

INFORME FINAL
PRÁCTICA SUPERVISADA

“Síntesis de una matriz polimérica (Hibrido de poliuretano y acrílico) con propiedades responsivas frente a variaciones de pH”

Alumna: Cintia M. Chalet

Carrera: Ingeniería Química

Docentes Tutores: Paola Girbal – Javier I. Amalvy

Lugar de Trabajo: CITEMA – UTN-FRLP

Realización de la práctica supervisada: 2018-2019

Objetivo

Sintetizar una matriz polimérica con propiedades responsivas frente a variaciones de pH y determinar la capacidad de retención y liberación de Gentamicina con la variación del pH.

Breve Resumen

En el presente trabajo se describe la preparación de las películas de un hidrogel (híbrido de poliuretano y acrílico), con una proporción 70:30.

También se analiza la capacidad de absorción y liberación de Gentamicina a pH 8, pH 6 y pH 4 cuantificándola mediante la técnica de espectroscopia UV-visible.

Metodología

Elección del principio activo: sulfato de gentamicina, sal sulfato de sustancia antibiótica producida por la micromonospora purpurea.

La Gentamicina es una mezcla de sulfatos de las sustancias antimicrobianas producidas por micromonospora purpurea; es un complejo antibiótico que consta de cuatro componentes: Gentamicina C1, Gentamicina C1a, Gentamicina C2 y Gentamicina C2a. La proporción de los componentes C es la siguiente: C1 de 25 a 50%, C1a de 10 a 35% y la suma de C2 y C2a de 25 a 55%.

Microbiología: Las pruebas in vitro han demostrado que la Gentamicina es un antibiótico bactericida que actúa inhibiendo la síntesis proteica en los microorganismos susceptibles. La droga es activa contra una amplia variedad de bacterias grampositivas y gramnegativas, incluyendo Escherichiacoli, Proteussp., Pseudomonaaureginosa, especies del grupo KlebsiellaEnterobacter-Serratia, Citrobactersp., Providencia sp., Staphylococcussp. (coagulasa-positivos y coagulasa-negativos, incluyendo cepas penicilina- y metilina-resistentes).

Es un polvo blanco o amarillento, inodoro, estable a la luz solar, el aire y el calor, se funde entre los 220°C y 240°C con descomposición. Es soluble en agua, pero insoluble en solventes orgánicos.

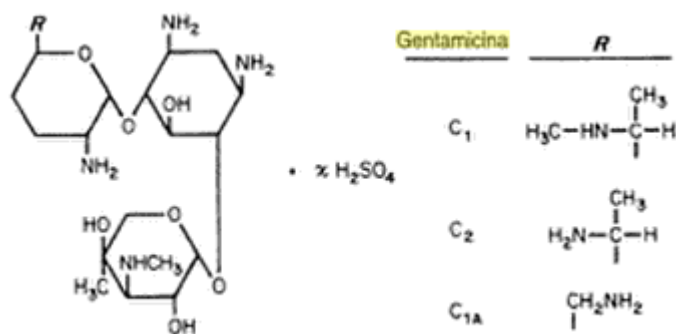


Fig. 1, Modelo de reacción

Preparación de las películas

Los polímeros que responden al estímulo, también llamados polímeros "inteligentes", tienen la propiedad de hincharse, encogerse, doblarse o degradarse en respuesta a cambios en las condiciones ambientales como el pH, la fuerza iónica, la temperatura o en presencia de compuestos químicos. Debido a sus propiedades, en los últimos años han ganado considerable atención y se han propuesto para una número de aplicaciones como administración de fármacos, terapias biomédicas, técnicas de separación de recubrimientos industriales y sensores, exploración de petróleo, ciencias biológicas y de membrana, estabilización de coloides y remediación de agua.

Es importante recordar, que los polímeros son macromoléculas (generalmente orgánicas) formadas por la unión de moléculas más pequeñas denominadas monómeros.

Un polímero no es más que una sustancia formada por una cantidad finita de macromoléculas que le confieren un alto peso molecular que es una característica representativa de esta familia de compuestos orgánicos. El almidón, la celulosa, la seda y el ADN son ejemplos de polímeros naturales, entre los más comunes de estos y entre los polímeros sintéticos encontramos el nylon, el polietileno y la baquelita



Fig. 2, Síntesis del híbrido

Para la síntesis del híbrido, se coloca en un reactor de tres bocas, poliuretano (PU) y 2-dietilamino-etilmetacrilato (DEA) con una proporción PU/DEA:70/30, el mismo debe desoxigenarse para evitar reacciones de inhibición de la polimerización radicalaria, luego se agrega lentamente el iniciador, y se mantiene bajo agitación controlando la temperatura durante 24 horas para asegurar máxima conversión. Todo el proceso se realizó con un control de temperatura.

Las películas se prepararon por deposición (“casting”) de las dispersiones acuosas sobre una placa de Petri plástica.

Se cortan con un diámetro determinado (utilizando un sacabocados), y se lavan en agua destilada para eliminar posibles impurezas provenientes de la reacción, como monómero residual, iniciador, entre otros.

En particular, en la aplicación de administración de fármacos, los polímeros sensibles a los estímulos permiten no solo un control espacial sino también temporal, es decir, durante el período de tiempo en que los estímulos están presentes. Esta es la razón por la cual los polímeros sensibles pueden mejorar la biodisponibilidad del tejido y reducir la aparición de efectos secundarios

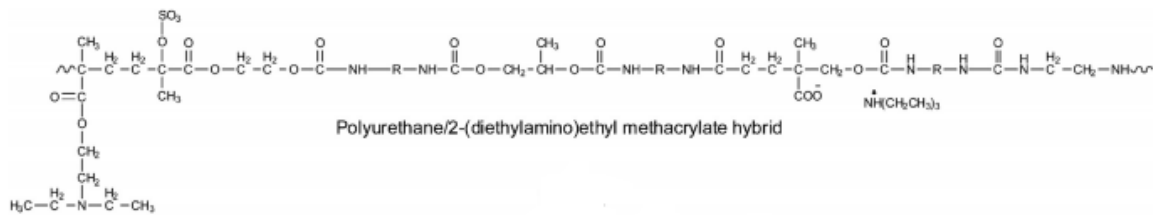


Fig. 3, polímero sintetizado

Determinación de la curva analítica de la Gentamicina

Para poder determinar la capacidad de absorción/liberación de las películas, es necesaria la determinación de las respectivas curvas a pH 6, pH 8 y pH 4. Así mismo se deberá determinar si el principio activo (en este caso la Gentamicina) sigue la Ley de Lambert-Beer a los pH estudiados.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot l$$

Donde l es la longitud de la cubeta en cm, c representa la concentración de soluto en mol/L y ϵ es la absorptividad molar (coeficiente de extinción molar) medido en L/mol.cm.

Los pH seleccionados se deben a estudios realizados anteriormente de las propiedades responsivas del PU/DEA.

Concentración (ppm)	Absorbancia
100	0,035
250	0,06
500	0,141
750	0,221
1000	0,314

Tabla 1, Concentración vs absorbancia

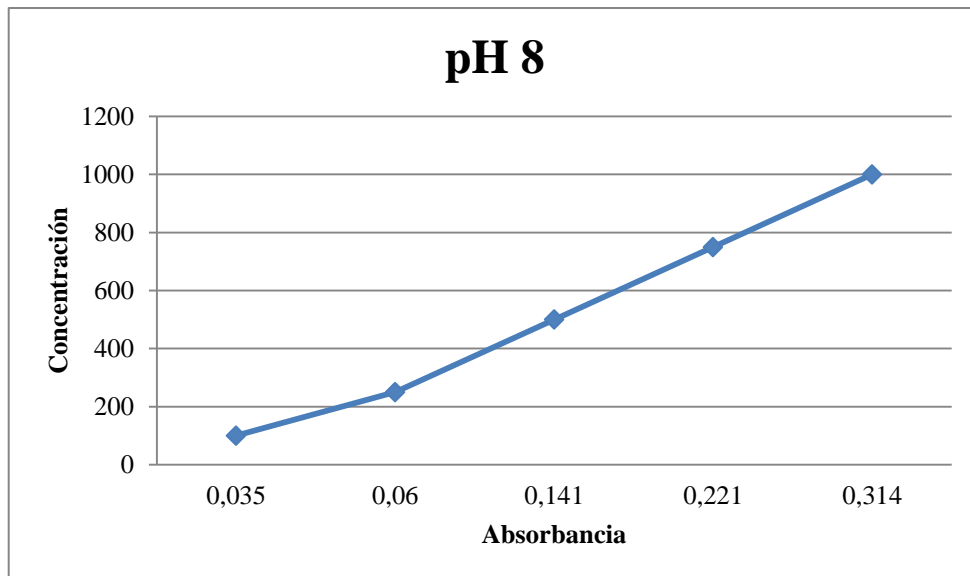


Fig. 4, Respuesta al pH 8

Ecuación:

$$X - X_1 / X_2 - X_1 = Y - Y_1 / Y_2 - Y_1$$

Reemplazo:

$$X - 0,06 / 0,314 - 0,06 = Y - 250 / 1000 - 250$$

$$Y = 2952,75X + 72,33$$

Concentración (ppm)	Absorbancia
100	0,06
250	0,125
500	0,219
750	0,313
1000	0,431

Tabla 2, Concentración vs absorbancia

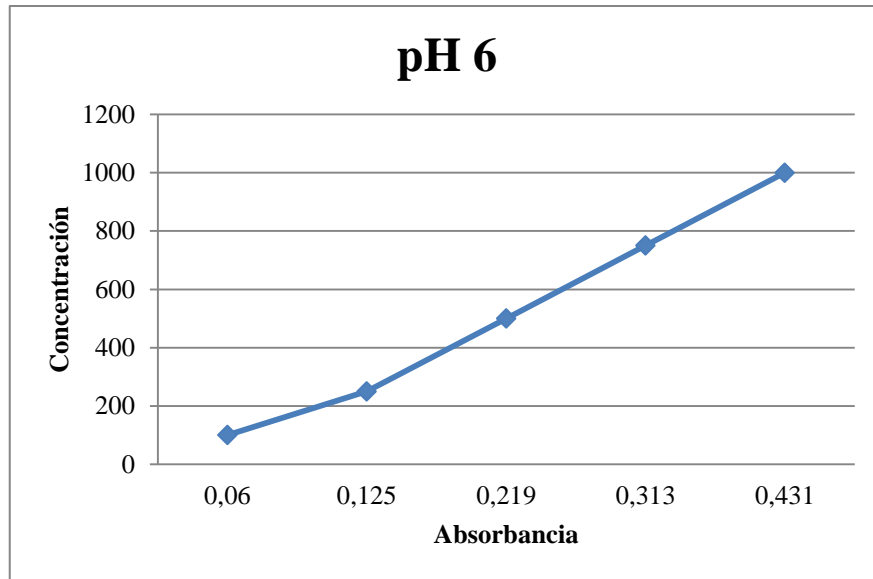


Fig. 5, Respuesta al pH 6

Ecuación

$$X - X_1 / X_2 - X_1 = Y - Y_1 / Y_2 - Y_1$$

Reemplazo:

$$X - 0,125 / 0,431 - 0,125 = Y - 250 / 1000 - 250$$

$$Y = 2450,9X - 56,37$$

Concentración (ppm)	Absorbancia
100	0,082
250	0,141
500	0,183
750	0,2
1000	0,27

Tabla 3, Concentración vs absorbancia

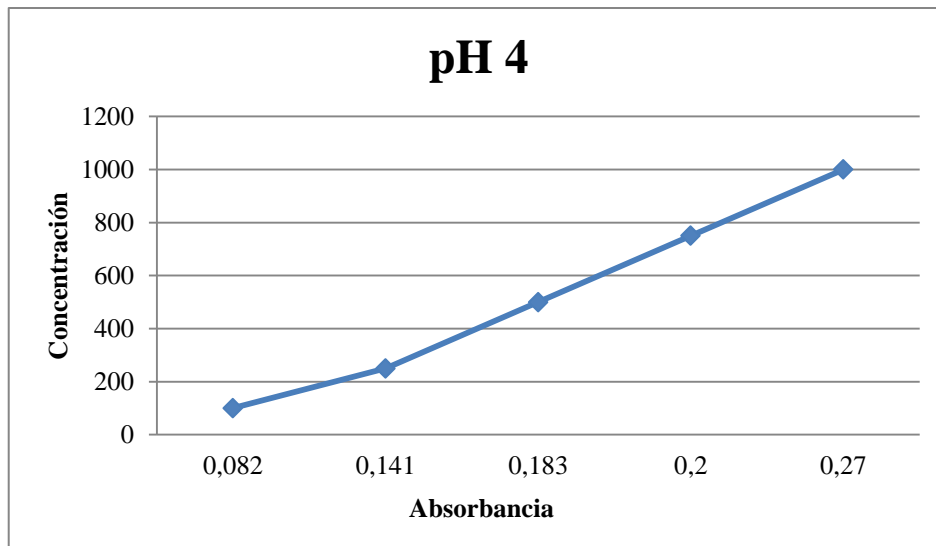


Fig. 6, Respuesta al pH 4

Ecuación

$$X-X1/X2-X1=Y-Y1/Y2-Y1$$

Reemplazo:

$$X-0,141/0,27-0,141=Y-250/1000-250$$

$$Y=7575,75X-818,18$$

Inmersiones en el principio activo

La incorporación de la sustancia biológicamente activa dentro del hidrogel se llevó a cabo por inclusión de dicha sustancia por métodos puramente físicos, introduciendo el xerogel en soluciones concentradas de la sustancia deseada, seguido de la evaporación del disolvente cuando el gel ha alcanzado el equilibrio de hinchamiento.

La velocidad de liberación de la sustancia deseada está prácticamente controlada por las propiedades del polímero, aunque por otra parte, existen otros factores de influencia, tales como el pH del medio en el que se va a realizar la liberación y la temperatura. Teniendo en cuenta estos factores, es posible conseguir sistemas de liberación que actúen lentamente y de forma continua durante largos periodos de tiempo.

Para ello se sumergieron las películas poliméricas en soluciones con una determinada concentración de principio activo y se las mantuvo dentro de dicha solución por el periodo de una semana. Cada película se cargo al mismo PH al que luego, se produciría su posterior liberación.

Determinación de la cinética de liberación

Las películas ya cargadas fueron sumergidas en 20 ml de soluciones buffer de los distintos pH a analizar para poder determinar la cinética de liberación.

Utilizando un espectrofotómetro UV-visible se determinó como se incrementaba la concentración de Gentamicina en el buffer a temperatura ambiente, el cual inicialmente no contaba con dicho principio activo.



Fig. 7, Imagen del equipo UV-visible empleado

Resultados Obtenido

pH = 8 - Película A

Masa = 0,0345g

Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,173	583,6
2	0,174	589,56
5	0,175	
8	0,177	595,46
11	0,183	613,18
15	0,183	613,18
18	0,184	616,13
22	0,184	616,13
26	0,185	
30	0,188	616,18
35	0,19	
45	0,2	663,4
50	0,203	
60	0,204	675,24
70	0,204	675,24
80	0,212	698,86
90	0,214	704,76
100	0,218	716,57
110	0,218	716,57
120	0,221	725,4

Tabla 4, Datos experimentales

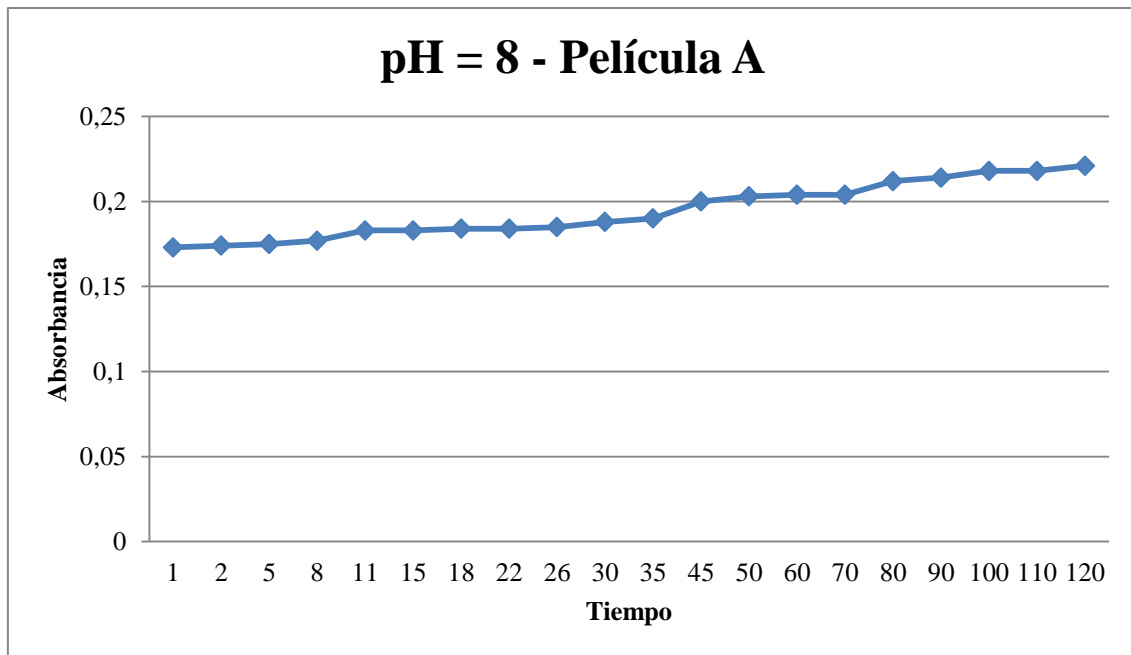


Fig. 8, pH = 8 - Película A

pH = 8 - Película B

Masa: 0,0370g

Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,159	541,8
4	0,25	810,5
7	0,238	775,1
10	0,163	553,6
14	0,179	600,9
17	0,216	710,1
20	0,216	710,1
25	0,182	609,7
30	0,208	686,5
40	0,195	648,1
50	0,199	659,9
60	0,222	727,8
70	0,223	730,8

80	0,222	727,8
90	0,237	772,1
100	0,264	851,9
110	0,272	875,5
120	0,272	875,5

Tabla 5, Datos experimentales

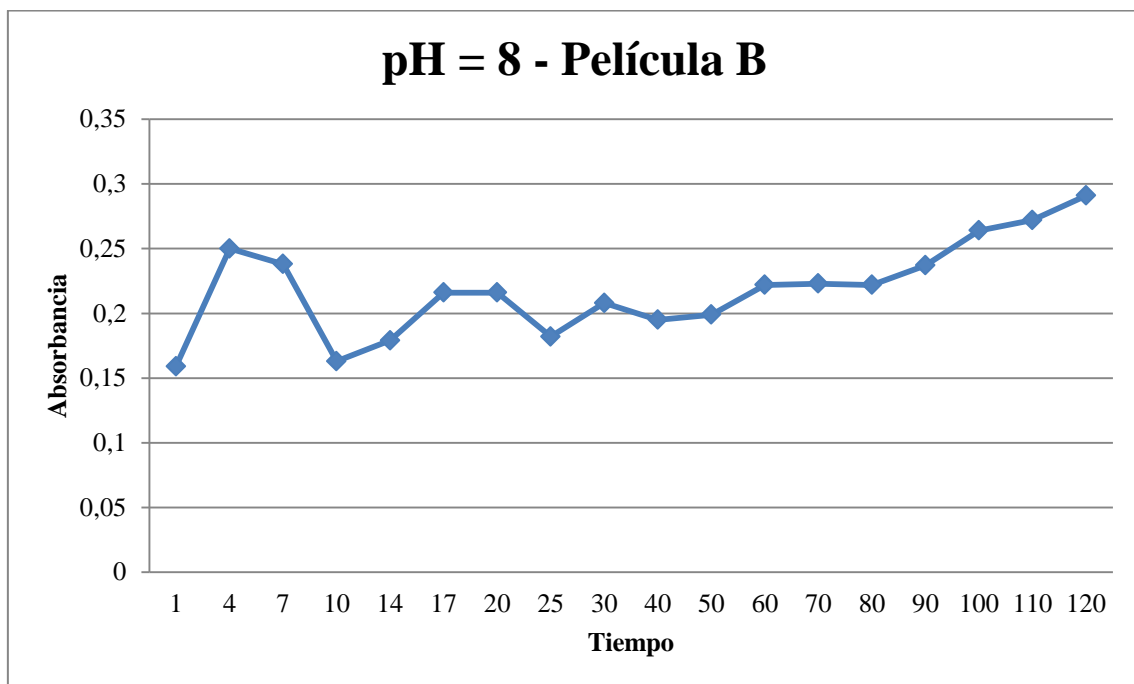


Fig. 9, pH = 8 - Película B

pH = 6 - Película A

Masa = 0,0345g

Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,165	348,02
3	0,165	348,02
5	0,168	355,38
8	0,168	355,38
11	0,168	355,38

16	0,169	357,83
21	0,169	357,83
26	0,169	357,83
31	0,169	357,83
39	0,171	362,73
49	0,172	365,1
64	0,173	367,63
79	0,174	370,08
89	0,174	370,08
99	0,174	370,08

Tabla 6, Datos experimentales

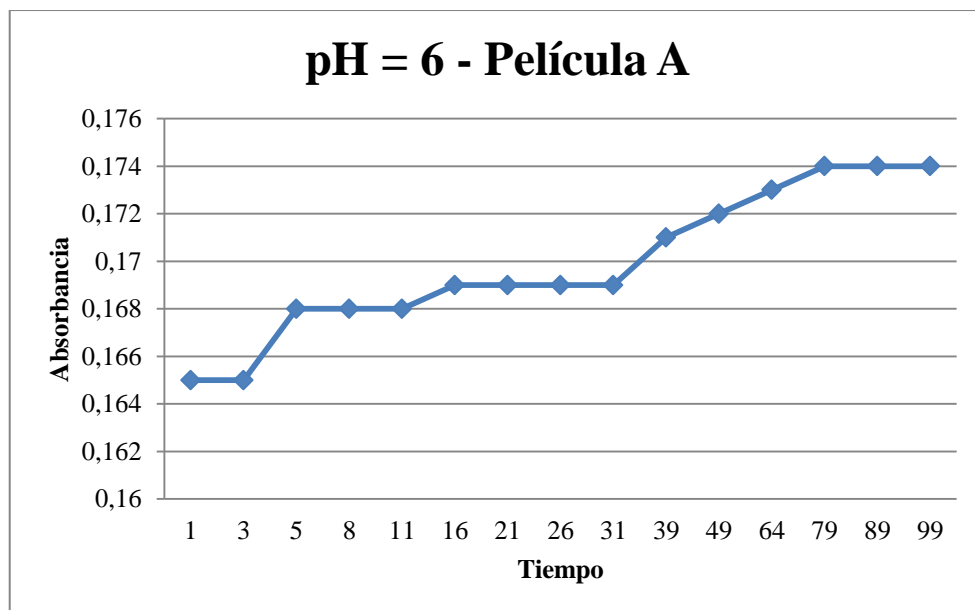


Fig. 10, pH = 6 - Película A

pH = 6 - Película B

Peso: 0,0292g

Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,259	578,4
2	0,259	578,4
5	0,259	578,4
10	0,28	629,9
15	0,304	688,7
25	0,262	585,8
35	0,266	595,6
45	0,276	620,1
55	0,268	600,5
65	0,267	598
75	0,267	598
85	0,267	598

Tabla 7, Datos experimentales

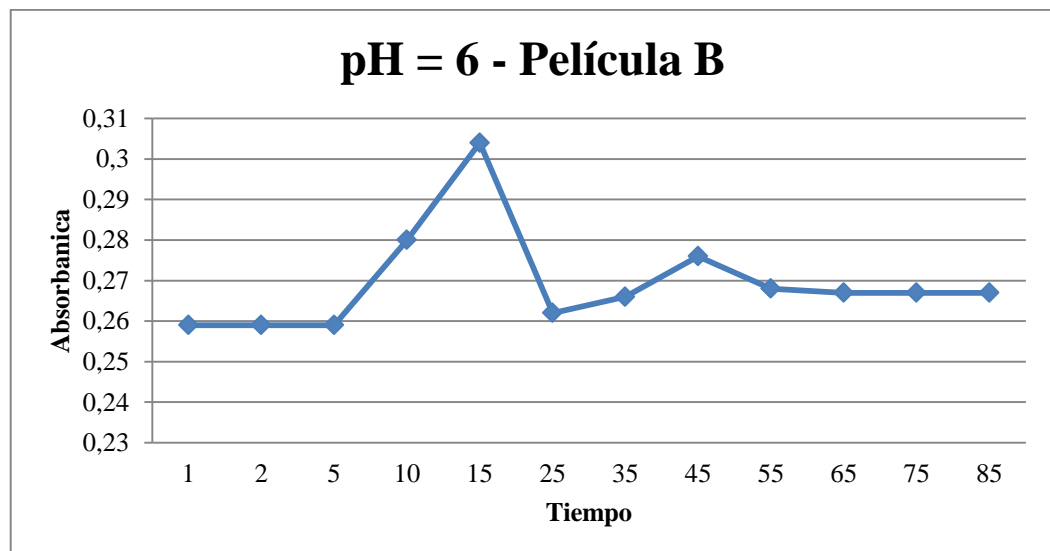


Fig. 11, pH = 6 - Película B

pH = 4 - Película A

Masa = 0,0326g

Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración (ppm)
2	0,116	104,7
4	0,117	110,52
7	0,119	122,15
13	0,12	127,96
16	0,134	209,36
19	0,15	302,38
21	0,165	389,6
25	0,197	575,63
39	0,207	633,77
49	0,208	639,59
60	0,212	662,84
80	0,23	767,49

Tabla 8, Datos experimentales

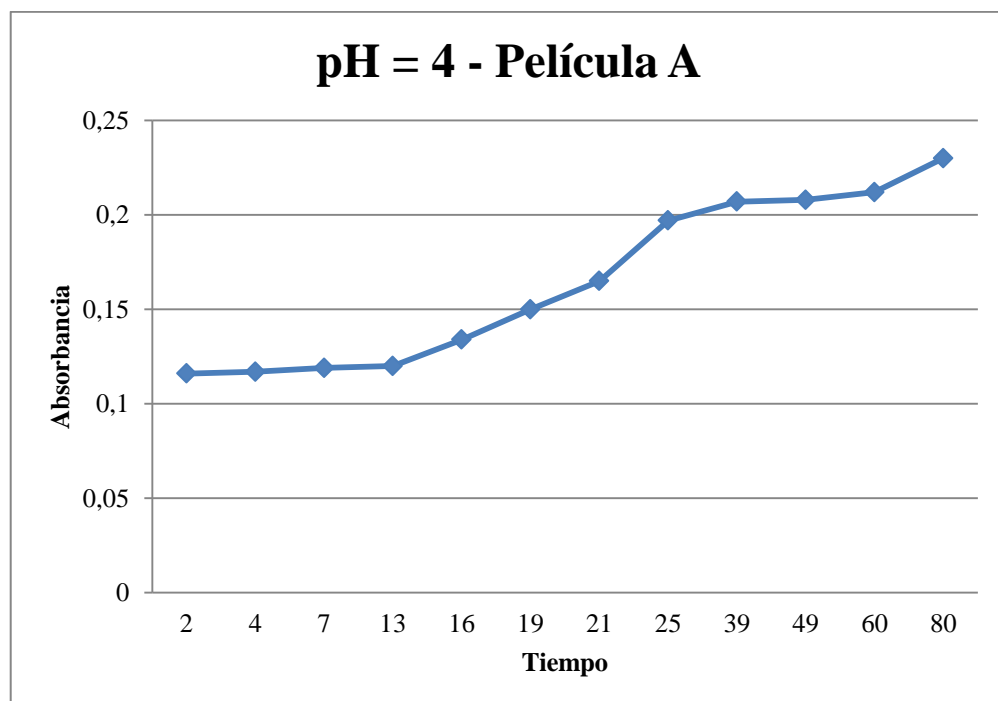


Fig. 12, pH = 4 - Película A

pH = 4 - Película B

Masa = 0,032g

Tiempo (min)	Absorbancia	Concentración (ppm)
1	0,12	90,9
2	0,123	113,6
5	0,127	143,9
9	0,129	159,1
15	0,133	189,4
20	0,135	204,5
30	0,14	242,4
40	0,14	242,4
50	0,14	242,4
60	0,142	257,6
70	0,15	318,2
80	0,152	333,3
90	0,155	356,1
100	0,164	424,2
110	0,166	439,4
120	0,167	447

Tabla 9, Datos experimentales

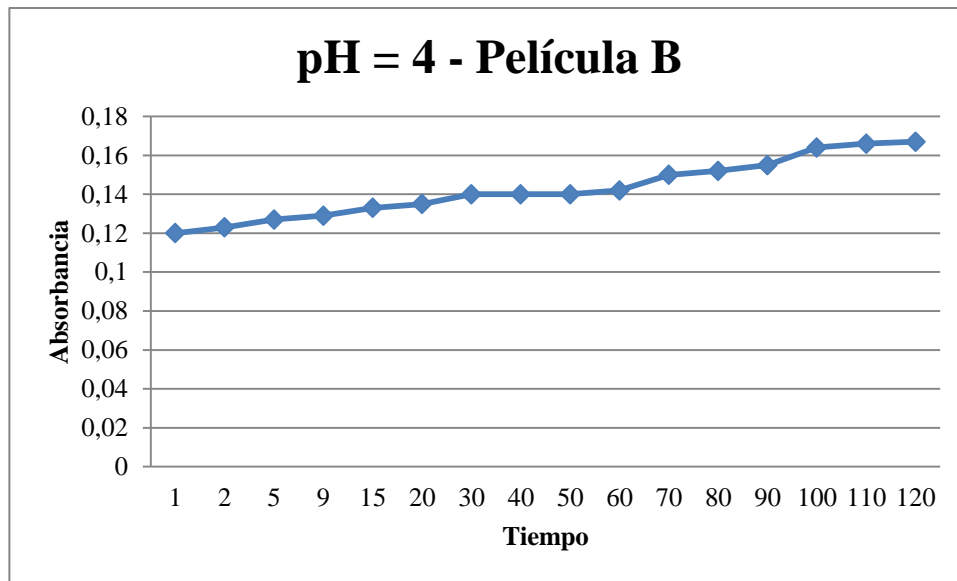


Fig. 13, pH = 4 - Película B

Conclusiones Finales

La Gentamicina tiene una amplia cantidad de aplicaciones en la rama de la medicina, este es el principal motivo por el cual se investigó la cinética de carga/liberación de la misma.

Las películas de polímero híbrido fueron analizadas a temperatura ambiente, y pudo observarse que la liberación más uniforme se produce a pH 4 en la cual a medida que transcurre el tiempo la película libera progresivamente, a diferencia de los pH 6 y 8 que se produce una liberación inicial grande pero la posterior liberación en el transcurso del tiempo es menor. Esta dependencia de la velocidad de liberación en función del pH demuestra que este tipo de serogeles pueden ser utilizados para incorporar gentamicina en forma progresiva y constante durante un determinado período de tiempo.

Como trabajo a futuro se podrían ensayar otras relaciones poliuretano-monómero responsivo, determinaciones de liberación a temperatura corporal e incorporar entrecruzadores de cadena para así poder variar la velocidad de liberación.

Bibliografía

Amalvy, J. I., Wanless E. J., Li Y., Michailidou V., Armes S. P., Duccini Y. Synthesis and characterization of novel pH-sensitive microgels based on tertiary amine methacrylates. *Langmuir* 21, 8992-8999.

Bettini, R., Colombo, P., Peppas, N. A. Solubility effects on drug transport through pH-sensitive, swelling-controlled release systems: transport of theophylline and metoclopramide monohydrochloride. *J. Control. Release* 37, 105–111.

Gennaro, A. R., Remington Farmacia. 20ª Edición Tomo 2. Editorial Médica Panamericana. 2003.

Jagur-Grodzinski J., "Polymeric gels and hydrogels for biomedical and pharmaceutical applications". Polym. Adv. Technol. 21, 27-47.

Pardini, F., Faccia, P., Amalvy, J. I. Evaluation of pH-sensitive polyurethane/2-diethylaminoethyl methacrylate hybrids potentially useful for drug delivery developments.

Pardini, O. R., Amalvy, J. I., FTIR, ¹H-NMR Spectra, and Thermal Characterization of Water-Based Polyurethane/Acrylic Hybrids, J. Appl. Polym. Sc., 107(2), 1207-1214.

Xinming, L., Yingde, C., Lloyd, A. W., Mikhalovsky S. V., Sandeman S. R., Howel C. A., Liewen L. Polymeroc hydrogels for novel contact lens-based ophthalmic drug delivery systems: a review. Contact Lens Anterior Eye 31, 57-64.