Ampicillin release from swellable controlled system. *J of Controlled Release*: 33: 343-348

Fields H. 1980. Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibres. *Nature*: 284: 351-353.

Flory P. J.1953. *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press. Ithaca, New York.

Funami, T., Hiroe, M., Noda, S., et al. 2007. Influence of molecular structure imaged with atomic force microscopy on the rheological behavior of carrageenan aqueous systems in the presence or absence of cations. *Food Hydrocolloids* 21: 617-629.

Funami T, Fang Y, Noda S. et al. 2009. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. *Food Hydrocolloids*: 23(7): 1746-1756.

Gallagher R, et al. 2004. Methadone mouthwash for the management of oral ulcer pain. *J Pain Sympt Manage*: 27: 390-391.

Giannouli, P., Morris, E. R. .2003. Cryogelation of xanthan. *Food Hydrocolloids* 17: 495-501.

Gulrez S., Al-Assaf S., Phillips G. 2011. Hydrogels: Methods of preparations, characterization and applications, *Progress in molecular and environmental bioengineering- from analysis and modeling to technology applications*, prof. A. Carpi. Intech. 117-150.

Gupte A, D'Souza F. 1999. Stabilization of alginate beads using radiation polymerized polyacrylamide. *J. Biochem. Biophys. Methods*: 40: 39-44

Gupta A., Garg S., Khar R., 1994. Interpolymer complexation and its effect on bioadhesion strength and dissolution characteristics of buccal drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm* 20: 315-325

Gurny R, Meyer J, Peppas N et al. 1984. Bioadhesive intraoral release systems: Design, testing and analysis. *Biomaterials*: 5: 336-340.

Hagerstrom H, Edsman K. 2003. Limitations of the rheological mucoadhesion method: The effect of the choice of conditions and the rheological synergism parameter. *Eur J Pharm Sci*: 18: 349-357.

- Hassan C, Peppas N. 2000. Structure and applications of poly (vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods. *Advances in Polymer Science*: 153: 37-65.
- Hassan E, Gallo J. 1990. A simple rheological method for the in vitro assessment of mucin-polymer bioadhesive bond strength. *Pharm Res*: 7: 491–495.
- Hirotsu S., Hirokawa Y., Tanaka T. 1987. Volume-phase transitions of ionized *N*-isopropylacrylamide gels *J. Chem. Phys.*, 87: 1392-1395
- Hoffman A. 2002. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 54, No. 1: 3-12
- Holme H, Davidsen L, Kristiansen A. et al. 2008. Kinetics and mechanisms of depolymerization of alginate and chitosan in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*: 73: 656-664
- Holme H, Lindmo K, Kristiansen A. 2003. Thermal depolymerization of alginate in the solid state. *Carbohydrate Polymers*: 54: 431-438
- Huang Y, Szleifer I, Peppas N. 2002. A Molecular Theory of Polymer Gels," *Macromolecules*, 35: 1373-1380
- Ishida M., Nambu N, Nagai T. 1982. Mucosal dosage form of lidocaina for toothache using hidroxipropyl cellulose and carbopol. *Chem. Pharm. Bull*: 30: 980-984.
- Jiménez-Castellanos M, Zia H, Rhodes C. 1993. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug. Dev. Ind. Pharm*: 19 (1, 2): 143-194.
- Joshi H., Topp E. 1992. Hydration in hyaluronic acid and its esters using differential scanning calorimetry. *Int. J. Pharmaceutics*, 80: 213-225
- Kadokawa J, Saitou S, Shoda, S. 2005. Preparation of alginate-polymethacrylate hybrid material by radical polymerization of cationic methacrylate monomer in the presence of sodium alginate. *Carbohydrate Polymers*: 60: 253-258.
- Kanjickal D G, Lopina S. 2004. Modeling of drug release from polymeric delivery system- a review. *Critical Reviews in therapeutic drug carrier systems* 21: 245-386
- Katime D., Katime O., Katime I. 2004. Los materiales inteligentes de este milenio. Los hidrogeles macromoleculares: síntesis, preparación y aplicaciones. Ed. Universidad del País Vasco.
- Kim S., Hahn S et al. 2005. Development of a novel sustained release formulation of recombinant human growth hormone using sodium hyaluronate microparticles. *J. of Controlled Release* 104: 323-335.

King A., Stellar J.J, et al. 2014. Dressings and products in pediatric wound care. *Adv wound care* 3(4): 324-334

Kume T, Nagasawa N, Yoshii F. 2002. Utilization of carbohydrates by radiation processing. *Rad. Phys. Chem.* 63: 625-627

Laurienzo P, Malinconico M, Mattia G. 2006. Novel alginate-acrylic polymers as a platform for drug delivery. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*: 1;78(3):523-31. 1;78(3): 523-531

Lee J, Park J, Robinson J. 2000. Bioadhesive-Based dosage forms: The next generation. *J. Pharm: Sc.* 89. N° 7: 850-866.

Lee K K, Cussler E L. Marchetti M. 1990. Pressure-dependent phase transitions in hydrogels. *Chem Eng Sci*, 45(3): 766–767

Lejoyeux F, Ponchel G, Duchêne D. 1989. Influence of some Technological parameters on the bioadhesive characteristics of polyacrylic acid matrices. *S.T.P Pharma*: 5 (12): 893-898.

Leung S, Robinson J. 1988. The Contribution of anionic polymer structural features related to mucoadhesion. *J Control Release*: 5: 223–231.

Li H; Luo R, Lam K. 2007. Modeling and simulation of deformation of hydrogels responding to electric stimulus. *Journal of Biomechanics*: 40: 1091-1094.

Lin C, Metters A. 2006. Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*: 58: 1379-1408.

Liu P., Peng J., Li J, et al .2005. Radiation crosslinking of CMC-Na at low dose and its application as substitute for hidrogel. *Radiation Physics and chemistry* 72: 635-638.

Longer M, Robinson J. 1986. Fundamental aspects of bioadhesion. *Pharm Int.*, 7: 114-117

Lowman A, Peppas N. 1999. Hydrogels in *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. Editor E. Mathiowitz, Wiley, New York.

Lugao, A. B. , Malmonge, S. M. .2001. Use of radiation in the production of hydrogels. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 185: 37-42.

Mangussi, J. 2006. Modelado de las curvas de tasas de dosis absorbidas en aire para una planta de irradiación semi industrial". *Symposium of the Latin American Society of the American Nuclear Society*". Buenos Aires, Argentina.

Marchetti M, Prager S., Cussler E. 1990. Thermodynamic predictions of volume changes in temperature-sensitive gels. 2. Experiments. *Macromolecules*, 23: 3445-3450.

Makuuchi K. (2010). Critical review of radiation processing of hydrogel and polysaccharide. *Radiation Physics and Chemistry*, 29: 267-271

Mikos A, Peppas N. 1986. Systems for controlled release of drugs V. Bioadhesive systems. *S.T.P. Pharma*: 2 (9): 705-716.

Miller S, Donovan M. 1982. Effect of poloxamer 407 gel on the miotic activity of pilocarpine nitrate in rabbits. *Int. J. Pharm*: 12: 147-152.

Mondino A. 1999. Physical properties of gamma irradiated poly(vinyl alcohol) hydrogel preparations. *Radiation Physics and Chemistry*: 55: 723-726

Nafee N, Ismail F, Boraie N, Mortada L. 2003. Mucoadhesive buccal patches of miconazole nitrate: *in vitro/in vivo* performance and effect of ageing. *Int J Pharm*: 264: 1-14.

Nagai T, Machida Y. 1985. Mucosal adhesive dosage forms. *Pharm. Int*: 6 (8): 196-200.

Nagai T. 1996. Adhesive topical drug delivery systems. In: Anderson J.M. y Kim S.W. *Advances in drug delivery systems*. Elsevier Sci. Pu. New York: 121-134.

Nagasawa N, Mitomo H, Yoshii F., et al. 2000. Radiation-induced degradation of sodium alginate. *Polymer Degradation and stability*: 69: 279-285.

Nagasawa N., Yagi T, Kume T, Yoshii F. 2004. Radiation crosslinking of carboxymethyl starch. *Carbohydrate polymers* 58: 109-113.

Nho Y, Lee J. 2005. Reduction of postsurgical adhesion formation with hydrogels synthesized by radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*: 236-277

Nuutila K., Katajama S et al. 2014. Human wound-healing research: issues and perspectives for studies using wide-scale analytic platforms. *Ad wound care* 3 (3) 264-271

Otake K, Inomata H, Konno M, Saito S. 1989. A New Model for the Thermally Induced Volume Phase-Transition of Gels. *Journal of Chemical Physics*. 91(2): 1345-1350.

Pagliaro M, Rossi M. 2008. *The Future of Glycerol: New Uses of a Versatile Raw Material*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.

Pal K, Banthia A, Majumdar D. 2009. Polymeric Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications –A mini review. *Designed Monomers and Polymers*: 12: 197-220

Park K, Park H. 1990. Test methods of bioadhesion, Bioadhesive drug delivery systems. In: Lenaerts V, Gurney R, editors. Florida, Boca Raton.

Park K, Robinson J. 1984. Bioadhesives as platforms for oral controlled drug delivery. *Int. J. Pharm.*: 19: 107-127.

Park K, Robinson J. 1985. Physico-chemical properties of water insoluble polymers important to mucin/epithelial adhesion. *J. Controll. Rel.*: 2: 47-57.

Peniche C., Argüelles-Monal W., Davidenko N. et al. 1999. Self-curing membranes of chitosan/PAA IPNs obtained by radical polymerization: preparation, characterization and interpolymer complexation. *Biomaterials* 30: 1869-1878.

Peppas N, Bures P, Leobandung W. 2000a. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*: 50: 27-46.

Peppas N, Buri P. 1986. Surface interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. In: *Advances in drug delivery systems*. Elsevier Science Publishers. New York. 257-275.

Peppas N, Little M, Huang Y. 2000b. Bioadhesive Controlled Release Systems. In: Wise DL, editor. *Handbook of pharmaceutical controlled release technology*. New York: Marcel Dekker: 255-269.

Peppas, N. 1987. *Hydrogels in medicine and pharmacy*. Vol I, II and III. CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida.

Perioli L, Ambrogi V, Giovagnoli S et al. 2008. Influence of compression force on the behaviour of mucoadhesive buccal tablets. *AAPS Pharm Sci Tech*: 9: 274-281.

Petelin M, Pavlica Z, Bizimoska S et al. 2004. *In vivo* study of different ointments for drug delivery into oral mucosa by EPR oximetry. *Int J Pharm*: 270: 83-91.

Pignon P. 2000. Chemotherapy added to loco regional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three meta-analyses of updated individual data. *The Lancet*: 355: 949-9.

Radiation processing of polysaccharides IAEA, Vienna, 2004 IAEA-TECDOC-1422

Radiation synthesis and modification of polymers for biomedical applications IAEA, Vienna, 1996-2000. IAEA-TECDOC-1324

Razem D., Katusin-Razem B. 2008. The effects of irradiation on controlled drug delivery/controlled drug release system. *Rad. Phys. Chem.* 77: 288-344

- Razavi S, Hasan Abadi M, Ghadiri G. 2013. Rheological interaction of sage seed gum with xanthan in dilute solution *International Food Research Journal* 20(6): 3111-3116.
- Relleve L, Nagasawa N, Luan L, et al. 2005. Degradation of carrageenan by radiation. *Polymer Degradation and stability* 87 :403-410
- Rezanejade Bardajee G., Pourjavadi A., Sheikh N. 2008. Grafting of acrylamide onto kappa-carrageenan via γ -irradiation: Optimization and swelling behavior. *Radiation Physics and Chemistry*, 77. 131-137
- Ritger, P. & Peppas, N. 1987. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*. Vol. 5, No. 1: 23-36
- Rodríguez I, Cerezo A, Salem I. 2000. Sistemas de liberación bioadhesivos. *Ars Pharmaceutica*, 41: 115-128.
- Rosiak J.M. 1994. Radiation formation of hydrogels for drug delivery. *J. Control Release*, 31, 9-19
- Rosiak, J.M., Ulanski P., Pajewski F, et al. 1995. Radiation formation of hydrogels for biomedical purpose. Some remarks and comments. *Radiat-Phys.Chem.*, 46: 161-166.
- Rosiak, J. M., Yoshii, F. 1999. Hydrogels and their medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 151: 56-64.
- Rossi S, Maricello M, Bonferoni M et al. 2010. Thermally sensitive gels based on chitosan derivatives for the treatment of oral mucositis. *Eur J Pharm Biopharm*: 74: 248–54.
- Rousseaux C, et al. 2006. *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nature Medicine*: 13(1): 35-37
- Rozier A, Mazuel C, Grove J et al. 1989. A novel, ion-activated, in situ gelling polymer for ophthalmic vehicles. Effect of bioavailability of timolol. *Int. J. Pharm*: 57: 163-168.
- Russell L. 2000. Understanding physiology of wound healing and how dressings help. *Br J Nurs* 9: 10–21.
- Sadeghi M, Mohammadinasab E, Shafiei F et al. 2014. Biodegradable Hydrogels Based on Alginate For Control Drug Delivery Systems. *Current World Environment*: Vol. 9(1): 109-113.
- Saraydin D, Saraydin S, Karadağ E. 2014. Radiation synthesized acrylamide hydrogel: Preparation, characterization and usability as biomaterial. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 42 (1): 129–141

- Schott H. 1992. Swelling kinetics of polymers. *J. of Macromolecular Science*, 31(1): 1-9
- Sen M., Rendeovski S., Akkas Kavakli P., et al. 2010. Effect of G/M ratio on the radiation-induced degradation of sodium alginate. *Radiation Physics and Chemistry* 79: 279-282
- Shaikh R, Singh T, Garland M, Woolfson A, et al. 2011. Mucoadhesive drug delivery systems. *J Pharm Bioallied Sci.* 3(1): 89–100.
- Shemer A, Amichai B, Trau H ,et al. 2008. Efficacy of a mucoadhesive patch compared with an oral solution for treatment of aphthous stomatitis. *Drugs R D*: 9: 29–35
- Shojaei A.1998. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review.*J. Pharm Pharma Sci.* 1: 15-30
- Siepmann J, Sieel R, Rathbone M. 2012. Fundamentals and applications of controlled release drug delivery. Ed Springer , NY. 75-106
- Sintzel M, Bernatchez S, Tabatabay C. 1996. Biomaterials in ophthalmic drug delivery. *Eur. J.Pharm. Biopharm*: 42: 358-374.
- Skjåk-Bræk G, Espevik T. 1996. Application of alginate gels in biotechnology and biomedicine. *Carbohydrates in Europe*:14: 19-25.
- Slatkin N, Rhiner M. 2003. Topical ketamine in the treatment of mucositis pain. *Pain Medicine*: 4: 298-303.
- Smart J, Kellaway I, Worthington H. 1984. An in vitro investigation of mucosa-adhesive materials for use in controlled drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol*: 36: 295-299.
- Smidsrod, O., Glover, R.M., Whittington, S.G. 1973. The relative extension of alginates having different chemical composition. *Carbohydr. Res.* 27, 107–118
- Smidsrød O, Draget K. 1996. Chemistry and physical properties of alginates. *Carbohydrates in Europe*: 14: 6-13.
- Şolpan D, Torun M, Güven O. 2008. The usability of (sodium alginate/acrylamide) semi-intepenetrating polymer networks on removal of some textile dyes. *Journal of Applied Polymer Science*: 108: 3787-3795.
- Sun J, Zhao X, Illeperuma W. et al. 2012. Highly stretchable and tough hydrogels. *Nature*: 489: 133-136.
- Syed K, Gulrez, Saphwan Al-Assaf. 2011. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications, *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications*, Prof. Angelo Carpi (Ed.)

- Tanaka F, 1989. Theory of thermoreversible gelation. *Macromolecules*, 22: 1988-1994.
- Takigami, M., Amada, H., Nagasawa, N., et al. 2007. Preparation and properties of CMC gel. *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, 32: 713-716.
- Thama, L.X., Nagasawa, N., Matsubishi, S., et al. 2001. Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium. *Radiat. Phys.Chem.* 61: 171–175
- Tripathi R, Mishra B. 2012. Development and Evaluation of Sodium Alginate–Polyacrylamide Graft–Co-polymer-Based Stomach Targeted Hydrogels of Famotidine. *AAPS Pharm Sci Tech*: Vol. 13: 1091-1102
- Valles E., Durando D., Katime I., et al. 2000. Equilibrium swelling and mechanical properties of hydrogels of acrylamide and itaconic acid or its esters. *Polymer Bulletin* 44: 109-114.
- Wach, R. A., Mitomo, H., Nagasawa, N. et al. 2003. Radiation crosslinking of carboxymethylcellulose of various degree of substitution at high concentration in aqueous solutions of natural pH. *Radiation Physics and Chemistry* 68: 771-779.
- Wichterle O. 1960. Hydrophilic gels for biological use. *Nature*: 185: 117.
- Woolfson A, McCafferty D, McCallion C et al. 1995. Moisture-activated, electrically-conducting bioadhesive hydrogels as interfaces for bio-electrodes: Effect of film hydration on cutaneous adherence in wet environments. *J Appl Polym Sci*: 58:1291–1296.
- Yamamoto I, Iwasaki K, Hirotsu S. 1989. Light Scattering Study of Condensation of Poly (N-isopropylacrylamide) Chain. *J. Phys. Soc. Jpn*, 58: 210-215.
- Yoshii F, Makuuchi K, Darwis D. 1995. Heat resistance poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Radiation Physics and Chemistry*: 46: 169-174.
- Zhao Q, Ji Q, Xing K, et al. 2009. Preparation and characteristics of novel porous hydrogel films based on chitosan and glycerophosphate. *Carbohydrate Polymers* 76: 410-416