

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica



**DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE  
HIDROGELES POLIMÉRICOS CON APLICACIÓN EN  
LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

Eva Díez Peña

Bajo la dirección de las Doctoras:

Paloma Frutos Cabanillas  
Isabel Quijada Garrido

**Madrid, 2002**

**ISBN: 84-669-2028-5**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA**

**MADRID, 2002**

**TESIS DOCTORAL**

**EVA DIEZ PEÑA**

**DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE  
HIDROGELES POLIMÉRICOS CON APLICACIÓN EN  
LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS**

**DIRECTORAS:**

**DRA. D<sup>a</sup>. PALOMA FRUTOS CABANILLAS**

**DRA. D<sup>a</sup>. ISABEL QUIJADA GARRIDO**

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS  
INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS**

Los trabajos correspondientes a la presente memoria han sido realizados en el Departamento de Química-Física del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad Complutense de Madrid y en el Departamento de Espectroscopía de Polímeros del Max-Planck Institut für Polymerforschung de Mainz (Alemania).

La dirección del trabajo ha estado a cargo de las Doctoras D<sup>a</sup>. Paloma Frutos Cabanillas, Profesora Titular de Universidad del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica (UCM) y D<sup>a</sup> Isabel Quijada Garrido, Investigadora Contratada del Departamento de Química-Física del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC). Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a ambas por la gran ayuda prestada y el permanente magisterio durante la realización de la Tesis Doctoral, así como por su apoyo y amistad a lo largo de estos años.

Mi agradecimiento más efusivo al Dr. D. José Manuel Barrales Rienda Profesor de Investigación del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC) por su permanente respaldo, apoyo y magisterio, sin el cual no habría sido posible el desarrollo de esta Tesis.

Igualmente deseo agradecer al Dr. D. José Luis Lastres García Catedrático y Director del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la UCM, el haberme permitido comenzar con el presente trabajo de investigación, así como por su ayuda y colaboración.

Deseo hacer partícipe de este agradecimiento al Prof. Spiess Director del Departamento de Espectroscopía de Polímeros del MPIP (Mainz, Alemania) por haberme permitido desarrollar parte del trabajo de investigación en su grupo, por su ayuda y sus valiosos consejos.

Del mismo modo quisiera dar mis más expresiva y especiales gracias a la Dr<sup>a</sup>. D<sup>a</sup>. Gloria Frutos Cabanillas Profesora Titular del Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la UCM por su inestimable ayuda y apoyo a lo largo del tiempo de realización de la Tesis Doctoral.

De mis agradecimientos son igualmente partícipes al Dr. Manfred Wilhelm, Dr. Ingo Schnell, Karena Thieme y Petra Kindervater del Departamento de Espectroscopía de Polímeros del MPIP gracias a cuya colaboración y supervisión ha sido posible llevar a cabo la caracterización de los materiales por Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido.

El presente trabajo se ha beneficiado de los fondos económicos del proyecto de investigación de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología REF: MAT1999-1127-C04, así como de una beca predoctoral Marie Curie en el MPIP de Mainz (Alemania).

Quisiera también dar las gracias al Diplomado Especializado D. Víctor Manuel Cabrera Martín, a D. Pedro Francisco Cañamero Martínez y D<sup>a</sup> Carolina García Escalpez, compañeros

del grupo de investigación del Departamento de Química-Física de Polímeros del CSIC por su ayuda y compañerismo.

Así mismo deseo expresar mi más sincera gratitud a todos los compañeros del Departamento de Química-Física y de todo el Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros del CSIC, a los del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la UCM así como a los del MPIP de Mainz, que siempre me brindaron su ayuda su apoyo, y sobretodo su amistad durante la realización de esta Tesis Doctoral.

Y finalmente dar las gracias mis padres, a mis hermanos y a Nacho, por haber estado siempre a mi lado y a todas aquellas personas que de una u otra forma han hecho posible la realización del presente trabajo.

*A mi familia*

# ÍNDICE

---

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.1. HIDROGELES POLIMÉRICOS</b>	<b>1</b>
<b>1.2. GELES DE ESTÍMULO-RESPUESTA</b>	<b>2</b>
1.2.1. INTERACCIONES DE VAN DER WAALS	4
1.2.2. INTERACCIONES HIDROFÓBICAS	4
1.2.3. PUENTES DE HIDRÓGENO	4
1.2.4. INTERACCIONES ELECTROSTÁTICAS	5
<b>1.3. MOTIVACIÓN Y OBJETIVOS DEL TRABAJO</b>	<b>6</b>
<b>1.4. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>8</b>
<b>2. SÍNTESIS Y PREPARACIÓN DE LOS SISTEMAS EMPLEADOS</b>	<b>9</b>
<b>2.1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>2.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>12</b>
2.2.1. MATERIALES	12
2.2.2. SÍNTESIS DE LOS COPOLÍMEROS	13
2.2.3. SÍNTESIS DE LAS REDES INTERPENETRADAS	13
2.2.4. ANÁLISIS ELEMENTAL	14
2.2.5. PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES TAMPÓN	14
<b>2.3. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>15</b>
<b>3. PROPIEDADES TÉRMICAS</b>	<b>17</b>
<b>3.1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>17</b>
<b>3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>19</b>
3.2.1. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)	19
3.2.2. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL PROGRAMADA (DSC)	19
<b>3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>20</b>
3.3.1. ESTABILIDAD TÉRMICA	20
3.3.2. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA ( $T_g$ )	24
3.3.2.1. Transición Vítrea en los Copolímeros	24
3.3.2.2. Transición Vítrea en las Redes Interpenetradas	30
3.3.3. INTERACCIONES ENTRE LOS HIDROGELES Y EL AGUA	30
3.3.3.1. Estado del Agua en los Hidrogeles.	30
3.3.3.2. Temperatura Inferior Crítica de Hinchamiento	36
<b>3.4. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>41</b>

<b>4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR</b>	<b>43</b>
<b>4.1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>43</b>
4.1.1. ROTACIÓN EN EL ÁNGULO MÁGICO (MAS)	44
4.1.2. <sup>13</sup> C MAS	46
4.1.2.1. Desacoplamiento Dipolar (DD)	46
4.1.2.2. Polarización Cruzada (CP)	46
4.1.2.3. Transferencia mediante Saturación por Pulsos (PST)	47
4.1.3. <sup>1</sup> H MAS: RMN HOMONUCLEAR DE DOBLE CUANTO (DQ)	48
<b>4.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>51</b>
4.2.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	51
4.2.2. EXPERIMENTOS DE RMN	51
<b>4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>53</b>
4.1.1. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL: RMN DE <sup>13</sup> C	53
4.1.1.1. <sup>13</sup> C CP MAS RMN	53
4.1.1.2. <sup>13</sup> C PST MAS RMN	54
4.1.1.3. <sup>13</sup> C-RMN en diolución de Polímeros Modelo	56
4.1.2. MOVILIDAD Y ESTADO DEL AGUA EN LOS HIDROGELES	58
4.1.3. <i>N</i> -ISOPROPILACRILAMIDA: ESTRUCTURA Y LCST	66
4.1.4. ESTUDIO DE LOS PUENTES DE HIDRÓGENO	
EN SISTEMAS DEPENDIENTES DEL pH	72
4.1.4.1. Homopolímero de Acido Metacrílico P(MAA)	72
4.1.4.2. Copolímeros y Redes Interpenetradas	76
4.1.4.3. Dependencia con el pH del Medio	82
<b>4.4. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>88</b>
<b>5. EQUILIBRIO Y DINÁMICA DE HINCHAMIENTO</b>	<b>91</b>
<b>5.1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>91</b>
<b>5.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>93</b>
<b>5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>94</b>
5.3.1. EQUILIBRIO DE HINCHAMIENTO.	94
5.3.1.1. Influencia de la Composición y el pH a 25°C.	94
5.3.1.2. Influencia de la Temperatura	99
5.3.2. CINÉTICA DE HINCHAMIENTO	103
5.3.2.1. Hinchamiento Dinámico	103
5.3.2.2. Análisis de la Cinética de Hinchamiento a pHs por encima del pK <sub>a</sub> del MAA	106
5.3.3. EFECTO DE LOS PUENTES DE HIDRÓGENO EN SISTEMAS DEPENDIENTES DEL pH	117

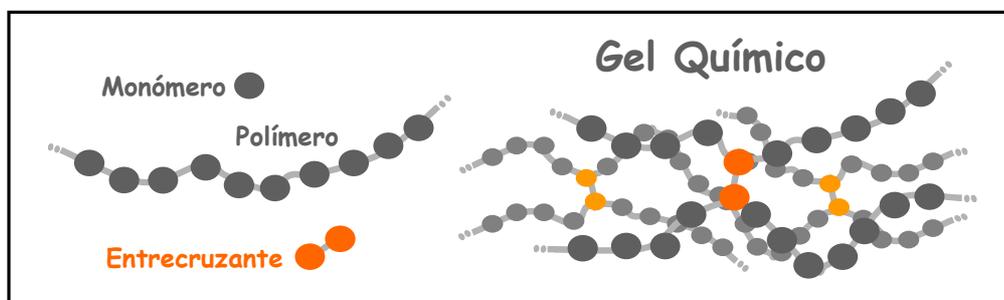
5.3.3.1. Cinética de Hinchamiento a pHs por encima del pK <sub>a</sub> del MAA	118
5.3.3.2. Cinética de Hinchamiento a pHs por debajo del pK <sub>a</sub> del MAA	130
<b>5.4. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>141</b>
<b>6. APLICACIÓN EN LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS</b>	<b>145</b>
<b>6.1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>145</b>
6.1.1. SISTEMAS DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS I	145
6.1.2. MATERIALES Y MECANISMOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA	147
6.1.3. HIDROGELES COMO SISTEMAS DE TRANSPORTE DE FÁRMACOS	149
6.1.4. VÍA DE ADMINISTRACIÓN	151
6.1.5. FÁRMACO MODELO: CLORHIDRATO DE DILTIACEM	152
6.1.5.1. Farmacología	152
6.1.5.2. Propiedades Físicoquímicas y Farmacocinética	153
6.1.5.3. Liberación Controlada	154
<b>6.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>156</b>
6.2.1. CARGA DEL FÁRMACO EN LOS HIDROGELES	156
6.2.2. SISTEMAS EMPLEADOS	157
6.2.3. ENSAYOS DE VELOCIDAD DE CESIÓN	159
6.2.4. CUANTIFICACIÓN DEL FÁRMACO	161
<b>6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>162</b>
6.3.1. VALIDACIÓN MÉTODO UV PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL DILTIACEM	162
6.3.1.1. Rango y Linealidad	162
6.3.1.2. Precisión	165
6.3.2. ESTUDIO “IN VITRO” DE LIBERACIÓN DE DILTIACEM	167
6.3.2.1. Sistemas Monolíticos: Efecto de la Composición del Hidrogel	167
6.3.2.2. Comprimidos: Efecto del Tamaño de Partícula	174
<b>6.4. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>178</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>180</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. HIDROGELES POLIMÉRICOS

---

Los polímeros sintéticos son, dentro del campo de los biomateriales, el tipo más diverso y presentan considerables ventajas frente a otros materiales empleados tradicionalmente.<sup>[1]</sup> Debido a su gran versatilidad, su uso se ha extendido rápidamente en numerosos campos de la medicina. Un tipo especial de biomateriales poliméricos son los hidrogeles. De forma general, los geles poliméricos consisten en monómeros capaces de ser polimerizados en largas cadenas lineales que se entrecruzan química o físicamente para formar una red tridimensional. En el caso de los geles químicos, empleando monómeros bifuncionales en pequeña cantidad, se consigue el entrecruzamiento de las cadenas (Esquema 1). Mientras que en los geles físicos este entrecruzamiento es debido a interacciones secundarias no covalentes.



*Esquema 1: Estructura de un gel polimérico.*

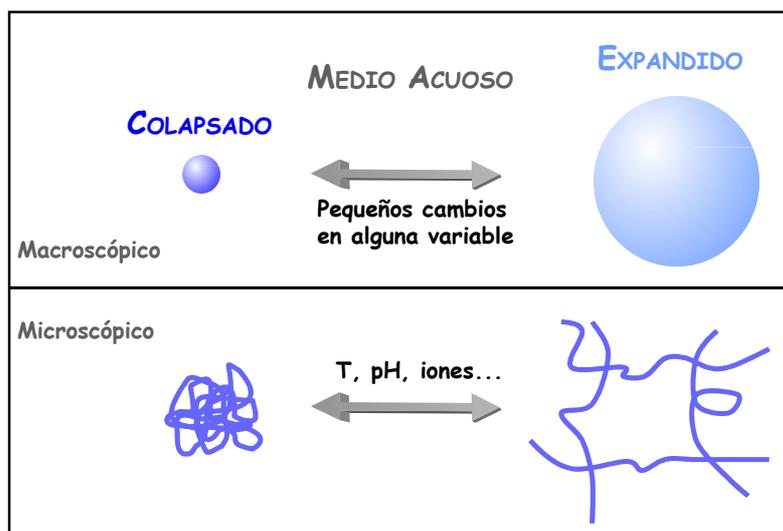
En el estado seco (xerogeles), el gel es un material sólido, pero cuando se le añade un disolvente, el gel lo absorbe en gran cantidad hasta alcanzar el hinchamiento en equilibrio. De esta forma las moléculas de disolvente quedan retenidas en la malla tridimensional y la combinación de la red y las moléculas de solvente da lugar a un “mundo” de propiedades características. En el caso de los hidrogeles se emplean monómeros que generan polímeros muy solubles en agua los cuales, una vez entrecruzados químicamente dan lugar a geles capaces de hincharse absorbiendo gran cantidad de agua. Esto hace de los hidrogeles una clase muy interesante de materiales debido a que comparten propiedades tanto de los líquidos como de los sólidos.<sup>[2]</sup> Las propiedades de los líquidos son debidas a que el componente mayoritario de los hidrogeles es el agua. Por otro lado mantienen su forma debido a los entrecruzamientos que dan lugar a la red, y por tanto presentan propiedades características de los sólidos.

En los últimos años el estudio de estos sistemas ha experimentado un gran auge debido a sus importantes aplicaciones. Además de su empleo como superabsorbentes, que sólo aprovecha la capacidad de un hidrogel para retener gran cantidad de líquido, existen otras aplicaciones muy innovadoras en las que el control de su estructura y propiedades finales es un capítulo tan necesario como complejo.<sup>[3]</sup> Por su capacidad de hincharse, unido a su habilidad para atrapar y ceder principios activos desde la red que forman, los hidrogeles han sido ampliamente utilizados en el diseño de sistemas de liberación controlada

de fármacos. En este sentido presenta tres ventajas fundamentales: biocompatibilidad, permeabilidad y posibilidad de controlar la cinética de hinchamiento.<sup>[4]</sup> Su elevado contenido en agua da lugar a una buena compatibilidad, su naturaleza suave y gomosa reduce la irritación mecánica y su elevada hidrofilia minimiza la tensión interfacial. Su permeabilidad a fármacos o a otros solutos puede ser ajustada fácilmente modificando el monómero, el grado de entrecruzamiento o las condiciones de síntesis.<sup>[3]</sup> Finalmente, el conocimiento de su cinética de hinchamiento permite la liberación de las sustancias terapéuticas de una manera controlada.

## 1.2. GELES DE ESTÍMULO-RESPUESTA (STIMULI-RESPONSIVE, “SMART”, GELS)

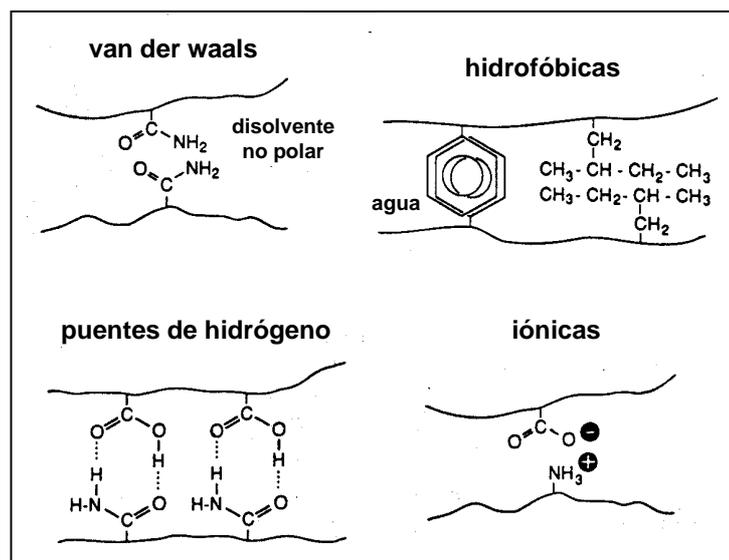
Con el fin de ejercer un control aun más efectivo en la liberación de las sustancias farmacológicamente activas, los denominados hidrogeles de estímulo-respuesta o “inteligentes” han surgido como una nueva y prometedora clase de materiales con aplicaciones farmacéuticas.<sup>[3]</sup> En estos sistemas, pequeños cambios en alguna variable del medio ambiente, como la temperatura el pH o la fuerza iónica, dan lugar a una transición de fase reversible en la estructura del gel. Como se muestra en el Esquema 2, el gel pasa de un estado expandido, de máximo hinchamiento a un estado colapsado con la consiguiente expulsión del disolvente y *viceversa*.



*Esquema 2: Colapso de los geles sensibles a estímulos.*

Entre todas las propiedades de los hidrogeles esta transición de fase volumétrica ha atraído gran atención desde su descubrimiento: En 1968 Dušek et al.<sup>[5]</sup> sugirieron la posibilidad de un cambio discontinuo en el volumen de un gel en analogía a la transición ovillo-glóbulo de los polímeros en solución. Esta posibilidad fue demostrada experimentalmente por Tanaka et al. en 1978<sup>[6]</sup> para un gel de poliacrilamida parcialmente ionizado en una mezcla de acetona y agua. Posteriormente se descubrió que la transición podía ser inducida no sólo por cambios en la composición del solvente, sino también por cambios en la temperatura, el pH del medio, la luz, campos eléctricos, etc.<sup>[2, 7]</sup>

Los polímeros en disoluciones concentradas pueden interactuar consigo mismos mediante fuerzas no covalentes, dependiendo tanto de su propia estructura química como de la calidad del disolvente, dando lugar a los denominados geles físicos. En algunos casos, los enlaces físicos y químicos pueden coexistir y ser cooperativos y esto es lo que da lugar a las transiciones de fase de los hidrogeles. La característica más importante de estas transiciones es que las fuerzas motoras que las controlan son de tipo débil: interacciones de van der Waals, hidrofóbicas, puentes de hidrógeno o electrostáticas (Esquema 3). A pesar de su debilidad, estas interacciones son también muy numerosas, y su contribución a lo largo de toda la cadena polimérica da lugar a comportamientos muy complejos. Debido a que este tipo de interacciones depende de estímulos externos como el pH,<sup>[8]</sup> la fuerza iónica,<sup>[9]</sup> la composición del solvente<sup>[10]</sup> o la temperatura,<sup>[11]</sup> permiten, al contrario de lo que sucede con los enlaces covalentes, gran versatilidad en el comportamiento de los geles inteligentes frente al medio. Las condiciones del entorno, van a ser responsables de que bien, las fuerzas atractivas o las repulsivas predominen, produciéndose el colapso o el hinchamiento del gel.<sup>[2]</sup>



*Esquema 3. Los cuatro tipos de interacciones moleculares fundamentales*

Este comportamiento es muy similar al de la mayoría de las macromoléculas biológicas como el ADN o las proteínas. Las reacciones químicas que tienen lugar en los seres vivo presentan una gran eficiencia y selectividad, debidas a un reconocimiento molecular excelente. Estas estructuras supramoleculares locales son debidas a combinaciones de múltiples interacciones secundarias no covalentes similares a las que tienen lugar en los geles inteligentes, que permiten superar la disminución entrópica asociada con la organización.

A continuación vamos a introducir brevemente los cuatro tipos de interacciones no covalentes más frecuentes ya que nos vamos a referir a ellas frecuentemente a lo largo de esta memoria.

### 1.2.1. INTERACCIONES DE VAN DER WAALS

Este tipo de interacciones ocurre al variar ligeramente la calidad del disolvente en el que el gel está hinchado. Por ejemplo es el caso de la transición de fase de la poli(acrilamida), P(AAm), en una mezcla de acetona/agua. Las fuerzas de van der Waals son las responsables de la afinidad polímero-polímero. La acetona, en este caso es un mal disolvente no polar, que añadido al agua aumenta las interacciones atractivas entre las moléculas y produce el colapso del gel. Esta transición también se observa cerca de la concentración umbral mediante un cambio de la temperatura. A temperatura más elevada el gel se hincha y con un descenso colapsa.

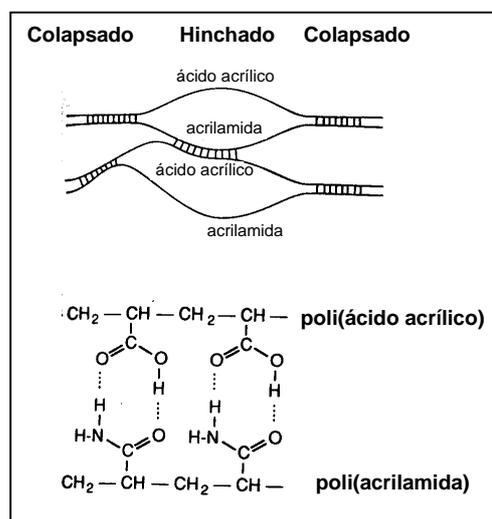
### 1.2.2. INTERACCIONES HIDROFÓBICAS

Debido a la gran importancia del agua en la naturaleza, ésta es una de las principales y más estudiadas interacciones no covalentes en macromoléculas biológicas. Por su baja solubilidad, la disolución de los grupos hidrofóbicos en agua está generalmente asociada a un incremento en la energía libre del sistema ( $\Delta G > 0$ ). Puesto que se ha demostrado experimentalmente que la disolución es ligeramente exotérmica ( $\Delta H < 0$ ), de  $\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$  se deduce que la entropía del sistema debe disminuir. Esto puede interpretarse como consecuencia del mayor grado de empaquetamiento y orden que adoptan las moléculas de agua alrededor de las moléculas de hidrofóbicas disueltas comparado con la estructura del agua pura. Es lo que se denomina efecto hidrofóbico. Cuando dos grupos hidrofóbicos interactúan para formar un agregado, esto permite que algunas de las moléculas de agua se liberen de la celda de hidratación al agua libre de forma que se produce un aumento en la entropía del sistema ( $\Delta S > 0$ ). A pesar de que se necesita calor para romper la celda de hidratación ( $\Delta H > 0$ ), el descenso en la energía libre del sistema ( $\Delta G < 0$ ) favorece la agregación de las moléculas hidrofóbicas. Aunque las interacciones hidrofóbicas son del orden de entre sub kcal / mol hasta unas pocas kcal / mol, lo que es del mismo orden o incluso menor que el puente de hidrógeno, juegan un papel muy importante en la estabilización de la configuración, por ejemplo de las proteínas. En el caso de polímeros sintéticos, las interacciones hidrofóbicas se pueden conseguir introduciendo grupos laterales hidrofóbicos. Este tipo de interacción es responsable de la transición de fase de los geles de P(N-isopropilacrilamida) que se hinchan a bajas temperatura y colapsan al aumentar la temperatura. El tipo de dependencia con la temperatura es contrario al de las interacciones de van der Waals.

### 1.2.3. PUENTES DE HIDRÓGENO

Los puentes de hidrógeno se producen cuando un átomo de hidrógeno está más fuertemente atraído por otros dos átomos que por uno sólo, de manera que este hidrógeno actúa como un enlace (o puente) entre ellos. El enlace de hidrógeno ocurre normalmente cuando un átomo de hidrógeno se sitúa entre otros dos átomos vecinos electronegativos, como O y N. A pesar que la energía de uno de estos enlaces considerado aisladamente no es muy grande, entre 3 y 9 kcal / mol, también influye de forma

importante en las propiedades de las macromoléculas biológicas. Por otra parte cabe destacar que el puente de hidrógeno tiene una preferencia direccional. Esto quiere decir que para que se produzca un enlace de hidrógeno se requiere una configuración determinada, bien de una secuencia localizada del polímero (enlace de hidrógeno intracadena) o de secuencias del polímero (enlaces intercadena). Y de igual forma, cuando se forma el puente de hidrógeno se estabiliza la conformación del polímero. Ilmain et al.<sup>[12]</sup> publicaron en *Nature* evidencias de una transición de volumen discontinua en la red interpenetrada de poli(acrilamida)/poli(ácido acrílico) P(AAm)/P(AA), con un ligero grado de ionización. Estos autores<sup>[12]</sup> propusieron que esta transición era la primera controlada de forma independiente por puentes de hidrógeno. Además, para una completa descripción de este proceso sugirieron<sup>[12]</sup> la existencia de interacciones cooperativas, en las que los puentes de hidrógeno se abrían y cerraban en forma de cremallera. Aunque Wang y Morawetz<sup>[13]</sup> criticaban este planteamiento, considerando que no eran necesarios tantos segmentos contiguos de cadena para que este tipo de interacciones tuviera lugar.

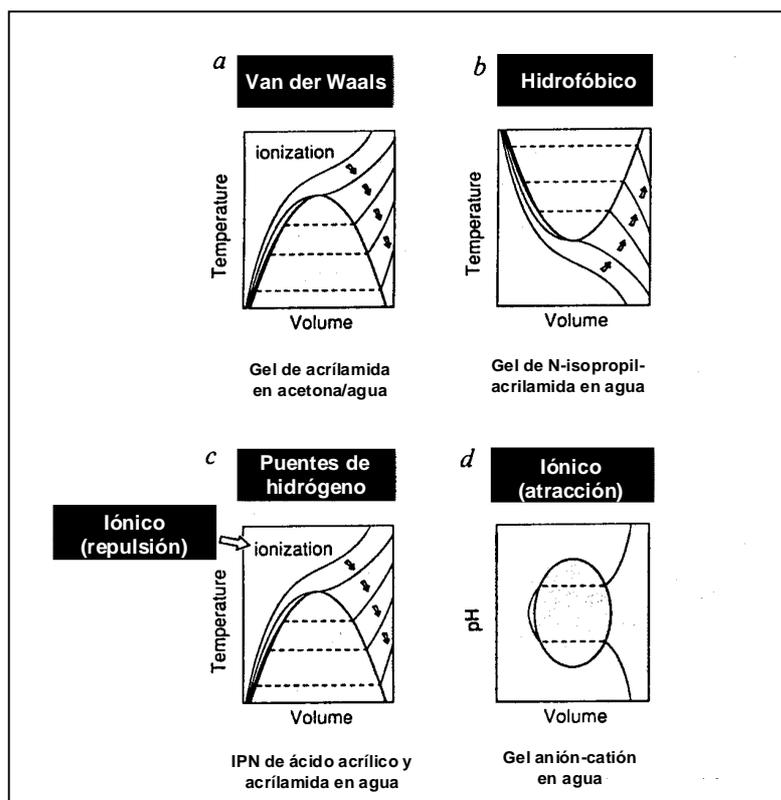


**Esquema 4.** Mecanismo de “cremallera” y posible organización molecular acompañando la transición de fase de la IPN de P(AAm)/P(AA). Según Ilmain et al.<sup>[12]</sup>

#### 1.2.4. INTERACCIONES ELECTROSTÁTICAS

La interacción electrostática (Coulombica) es una interacción de largo alcance, que es inversamente proporcional a la constante dieléctrica del medio. De modo que su importancia aumenta cuando el entorno es hidrofóbico, lo que se encuentra frecuentemente en las macromoléculas biológicas. En el caso de los polímeros sintéticos, en los polielectrolitos bien cargados positiva o negativamente tienen lugar fuertes interacciones repulsivas. Debido a que las cargas no se pueden mover por estar fijas a la cadena del polímero, los contra-iones móviles necesarios para la electroneutralidad tienen que localizarse también cerca de ellas de manera que aumenta la presión osmótica en el interior del gel y se produce su hinchamiento. Otro aspecto interesante es el que sucede en los polianfolitos, que contienen

tanto cargas positivas como negativas, de manera que se producen repulsiones a corto alcance y atracciones a largo alcance.



**Esquema 5.** Transiciones de fase volumétricas inducidas por las cuatro fuerzas fundamentales; a) van der Waals, b) hidrofóbicas, c) puentes de hidrógeno, y d) fuerzas electrostáticas. Según Tanaka y colaboradores.<sup>[2, 10, 12]</sup>

No obstante, Shild<sup>[14]</sup> en una revisión sobre la P(N-iPAAm) critica alguno de los planteamientos expuestos por Tanaka y colaboradores,<sup>[2, 10, 12]</sup> en concreto su clasificación sobre los cuatro tipos de fuerzas (Esquema 5) intermoleculares que de forma independiente serían responsables de la transición de fase, y lo tacha de ser demasiado ideal. Por ejemplo, en los casos de la poliacrilamida en agua/acetona y en de la P(N-iPAAm) indica que sería más factible que las fuerzas motoras que controlen este tipo de transición fuesen tanto puentes de hidrógeno como efectos hidrofóbicos. Parece más lógico pensar que frecuentemente va a ser más de un tipo de interacción los responsables del comportamiento del gel, aunque alguna de estas interacciones sea la predominante. De manera que la clasificación de cuatro tipos de geles dirigidos por cuatro fuerzas independientes tiene sólo validez como una clasificación general.

### 1.3. MOTIVACIÓN Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

El objetivo fundamental de este trabajo ha sido la preparación y estudio de hidrogeles sensibles a estímulos basados en N-isopropilacrilamida (N-iPAAm) y ácido metacrílico (MAA). Existen numerosos trabajos sobre distintos aspectos tanto de la P(N-iPAAm) como del P(MAA). Aunque ambos sistemas son de los más utilizados, el primero como hidrogel termosensible y el segundo como hidrogel que responde a

cambios de pH, podemos decir que, como se verá a lo largo de esta memoria, muchas de sus propiedades así como los cambios conformacionales que tienen lugar en los cambios de fase están todavía lejos de comprenderse totalmente. Este es ya un objetivo muy ambicioso, pero por otra parte, de entre los numerosos sistemas que aparecen en la literatura, nos pareció que el formado por la combinación de la *N*-iPAAm y el MAA podría resultar muy prometedor. En primer lugar por la posibilidad de obtener sistemas sensibles tanto a la temperatura como al pH, ya que los polímeros obtenidos de la combinación de estos dos monómeros participarán de las propiedades de los homopolímeros en mayor o menor medida dependiendo de su composición. Pero además, por la posibilidad de obtener nuevas propiedades como consecuencia de las complejas interacciones que pueden surgir entre ambos monómeros.

Es conocido que los polímeros que contienen grupos aceptores y donadores de hidrógeno dan lugar a fuertes interacciones por puentes de hidrógeno y a veces a la formación de complejos. De este modo, están descritos complejos en sistemas como P(MAA) y el polietilenglicol P(EG) que, por otro lado, muestran un marcado carácter hidrofóbico comparados con los complejos formados por el P(EG) y P(AA). También la P(*N*-iPAAm) forma fuertes complejos intermoleculares con el P(AA) que se estabilizan con un aumento temperatura, mientras que la intensidad de los complejos de P(AAm) con el P(AA) por el contrario, aumenta al disminuir la temperatura. Esta diferencia de comportamientos ha sido atribuida a la presencia o no de interacciones hidrofóbicas en los complejos ya que una característica de las interacciones hidrofóbicas es que su intensidad aumenta al aumentar la temperatura. El P(MAA) y la P(*N*-iPAAm) tienen el primero un grupo metilo y el segundo una cadena lateral de isopropilo que podrían dar lugar a interacciones hidrofóbicas adicionales. Sin embargo, a pesar de las potenciales propiedades que tiene este sistema, aparecen escasos antecedentes en la literatura<sup>[15, 16]</sup> y en ningún caso ninguno de estos estudios ha sido concluyente.

Como estudios indispensables desde el punto de vista polimérico la caracterización térmica de los geles sintetizados, determinación de la temperatura de transición vítrea y estabilidad, es uno de los objetivos de esta tesis. Estos son datos que ayudan a comprender la relación estructura-propiedades. En general, los estudios sobre hidrogeles están mayormente dirigidos a aspectos macroscópicos como grado de hinchamiento o a su reacción frente a diversos estímulos, olvidándose muchas veces el estudio a nivel molecular de las interacciones que dan lugar a su comportamiento característico. Para el estudio de aspectos estructurales y dinámicos de los geles se utilizarán técnicas de RMN en estado sólido. En concreto la aplicación, además de otras técnicas, de la espectroscopía dipolar de doble cuanto de protón, que aprovechando la valiosa información de las interacciones dipolares, permite diferenciar distintos tipos de estructuras organizadas mediante enlaces no covalentes. Incluso, haciendo uso de la información contenida en los ecos de rotación es posible determinar las distancias internucleares de los protones implicados en las interacciones, sin necesidad de tener monocristales o de un marcado isotópico de la muestra.

Otro aspecto importante de la investigación será el estudio detallado de la cinética de hinchamiento de los polímeros sintetizados en diferentes condiciones de pH y temperatura. Dentro del

hinchamiento puede considerarse tanto su valor en el equilibrio como la velocidad que tarda en alcanzarlo y el mecanismo a través del cual lo alcanza. El esclarecimiento de estos tres aspectos puede ayudar a comprender el tipo de interacciones que tienen lugar bajo determinadas condiciones y *viceversa*, el efecto que sobre estos parámetros ejercen las distintas interacciones que tienen lugar en la muestra.

Por último trataremos de explorar la posible aplicación de los sistemas sintetizados para la cesión de un fármaco hidrofílico de bajo peso molecular que consideramos como modelo. Por la posible capacidad de estos geles de responder a estímulos presentes en el medio fisiológico, como el pH, la concentración iónica o la temperatura hace que su aplicación presente un especial interés en el campo biosanitario. Como ya se mencionó, en el campo de la Tecnología Farmacéutica una de sus aplicaciones más interesante es el desarrollo de sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos (Drug Delivery and Controlled Release Systems).

#### 1.4. BIBLIOGRAFÍA

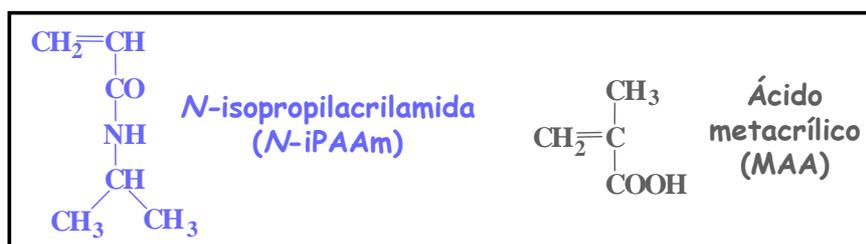
---

- [1] J. B. Park, R. S. Lakes, "Biomaterials. An introduction", 2ª ed. Plenum Press. New York. 1992
- [2] M. Shibayama, T. Tanaka, *Adv. Polymer Sci.*, **1993**, 109, 7.
- [3] S. W. Kim, Y. H. Bae, T. Okano, *Pharm. Res.*, **1992**, 9, 283.
- [4] S. H. Gehrke, P. I. Lee. "Hydrogels for drug delivery systems", en "Specialized Drug Delivery Systems. Manufacturing and Production Technology", Editor P. Tyle, Drugs and the pharmaceutical sciences. Marcel Dekker Inc. New York. 1990.
- [5] K. Dušek, D. Patterson, *J. Polym. Sci. B*, **1968**, A(2), 1209.
- [6] T. Tanaka, *Phys. Rev. Lett.*, **1978**, 40, 820.
- [7] A. English, E. R. Edelman, T. Tanaka. "Polymer hydrogels phase transitions", en: "Experimental methods in polymer science.- Modern methods in polymer research and technology", Editor T. Tanaka, Polymers, Interfaces and Biomaterials Academic Press. San Diego. 2000
- [8] L. Brannon-Peppas, N. A. Peppas, *J. Control. Release*, **1989**, 8, 267.
- [9] R. A. Siegel, B. A. Firestone, *Macromolecules*, **1988**, 21, 3254.
- [10] T. Tanaka, "Hydrogels" en "Encyclopedia of Polymer Science and Technology", Editores H. F. Mark, J. I. Kroschwitz, Wiley, New York. 1985.
- [11] R. F. S. Freitas, E. L. Cussler, *Chem. Eng. Sci.*, **1987**, 42, 97.
- [12] F. Ilmain, T. Tanaka, E. Kokufuta, *Nature*, **1991**, 349, 400.
- [13] Y. Wang, H. Morawetz, *Macromolecules*, **1989**, 22, 164.
- [14] H. G. Schild, *Prog. Polym. Sci.*, **1992**, 17, 163.
- [15] C. S. Brazel, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **1995**, 28, 8016.
- [16] J. Zhang, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **2000**, 33, 102.

## 2. SÍNTESIS Y PREPARACIÓN DE LOS SISTEMAS EMPLEADOS

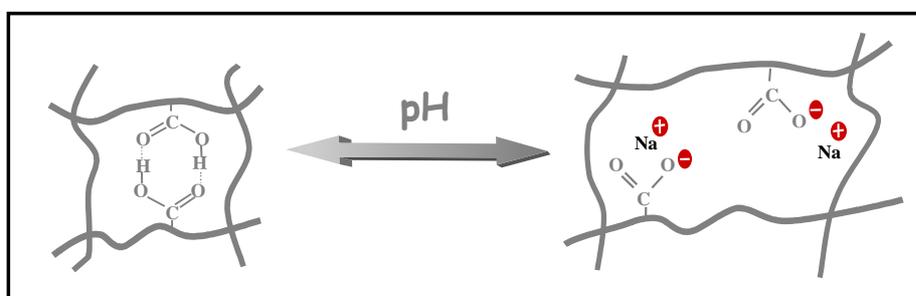
### 2.1. INTRODUCCIÓN

El diseño de geles inteligentes, sensibles a estímulos específicos nos permitiría controlar tanto el sitio como la velocidad a la que tiene lugar la liberación del fármaco. Con este objetivo se han empleado la *N*-isopropilacrilamida (*N*-iPAAm) y el ácido metacrílico (MAA) para sintetizar esta clase de materiales.<sup>[1, 2]</sup> La estructura química de ambos monómeros se muestra en el Esquema 1.



*Esquema 1: Monómeros empleados.*

Los homopolímeros entrecruzados de MAA muestran un comportamiento dependiente del pH en su hinchamiento que resulta muy útil en todas sus aplicaciones. En el campo biosanitario esto es debido a que el pH del medio fisiológico está controlado de manera muy precisa debido a su crucial importancia en todas las funciones del cuerpo humano. Por ello, los hidrogeles que contienen grupos laterales ionizables aprovechan la capacidad de modificar su volumen en función del pH del medio fisiológico. A pHs elevados, por encima del  $\text{pK}_a$  de su grupo carboxílico el P(MAA) se encuentra ionizado, y de esta forma cargado negativamente. Estas cargas fijas atraen contra-iones hidratados que tienden a expandir la estructura del gel.<sup>[3]</sup> En condiciones ácidas los grupos carboxílicos no están ionizados, y además puede tener lugar un entrecruzamiento físico adicional por puentes de hidrógeno entre ellos, lo que da lugar al colapso del P(MAA).



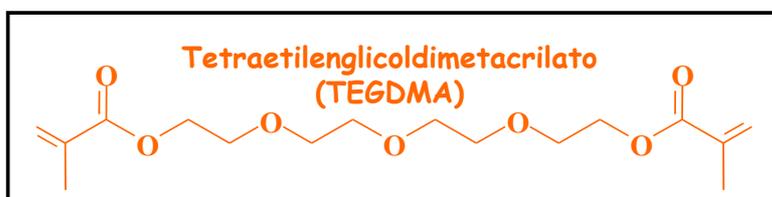
*Esquema 2: Colapso de la red de P(MAA).*

Los hidrogeles basados en MAA son ampliamente utilizados en la Tecnología Farmacéutica (EUDRAGIT®) como agentes de recubrimiento, aglomerantes y diluyentes, y se consideran materiales

no tóxicos, no irritantes y esencialmente seguros en humanos.<sup>[4]</sup> Su comportamiento pH dependiente ha sido explotado para proteger fármacos sensibles al pH del estómago y en los casos en los que se requiere una liberación específica en el tracto gastrointestinal.<sup>[5]</sup>

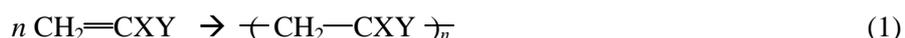
Por otro lado, la *N*-iPAAm es un monómero neutro derivado del ácido acrílico que da lugar a hidrogeles sensibles a la temperatura.<sup>[6]</sup> La P(*N*-iPAAm) entrecruzada presenta una separación crítica de fase del agua con una temperatura inferior crítica de hinchamiento (Lower Critical Swelling Temperature, LCST) de aproximadamente 34°C. Debido a cambios en el balance hidrofílico/hidrofóbico por encima de la LCST, tiene lugar una abrupta transición y el gel rápidamente expulsa gran cantidad de agua y cambia a una estructura más hidrofóbica, rígida y opaca.<sup>[7]</sup> Esta característica resulta muy interesante en el desarrollo de Sistemas de Liberación Controlada de Fármacos,<sup>[8, 9]</sup> debido a la atractiva circunstancia de que la temperatura crítica se encuentre tan cerca de la temperatura del cuerpo humano.

Como se mencionó anteriormente, una de las principales técnicas para la síntesis de hidrogeles es el entrecruzamiento químico de las cadenas poliméricas lineales mediante el empleo de pequeñas cantidades de agente entrecruzante. Para ello se emplean monómeros bifuncionales que pueden ser incorporados a las cadenas poliméricas por ambos extremos. Para llevar a cabo el entrecruzamiento de las redes sintetizadas en nuestro trabajo el agente empleado fue el tetraetilenglicol dimetacrilato (TEGDMA) (Esquema 3). Este monómero es un éster de dos unidades de MAA con el tetraetilenglicol. Los dos extremos terminales metacrilato se incorporan en las largas cadenas poliméricas dando lugar al entrecruzamiento químico de las mismas y por tanto a la estructura de red.



*Esquema 3: Monómero bifuncional. Agente entrecruzante*

Desde el punto de vista de su polimerización, los tres monómeros presentan características muy similares. Los tres pertenecen a los denominados monómeros acrílicos, que generan polímeros de adición mediante la conversión de sus dobles enlaces en enlaces saturados.



X e Y representan cualquier grupo sustituyente. En este proceso de polimerización no tiene lugar la pérdida de moléculas pequeñas, y de esta forma, las unidades repetitivas del polímero tienen la misma composición que el monómero. La polimerización tiene lugar por un mecanismo en cadena, que requiere un catalizador que genera especies iniciadoras con un centro reactivo (R\*). En la reacción de polimerización tiene lugar la propagación de las especies reactivas mediante la rápida adición sucesiva de monómeros en una reacción en cadena,



El crecimiento de la cadena polimérica termina con la destrucción del centro reactivo por uno de los diversos procesos de terminación.<sup>[10]</sup>

Todas las síntesis llevadas a cabo en este trabajo se realizaron mediante polimerización radical en solución. Para ello se emplearon distintos sistemas iniciadores. Se emplearon iniciadores redox como el peróxido de benzoilo (PB) para polimerizaciones llevadas a cabo en disolventes orgánicos y el persulfato amónico (APS) para polimerizaciones en disoluciones acuosas. Junto con estos iniciadores se emplearon activadores que permiten que tenga lugar la iniciación a temperatura ambiente: dimetilparatoluidina (DMPT) para el PB y tetrametilenoetilenodiamina (TEMED) para el APS. El activador reacciona con el iniciador dando lugar a su ruptura homolítica y por tanto a especies reactivas con un radical libre. Cuando se emplea el TEMED como activador es necesario llevar a cabo una neutralización de la solución de pre-gelificación, previa a su adicción.<sup>[10]</sup> También se llevaron a cabo reacciones de fotopolimerización, en las que la generación de los radicales libres tiene lugar por medios fotoquímicos. Para ello se emplea un iniciador fotosensible la 2,2-dimetoxi-2-benzofenona (DMPA), que se excita a determinadas frecuencias de radiación ultravioleta generando radicales libres por la descomposición de los compuestos excitados.<sup>[10]</sup>

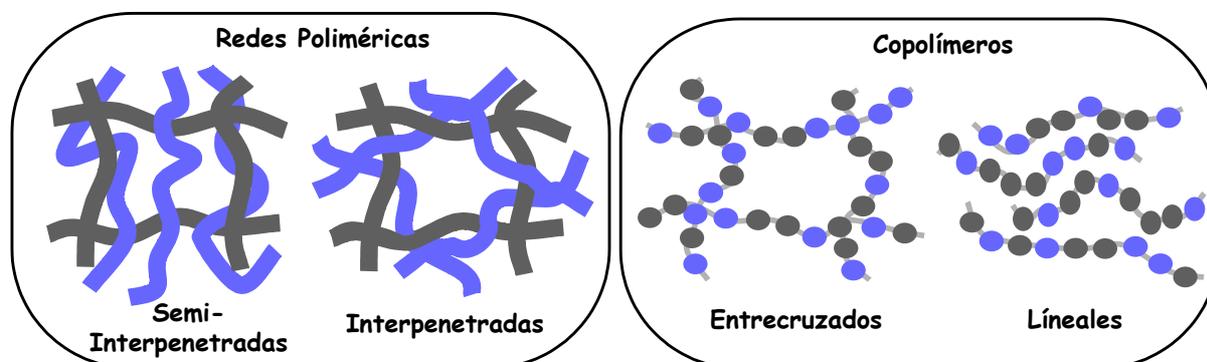
Para la obtención de hidrogeles sensibles a la temperatura y al pH se decidió combinar las propiedades de la *N*-iPAAm y el MAA mediante la síntesis de diversos sistemas basados en ellos. Un método de sobra conocido y empleado en el campo de los materiales poliméricos sintéticos para la obtención de sistemas que combinen las propiedades de dos monómeros diferentes es la copolimerización de ambos. En los copolímeros ambos monómeros se encuentran en la misma cadena y presentan uniones químicas covalentes entre ellos, lo que puede dar lugar a modificaciones en su comportamiento. Dependiendo de las características de los monómeros y de las condiciones de síntesis se pueden obtener diferentes tipos de copolímeros:

- Copolímeros de bloque:                    .....AAAABBBB.....
- Copolímeros alternantes:                .....ABABABAB.....
- Copolímeros estadísticos o al azar:   .....AAABABBA.....

Debido a la similitud de ambos monómeros, así como al método de polimerización radical<sup>[10]</sup> empleado, los copolímeros obtenidos para nuestro trabajo son de tipo estadístico o al azar.

Otro modo de combinar sus características es la obtención de redes interpenetradas (IPNs) independientes de ambos monómeros. En ese tipo de materiales, mediante un procedimiento de síntesis adecuado, se consigue que los monómeros se encuentren formando redes interpenetradas, pero sin que exista unión química entre ellos. Un tipo especial de IPNs son las denominadas redes semi-interpenetradas. En este caso, uno de los polímeros no se entrecruza químicamente, y se encuentra en forma de cadenas lineales que interpenetran a la red formada por el otro polímero.

Las estructuras descritas se muestran en el Esquema 4, y, como se irá viendo a lo largo del desarrollo de la memoria presentan algunas propiedades diferentes aun teniendo la misma composición química.



*Esquema 4: Sistemas sensibles al pH y a la temperatura basados en la N-iPAAm y el MAA.*

Debido a la importancia que tiene en el comportamiento de los geles inteligentes la composición del medio externo, en esta sección también se describirá la preparación de los medios controlados empleados para llevar a cabo el acondicionamiento de las muestras y los estudios de equilibrio y dinámica de hinchamiento.

## 2.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 2.2.1. MATERIALES

La *N*-isopropilacrilamida (*N*-iPAAm),  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$ , se obtuvo de Across Organics (New Jersey, EEUU) con un 99% de pureza. Previamente a su empleo se llevó a cabo una purificación por recristalización en una mezcla de *n*-hexano/tolueno (90/10 % vol. ) ambos obtenidos de Merck (Darmstadt, Alemania). El ácido metacrílico (MAA),  $\text{CH}_2=\text{C}(-\text{CH}_3)-\text{COOH}$ , se obtuvo de Fluka-Chemie, A.G. (Buchs, Suiza) con un 98% de pureza, y se destiló a presión reducida (50°C/667 Pa) para eliminar el inhibidor añadido.

El entrecruzante, tetraetilen-glicol-dimetacrilato (TEGDMA),  $\text{O}[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{C}(-\text{CH}_3)=\text{CH}_2]_2$ , los iniciadores: persulfato amónico (APS), peróxido de benzoilo (BP) y 2,2-dimetoxi-2-benzofenona (DPMA) y los activadores *N,N,N',N'*- Tetrametiletilendiamina (TEMED) y *N,N*-dimetil-*p*-toluidina (DMPT), fueron obtenidos de Fluka-Chemie, A.G. (Buchs, Suiza). Tanto el etanol como el metanol, empleados en la síntesis se obtuvieron de Panreac Monplet & Esteban, S.A., (Barcelona, España).

Para la preparación de las distintas soluciones tamponadas se emplearon reactivos: hidrógeno fosfato disódico, obtenido de Fluka-Chemie, A.G. (Buchs, Suiza). Hidrógeno fosfato trisódico,

dihidrógeno fosfato sódico, ácido orto-fosfórico, cloruro sódico, hidróxido sódico y ácido clorhídrico se obtuvieron de Panreac Monplet&Esteban, S.A., (Barcelona).

Para la plastificación de las muestras en los estudios de propiedades térmicas empleó etilenglicol (EG) de Riedel-de Haën (Seelze, Alemania).

El fármaco clorhidrato de diltiacem empleado fue suministrado gratuitamente por los laboratorios Éthypharm (Le Grand Quevilly, Francia).

Tanto para la síntesis como para la preparación de los reactivos se empleó agua destilada miliQ en las cantidades necesarias.

### 2.2.2. SÍNTESIS DE LOS COPOLÍMEROS LINEALES Y ENTRECruzADOS

Los homopolímeros P(*N*-iPAAm) y P(MAA) así como los copolímeros P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) se sintetizaron por polimerización radical en disolución empleando como disolvente una mezcla de etanol y agua al 50% en peso y relaciones molares iniciales de los monómeros *N*iPAAm/MAA de 0, 0.15, 0.30, 0.50, 0.70, 0.85 y 1.0. Como sistema iniciador se empleó AP activado por TEMED. En el caso de los copolímeros entrecruzados se estudiaron dos concentraciones en peso del agente entrecruzante TEGDMA: 0.25% y 0.5% (p/p).

Para obtener geles en forma de lámina se siguió el siguiente procedimiento. Como se mencionó en la introducción, para emplear TEMED como activador es necesario llevar a cabo una neutralización de la mezcla. Por ello en primer lugar se neutralizó el MAA con una disolución de NaOH en cantidades relativas a la cantidad de MAA en el copolímero. Posteriormente se añadió el resto de etanol y la *N*-iPAAm. Una vez que la *N*-iPAAm estaba bien disuelta se añadió el entrecruzante, un 0.50% (p/p) del iniciador APS y por último el activador en un 0.12% (p/p). Inmediatamente se vertió la disolución sobre una placa de cristal (130 x 130 x 3mm) enmarcada con un espaciador de caucho de 1 mm de espesor. Para prevenir el contacto con el aire durante la reacción de polimerización, se selló depositando cuidadosamente otra placa de cristal de las mismas dimensiones La gelificación tenía lugar de 2 a 4 horas después. Se dejaba continuar la reacción durante 12 horas.

Para la purificación de los geles así obtenidos se extrajeron de las placas y se sumergieron en agua destilada durante dos días para eliminar todos los componentes que no hubieran reaccionado. Durante ese tiempo se reemplazó el agua varias veces con agua limpia.

### 2.2.3. SÍNTESIS DE LAS REDES INTERPENETRADAS Y SEMI-INTERPENETRADAS

Para la obtención de las redes interpenetradas P(MAA)/P(*N*-iPAAm) se empleó el método secuencial. En primer lugar se sintetizó el gel de P(MAA) por polimerización radical, empleando el procedimiento descrito en el apartado anterior entrecruzado con un 0.25% (p/p) de TEGDMA. Se empleó PB como iniciador y DMPT como activador. El gel así obtenido, una vez purificado en agua destilada y seco se hinchó en una disolución de metanol y *N*-iPAAm con la misma concentración de entrecruzante (o

sin entrecruzante en el caso de las redes semi-interpenetradas). La concentración de *N*-iPAAm en la disolución variaba en función de la composición final de la red a obtener. En esta disolución se adicionó el iniciador sensible al ultravioleta, DMPA. Una vez que el gel alcanzó su grado de hinchamiento en el equilibrio, el gel hinchado se colocó bajo una fuente de luz ultravioleta durante 10 minutos. Puesto que algunas de las redes así obtenidas prácticamente no se hinchaban en agua destilada, se empleó metanol para su purificación.

#### 2.2.4. ANÁLISIS ELEMENTAL

Debido a la existencia de un nitrógeno en la cadena lateral de la *N*-iPAAm la composición de los copolímeros y redes interpenetradas obtenidas en los apartados anteriores puede ser estimada empleando el método de análisis orgánico elemental. Las composiciones obtenidas se muestran en la Tabla 1.

*Tabla 1: Composición química de todos los sistemas sintetizados como se describe en el texto, calculada por análisis elemental.*

Muestras	Lineales	Entrecruzados	
		0.25 % (p/p) TEGDMA	0.50 % (p/p) TEGDMA
	<i>N</i> -iPAAm (%molar)	<i>N</i> -iPAAm (%molar)	<i>N</i> -iPAAm (%molar)
Copolímeros			
85/15	-	82.6	83.3
70/30	66.0	66.7	73.3
50/50	52.7	50.5	53.3
30/70	37.0	32.4	38.8
15/85	-	15.4	19.5
IPN 2	-	1.7	-
IPN 15	-	15.4	-
IPN 30	-	30.2	-
Semi-IPN (extraída)	24.4	-	-

#### 2.2.5. PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES TAMPÓN

Los tampones fosfato son de los más empleados en los estudios de Tecnología Farmacéutica, debido a su similitud con el medio fisiológico. Además presentan la ventaja adicional de que al tener tres protones ácidos permiten obtener pHs variados. El cálculo de las concentraciones de fosfato y ácido fosfórico necesarias para obtener un pH determinado se realizó empleando la ecuación de Henderson-Hasselbach:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \left\{ \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \right\} \quad (3)$$

Se empleó cloruro sódico NaCl para mantener una fuerza iónica constante 0.1M. Las cantidades empleadas en cada caso se muestran en la Tabla 2. Los valores de pH obtenidos en ambos casos son muy similares a los esperados teóricamente y eran cuidadosamente controlados antes y después de llevar a cabo los ensayos. En determinadas ocasiones en las que se consideró necesario se emplearon soluciones de NaOH o HCl 0.1M. Por último, en los estudios de cesión del fármaco se emplearon los medios y procedimientos de ensayo descritos en las Farmacopeas: medio ácido HCl 0.1 N pH 1.2; medio básico tampón fosfato pH 6.8 (750 ml HCl 0.1N + 250 ml Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0.2N).

**Tabla 4:** Composición de los tampones fosfato empleados en el acondicionamiento de las muestras y en los estudios de hinchamiento. Fuerza iónica constante 0.1M.

pH	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (g)	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g)	Fuerza iónica	NaCl (g)
2	1.441	1.824	-	0.015	4.963
4	0.027	3.553	-	0.030	4.108
5	-	3.538	0.058	0.031	4.048
6	-	3.152	0.515	0.037	3.665
7	-	1.512	2.456	0.064	2.064
7.4	-	0.804	3.293	0.076	1.373
8	-	0.240	3.961	0.085	0.823
9	-	0.026	4.214	0.089	0.610

### 2.3. BIBLIOGRAFÍA

- 
- [1] C. S. Brazel, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **1995**, 28, 8016.
- [2] J. Zhang, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **2000**, 33, 102.
- [3] G. M. Eichenbaum, P. F. Kiser, S.A. Simon, D. Needham, *Macromolecules*, **1998**, 31, 5084.
- [4] A. J. Shukla, "Polymethacrylates" en "Handbook of Pharmaceutical Excipients". American Pharmaceutical Association, Washington, The Pharmaceutical Press, London. 1994.
- [5] M. Torres-Lugo, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **1999**, 32, 6646.
- [6] H. G. Schild, *Prog. Polym. Sci.*, **1992**, 17, 163.
- [7] R. A. Stile, W. R. Burghardt, K. E. Healy, *Macromolecules*, **1999**, 32, 7370.
- [8] Y. H. Bae, T. Okano, Y. Sakurai, S. W. Kim, *Macromol. Chem. Rapid. Commun.*, **1987**, 8, 481.
- [9] L. C. Dong, A. S. Hoffman, *J Control Release*, **1990**, 13, 21.
- [10] G. Odian. "Principles of Polymerization". Mc Graw Hill, New York, 1970.



### 3. PROPIEDADES TÉRMICAS

#### 3.1. INTRODUCCIÓN

---

El efecto de la temperatura sobre los polímeros es relativamente complejo y de una importancia fundamental en las propiedades físicas de los mismos. Los polímeros empleados en nuestro trabajo son amorfos, por lo que no presentan una temperatura de fusión, sin embargo, si presentan una temperatura a la que se producen cambios esenciales en su estructura física. Es la denominada temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), característica de la fase amorfa, que varía de un polímero a otro y es uno de los parámetros que más influencia tiene en su comportamiento y propiedades. Como consecuencia de esta transición el polímero sufre un cambio abrupto en propiedades como: el coeficiente de expansión, la permeabilidad, el índice de refracción, la dureza, etc. Los polímeros por encima de la  $T_g$  son elásticos, pero cuando la temperatura disminuye al valor de la  $T_g$  el polímero se transforma en un sólido rígido y tiende a ser duro y quebradizo. En el fenómeno de la transición vítrea no tiene lugar un cambio abrupto en el volumen como sucede en la cristalización, sino que ocurre un cambio de pendiente en la curva del volumen específico frente a la temperatura (de un valor bajo en el estado vítreo pasa a un valor mayor en el estado gomoso). Se interpreta en términos de procesos de relajación intermolecular. Por encima de la  $T_g$  tienen lugar movimientos moleculares cooperativos en segmentos de la cadena principal del polímero. Por debajo de la  $T_g$ , estos movimientos se congelan y tan sólo tienen lugar movimientos moleculares localizados a menor escala en los que están implicados grupos pequeños de átomos. Una de las técnicas más empleadas para el estudio de esta transición es la de calorimetría diferencial programada (DSC).

El factor más importante que determina el valor de la  $T_g$  es la flexibilidad de la cadena polimérica. Esto es debido a que su valor depende de la fracción de volumen libre en el estado amorfo. Con esta base pueden explicarse fácilmente ciertos efectos de la estructura química o el peso molecular sobre la  $T_g$ . Sustituyentes voluminosos aumentan el volumen libre y disminuyen su valor y estructuras poco flexibles o con pocas posibilidades de conformación muestran valores de  $T_g$  altos. Las interacciones entre las cadenas y, por tanto, la compatibilidad de un sistema formado por más de un componente, también ejercen una gran influencia por lo que pueden ser estudiadas mediante la determinación de la  $T_g$ . Los copolímeros al azar y las mezclas compatibles muestran una única  $T_g$  en cuyo valor en función de la composición ejercen una gran influencia las interacciones entre grupos funcionales. En el caso de las IPNs en las que ambas redes son independientes, este tipo de interacciones puede dar lugar a grandes mejoras en la compatibilidad del sistema formado por los dos componentes y, en consecuencia, a modificaciones en su comportamiento frente a la temperatura. Para los copolímeros al azar, la existencia de interacciones entre ambos monómeros puede dar lugar a desviaciones de los modelos clásicos en el comportamiento de  $T_g$  vs composición.<sup>[1-5]</sup> Los polímeros basados en MAA y *N*-iPAAm pueden ser capaces de formar complejos muy estables de carácter hidrofóbico que se fortalecen al aumentar la

temperatura.<sup>[6]</sup> Estos complejos podrían ser debidos a interacciones moleculares por puentes de hidrógeno entre los grupos amida y carboxílico.

Por otro lado, resulta indispensable llevar a cabo un estudio previo de la estabilidad térmica de los sistemas. Además de ser una característica de los materiales, los estudios de estabilidad térmica son un dato preliminar importante para llevar a cabo un estudio de la  $T_g$  en condiciones adecuadas. Desde un punto de vista práctico son necesarios para conocer la temperatura de uso del polímero y asegurarnos que no se están produciendo procesos de tipo degradativo durante otras medidas en las que se emplee la temperatura como variable. Por otra parte, también pueden reflejar interacciones moleculares. El método de elección para este tipo de estudios es el análisis termogravimétrico (TGA) mediante el que se determina el comportamiento del sistema a temperaturas elevadas.

Tanto el estudio de la  $T_g$  como el de la estabilidad térmica nos permiten una caracterización de los sistemas en estado seco (xerogeles). Pero la principal característica de los hidrogeles, que da lugar a las interesantes propiedades de estos materiales, es su interacción con el agua. Esto hace que el estudio de los sistemas hinchados en agua resulte fundamental para su posterior aplicación. La movilidad del agua en el interior de los hidrogeles también puede ser determinada empleando la técnica de DSC. Dependiendo del tipo de interacción con el polímero, el agua puede presentarse en diferentes estados. En la bibliografía consultada al respecto se puede apreciar como en las curvas de DSC obtenidas para muestras de hidrogeles hinchadas aparecen diversas endotermas en la región del agua.<sup>[7-12]</sup> Éstas han sido interpretadas por la existencia de distintos estados del agua en el hidrogel, desde el agua unida por algún tipo de interacción con grupos hidrofílicos del gel, hasta el agua libre, pasando por estados intermedios.

Debido a la sensibilidad a la temperatura que presentan los polímeros basados en la *N*-iPAAm, resulta especialmente interesante el estudio de las propiedades térmicas en medio acuoso. En los geles de P(*N*-iPAAm) tiene lugar una separación de fases del agua con una temperatura inferior crítica de hinchamiento (LCST) de aproximadamente 34°C. Por encima de esta temperatura el gel se vuelve rígido y opaco, y rápidamente se deshidrata dando lugar a una estructura más hidrofóbica.<sup>[13]</sup> Las LCST corresponden a sistemas en los que la separación de fases se induce entrópicamente, mientras que las UCST (temperatura máxima de disolución crítica) son inducidas entálpicamente. En el caso de la *N*-iPAAm, esta separación de fases está controlada por el balance de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos de la molécula y por la dependencia con la temperatura de ciertas interacciones moleculares como los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas que contribuye a este tipo de separaciones de fase. El diagrama de fases de un sistema depende del tipo de interacciones.

En el caso de los hidrogeles del presente trabajo, hemos de tener en cuenta el efecto que tiene sobre la transición térmica la adición del MAA en la red de P(*N*-iPAAm), ya sea como co-monómero o como redes independientes. La adición de monómeros hidrofílicos al gel de P(*N*-iPAAm) debe aumentar el valor de la LCST debido a que el monómero impide la deshidratación de las cadenas poliméricas y tiende a expandir la estructura colapsada.<sup>[13-18]</sup> A ello hay que añadir el hecho de que a pHs elevados tiene lugar

la ionización del grupo carboxílico del MAA. Esto afecta en mayor medida a la LCST ya que los grupos  $\text{COO}^-$  ionizados son aun más hidrofílicos.<sup>[19]</sup> Stile et al.<sup>[13]</sup> han sugerido que además del incremento en el valor de la LCST, la adición de monómeros ionizables da lugar a un aumento en la amplitud de la transición, lo que indica una disminución en la termosensibilidad en el hinchamiento. En el caso de las IPNs, Schild et al.<sup>[20]</sup> argumentan que la adición de un componente polimérico no unido covalentemente tiene poco efecto sobre la LCST. Sin embargo hay que tener en cuenta que la formación de complejos entre los grupos amida en la *N*-iPAAm y los grupos carboxílicos en el MAA puede impedir el colapso inducido por las unidades de *N*-iPAAm, afectando por tanto a la LCST.

## **3.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

---

Para el estudio de las propiedades térmicas de nuestros sistemas se emplearon muestras de hidrogeles con distinta composición basados en *N*-iPAAm y MAA, tanto copolímeros como redes interpenetradas, con un 0.25 % (p/p) de entrecruzante.

### 3.2.1. ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Las medidas se realizaron empleando un aparato Perkin-Elmer TGA / con un TAC 7/DX en atmósfera de nitrógeno, libre de oxígeno para evitar que se produjera una degradación termooxidativa. Para cada ensayo se emplearon de 5-8 mg de muestra pulverizadas, secadas a vacío. Se llevaron a cabo ensayos dinámicos en los que se empleó una velocidad de calentamiento lineal de  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  que se mantuvo en el intervalo de 323-873 K. De esta forma se obtuvieron las curvas de TGA de pérdida de peso y sus correspondientes derivadas para todas las muestras estudiadas.

### 3.2.2. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL PROGRAMADA (DSC)

Las medidas de DSC se llevaron a cabo empleando un calorímetro diferencial programado Mettler-Toledo modelo TA8000 bajo una corriente de nitrógeno y conectado a un sistema de enfriamiento. Se empleó el DSC para distintas determinaciones, tal y como se describirá a continuación.

Para la preparación de las muestras empleadas en los estudios de la  $T_g$  se llevó a cabo el siguiente procedimiento: Se cortaron discos de polímero de dimensiones pre-establecidas, de los geles con un grado de hinchamiento en agua también pre-determinado. Estos discos se dejaron secar al ambiente y posteriormente se secaron a vacío ( $10^{-3}$  mm de Hg) a 333 K durante 12 horas. Cuando resultaba adecuado para las muestras a estudiar, estos discos se emplearon tal cual para la determinación directa de la  $T_g$ . Sin embargo en algunos casos fue necesario el empleo de etilen glicol (EG) como plastificante. Para la preparación de las muestras plastificadas, a los discos de polímero secos se les añadió una mezcla de concentración conocida de EG-H<sub>2</sub>O en cápsulas de aluminio abiertas. El empleo de la mezcla EG-H<sub>2</sub>O nos permite obtener un hinchamiento más rápido de la muestra en EG. Las muestras se dejaron equilibrar en la disolución una noche. Posteriormente las muestras se secaron a vacío a 333 K durante 12 horas en

las cápsulas de aluminio abiertas para eliminar el H<sub>2</sub>O. La concentración de EG en la muestra se determinó por pesada antes y después de la eliminación del H<sub>2</sub>O.

Para determinar la  $T_g$  tanto directamente como en el caso de las muestras plastificadas, se empleó la siguiente historia térmica; Las capsulas selladas fueron sometidas a una primera pasada desde temperatura ambiente a 453 K con una velocidad de calentamiento ( $R_H$ ) lineal de 20 K·min<sup>-1</sup>. A continuación las muestras fueron inmediatamente enfriadas a 233 K con una velocidad de enfriamiento ( $R_C$ ) de 30 K·min<sup>-1</sup>, y en una segunda pasada se calentó la muestra de 233 a 473 K. El valor de la  $T_g$  se determinó de la traza de esta segunda pasada empleando el criterio de  $T_g$  a  $\Delta C_p/2$ .

Para el estudio de la LCST y el estado del agua en los hidrogeles se emplearon muestras hinchadas con una concentración conocida de agua que se prepararon directamente en las cápsulas. Para ello se pesaron cantidades determinadas de geles pulverizados y secados a vacío, a los que se les añadió agua destilada en la cantidad requerida. Después de cerrar las cápsulas, las muestras se dejaron equilibrar una noche previamente a su estudio. Estas muestras hinchadas se sometieron a las siguientes rampas térmicas: Cada muestra fue enfriada de 303 a 173 K con una  $R_C = 10$  K·min<sup>-1</sup>. Posteriormente la muestra fue calentada de 173 a 343 K con una  $R_H = 10$  K·min<sup>-1</sup>

### 3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

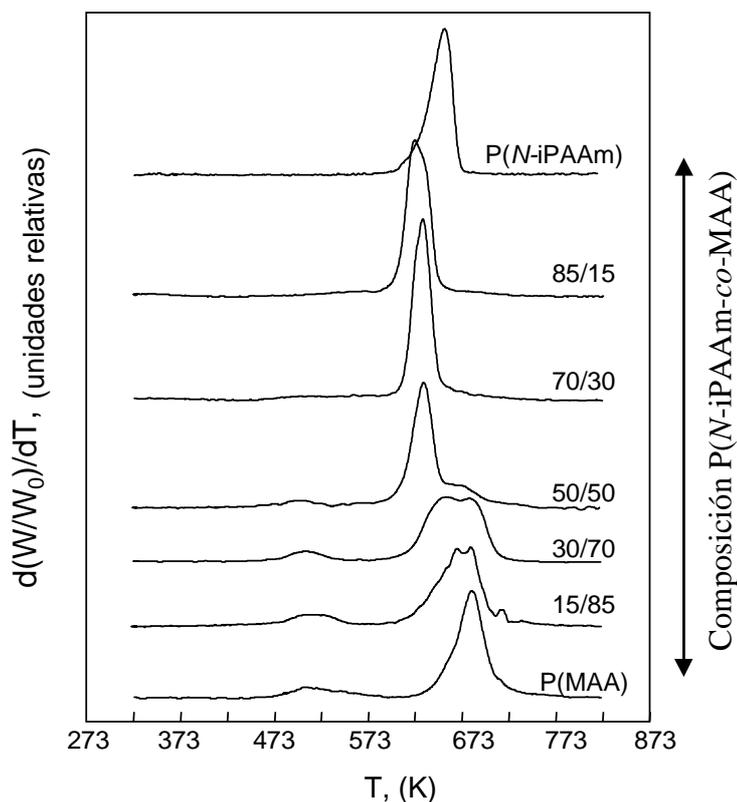
---

#### 3.3.1. ESTABILIDAD TÉRMICA

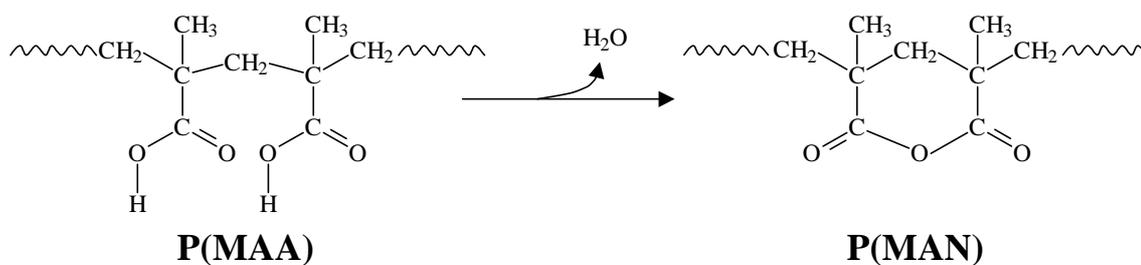
Los estudios de estabilidad térmica de los xerogeles son muy interesantes debido a que representan una característica propia del material. En la Fig. 1 se muestra la primera derivada de las curvas de TGA obtenidas para muestras de geles homopolímeros de P(*N*-iPAAm) y P(MAA) y sus copolímeros de distintas composiciones. Para la P(*N*-iPAAm), algunos autores han observado que es más estable térmicamente que la poliacrilamida, P(AAm), y que se degrada en un único paso comenzando alrededor de 673 K sin dejar residuo apreciable.<sup>[21]</sup> El P(MAA) sintetizado para nuestro trabajo por polimerización radical es mayormente sindiotáctico con un 73 % de triadas rr y un 27 % de triadas mr, como se determinó por RMN. La estabilidad térmica del P(MAA) sindiotáctico también ha sido estudiada por algunos autores<sup>[22-24]</sup> y se ha propuesto que se degrada en un proceso en dos pasos. Al calentar el P(MAA) tiene lugar una primera eliminación de agua entre grupos carboxílicos cercanos, y se transforma en anhídrido polimetacrílico, P(MAN), que contiene anillos de seis miembros de tipo anhídrido glutárico. (Fig. 2). El material así obtenido tiene una mayor estabilidad térmica. Los máximos de la derivada para estos dos procesos tienen lugar a 513 y 743 K respectivamente.

En la Fig. 1 se comprueba que, excepto el homopolímero de *N*-iPAAm, todas las muestras presentan un pico ancho alrededor de 523 K, característico del primer paso de la degradación de las unidades estructurales del MAA. Para copolímeros con un contenido de MAA por debajo del 50 % molar, esta primera etapa casi no se detecta. El segundo pico a temperaturas más elevadas que corresponde a la

degradación de la cadena principal, parece desdoblarse en dos picos para el copolímero con un 50 % molar de *N*-iPAAm, efecto que parece aumentar para el copolímero con un 30 % y para el del 15 % el pico de la izquierda se aproxima al otro. Hay que mencionar que la estabilidad térmica de los copolímeros de menor contenido en MAA es más baja que la de los correspondientes homopolímeros.

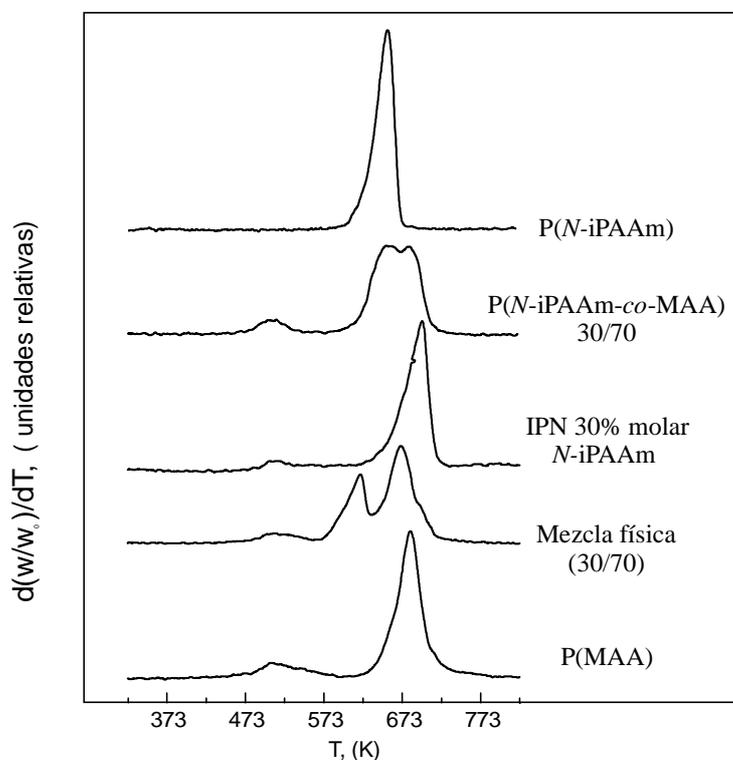


**Figura 1.** Primera derivada de las curvas de TGA en función de la temperatura para las muestras de *P(N-iPAAm)*, *P(MAA)* y sus copolímeros.



**Figura 2.** Esquema del primer paso de la degradación del *P(MAA)*.

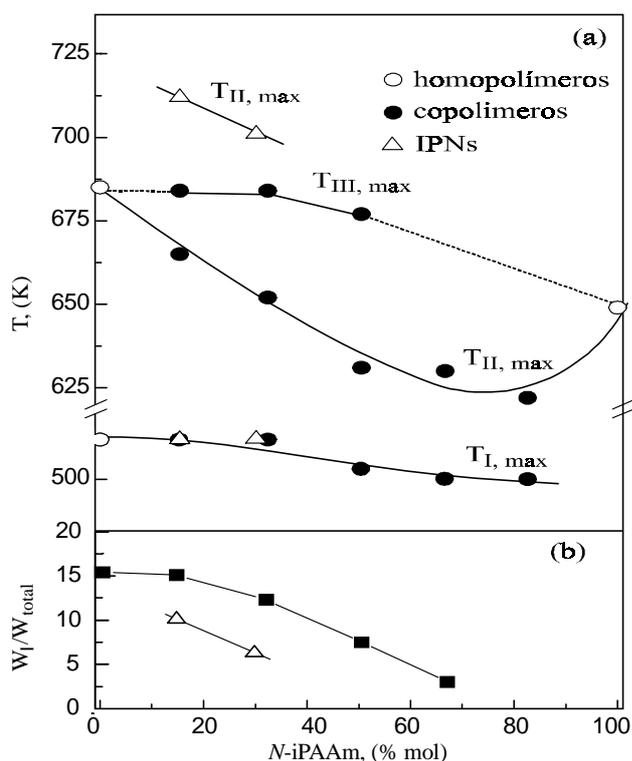
A efectos comparativos se preparó una mezcla física de ambos homopolímeros, con un contenido 30 % molar en P(*N*-iPAAm) y en la Fig. 3 se compara la degradación térmica de esta muestra, con la del copolímero 30/70 y la IPN 30, de composición similar. Para las tres muestras de la misma composición bruta, la estabilidad térmica es muy diferente. En el caso de la mezcla física, la degradación tiene lugar en tres etapas. Se supone que el primer pico se debe a la formación del anhídrido, el segundo a la degradación de la P(*N*-iPAAm) y el tercero y más grande, a la degradación de la cadena principal de P(MAA). Estos dos picos de más alta temperatura se asignaron teniendo en cuenta que el MAA es el componente mayoritario de la mezcla. La IPN tiene una mayor estabilidad térmica que el copolímero, y también mayor que los homopolímeros. También se puede apreciar que la degradación de la cadena principal para esta muestra, tiene lugar en una única etapa, lo que puede ser una prueba de la formación de una auténtica red interpenetrada entre ambos polímeros.



**Figura 3.** Primera derivada de las curvas de TGA en función de la temperatura para las muestras de P(*N*-iPAAm) y P(MAA), un copolímero, una IPN y una mezcla física de la misma composición molar: 30 % molar de *N*-iPAAm.

En la Fig. 4 se resumen gráficamente todos los procesos observados y en la Tabla 1 se recogen los parámetros obtenidos para las muestras estudiadas. Como se apreciaba en las figuras anteriores, algunos de los geles presentan hasta tres etapas en su degradación, cuyos máximos se han designado como  $T_{I\ max}$ ,  $T_{II\ max}$  y  $T_{III\ max}$  respectivamente. Como ya se ha mencionado, todas las muestras, excepto el homopolímero de *N*-iPAAm presentan la primera etapa de la degradación, característica del MAA. Este parámetro ( $T_{I\ max}$ ) es muy similar tanto para los copolímeros como para sus redes interpenetradas respectivas y solo presenta una muy ligera dependencia con la composición. En la Fig. 4 (b) se representa la relación entre la pérdida

de peso en este primer paso de la degradación ( $W_I$ ) y la pérdida de peso total ( $W_{total}$ ), ambos valores obtenidos por integración de la primera derivada de la curva de TGA. Como cabría esperar, se comprueba que esta relación muestra una marcada dependencia con la composición, su valor va disminuyendo al aumentar el contenido en *N*-iPAAm en la muestra. Pero parece que esta disminución no sólo se debe al menor número de unidades MAA en el copolímero, sino que también parece que la copolimerización aumenta la estabilidad. Puesto que este pico es debido a ciclación de grupos carboxílicos próximos, pueden existir impedimentos estéricos para que tenga lugar cuando el contenido de *N*-iPAAm sea muy alto.



**Figura 4.** (a) Parámetros característicos de la estabilidad térmica, obtenidos de la primera derivada de las curvas de TGA y (b) Relación entre la pérdida de peso en el primer paso de la degradación ( $W_I$ ) y la pérdida de peso total ( $W_{total}$ ), para muestras de *P(N-iPAAm)*, *P(MAA)*, sus copolímeros e IPNs, representados en función de la composición molar de la muestra.

El máximo del segundo pico,  $T_{II, max}$ , también presenta una marcada dependencia con la composición de la muestra. Su valor desciende al aumentar el contenido de *N*-iPAAm de la muestra, alcanzando un valor mínimo alrededor del 70-85 % molar de *N*-iPAAm. En las muestras de mayor contenido en MAA, aparece un tercer máximo,  $T_{III, max}$ , cuya temperatura permanece constante y muy próxima al valor del homopolímero *P(MAA)*. Cuando se comparan copolímeros e IPNs de la misma composición, se comprueba que la estabilidad química es muy diferente. En la Fig. 4 (b) se observa que la primera etapa de la degradación es menor en el caso de las IPNs con respecto a los copolímeros de la misma composición. Al estudiar la degradación de la cadena principal se comprueba que esta tiene lugar

en un único paso bien definido, al contrario de lo que sucede en los copolímeros y a una mayor temperatura. Esta mayor estabilidad térmica nos indica que las IPNs poseen un buen grado de interpenetración probablemente debido a interacciones específicas entre los grupos amida y carboxílico.

**Tabla 1.** Parámetros obtenidos en el análisis termogravimétrico de los geles secos:  $T_{in}$  es la temperatura inicial de la degradación,  $T_{I,max}$ ,  $T_{II,max}$ ,  $T_{III,max}$  son las temperaturas del máximo para el primer, segundo y tercer paso de degradación.  $(W_I/W_{total}) \cdot 100$ , es la relación entre la primera pérdida de peso ( $W_I$ ), y la pérdida de peso total ( $W_{total}$ ).

Muestra	$T_{in}$ (K)	$T_{I,max}$ (K)	$T_{II,max}$ (K)	$T_{III,max}$ (K)	$(W_I/W_{total}) \cdot 100$
Copolímeros					
P(N-iPAAm)	-	-	649	-	-
85/15	-	500	622	-	-
70/30	468	500	630	-	3.0
50/50	472	503	631	677	7.5
30/70	479	512	652	684	12.3
15/85	482	509-513	665	684	15.1
P(MAA)	473	512	685	-	15.4
IPN 30	488	512	701	-	6.3
IPN 15	481	512	712	-	10.1

### 3.3.2. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA ( $T_g$ )

#### 3.3.2.1. TRANSICIÓN VÍTREA EN LOS COPOLÍMEROS

Un método muy útil para estudiar en detalle las interacciones que tienen lugar en nuestros sistemas es determinar la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de las muestras. Como se vio en el apartado anterior, el P(MAA) es un polímero muy lábil a la temperatura desde un punto de vista estructural. Puesto que su  $T_g$  está muy próxima al primer paso de su degradación, fue necesario emplear el procedimiento indirecto de la plastificación para su determinación. Mediante este método se determinó la  $T_g$  del P(MAA) y de algunos de los copolímeros de mayor contenido molar en MAA.

El etilenglicol (EG) ha sido ampliamente empleado como un excelente plastificante, debido a que tiene una elevada presión de vapor y a su efecto solvatante sobre los polímeros hidrofílicos. La relación entre la concentración de EG y la  $T_g$  del polímero plastificado puede ser descrita de manera muy simple empleando la bien conocida ecuación de Gordon-Taylor-Wood (GTW),<sup>[25, 26]</sup>

$$T_g = \frac{W_1 \cdot T_{g1} + k \cdot W_2 \cdot T_{g2}}{W_1 + k \cdot W_2} \quad (1)$$

donde  $T_{g1}$  y  $T_{g2}$  son las temperaturas de transición vítrea y  $W_1$  y  $W_2$  son las fracciones en peso del plastificante y del polímero, respectivamente.  $k$  es una constante cuyo valor depende de los coeficientes

de expansión térmica ( $\alpha$ ) en el estado vítreo ( $\alpha_i^s$ ) y en el estado gomoso ( $\alpha_i^l$ ) y viene dado por la ecuación,

$$k = \frac{\alpha_2^l - \alpha_2^s}{\alpha_1^l - \alpha_1^s} \quad (2)$$

$k$  tiene el valor de la unidad cuando las diferencias entre los coeficientes de expansión térmica entre el estado gomoso y el estado vítreo son similares para el polímero y el plastificante. En este caso, la  $T_g$  varía linealmente con la fracción en peso de los componentes. La Ec. 1 puede ser reorganizada a una forma alternativa,

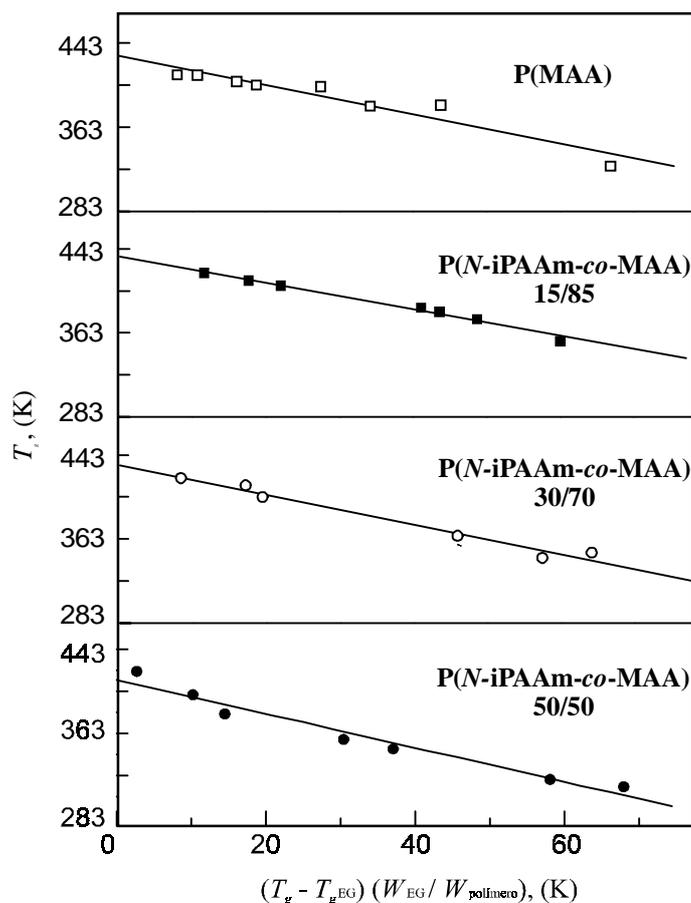
$$T_g = T_{g2} - \frac{1}{k} \cdot (T_g - T_{g1}) \cdot \left( \frac{W_1}{W_2} \right) \quad (3)$$

que es una recta de la que se puede determinar el valor de la  $T_{g2}$  ( $T_g$  del polímero) cuando la concentración de plastificante es cero. En la Fig. 5 se han representado una serie de valores de  $T_g$  frente a  $(T_g - T_{gEG}) \cdot (W_{EG} / W_{polímero})$  según la Ec. 3. De esta gráfica, suponiendo un valor de 154 K para la  $T_g$  del EG<sup>[27]</sup> se han obtenido los valores de  $T_g$  del polímero y  $k$  que se dan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Parámetros característicos de la ecuación de Gordon-Taylor-Wood para el P(MAA) y algunos de sus copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) plastificados con EG.

Copolímeros	Parámetros	
	$T_g$ , (K)	$k$
P(MAA)	431	1,39
15/85	436	1,28
30/70	434	1,52
50/50	414	1,62

Las temperaturas de transición vítrea de los xerogeles copolímeros medidas directamente y las extrapoladas, ambas determinadas empleando la técnica de DSC se presentan en la Fig. 6 en función de la composición molar de N-iPAAm, y sus valores se recogen en la Tabla 3. Los copolímeros entrecruzados muestran una única  $T_g$  lo que es indicativo de la formación de copolímeros al azar entre ambos monómeros. El valor de  $T_g$  obtenido para el homopolímero de N-iPAAm se encuentra de alrededor de 404 K que coincide con el valor encontrado por Sousa et al.<sup>[28]</sup> aunque Kuckling et al.<sup>[29, 30]</sup> encontraron un valor ligeramente superior. En la Fig. 6 se puede apreciar una gran desviación de la dependencia lineal de la  $T_g$  con la composición para todos los copolímeros estudiados. Teniendo en cuenta que todas las muestras fueron sintetizadas en las mismas condiciones de temperatura, disolvente y concentración de entrecruzante, estos cambios en la  $T_g$  del sistema pueden ser atribuidos a las interacciones polímero-polímero.



**Figura 5.** Efecto del etilenglicol (EG) en la  $T_g$  la muestra. Gráficos de la  $T_g$  de muestras plastificadas de P(MAA) y los copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) de alto contenido en MAA representados de acuerdo con la ecuación de Gordon-Taylor-Wood (Ec. 1).

Es de sobra conocido que en los sistemas de dos componentes con interacciones entre ambos muy fuertes y específicas, como es el caso de formación de complejos donador-aceptor o de puentes de hidrógeno, se producen grandes variaciones en el comportamiento de las muestras frente a la temperatura.<sup>[1-5]</sup> En general, para mezclas poliméricas, las desviaciones de un comportamiento aditivo de los dos componentes en la  $T_g$  deben ser consideradas una medida de la intensidad de las interacciones.<sup>[31, 32]</sup> En nuestro caso, la inesperada curva experimental en forma de S obtenida, podría ser interpretada en términos de interacciones hidrofílicas e hidrofóbicas. En el caso de mezclas poliméricas miscibles, el comportamiento en forma de S se ha interpretado en términos de diferentes interacciones polares.<sup>[3, 4]</sup> Efectos similares en la transición vítrea, en función de la composición se han observado, no sólo en mezclas poliméricas, sino también en copolímeros con grupos aceptores y grupos donadores de electrones.<sup>[5, 33]</sup>

Desde un punto de vista cualitativo, observando la Fig. 6, la introducción de cantidades crecientes de grupos amida aceptores de puentes de hidrógeno (N-iPAAm) en el copolímero, da lugar, en primer lugar a un ligero aumento en la rigidez, y por tanto en la transición vítrea. Posteriormente, tiene lugar una

acentuada disminución de la  $T_g$ , reflejada en la forma de la curva de  $T_g$  frente a la composición, y un tercer estadio donde la transición vítrea muestra tan sólo una ligera dependencia con la composición. Este efecto debe ser atribuido, no sólo a los cambios en la composición, sino también a una inversión de las interacciones por puentes de hidrógeno en los copolímeros.

**Tabla 3.** Temperatura de transición vítrea,  $T_g$ , de los copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) con un 0.25 % de entrecruzante en función de la composición.

Copolímeros	$T_g$ , (K)
P(N-iPAAm)	404
85/15	403
70/30	401
50/50	414
30/70	434
15/85	436
P(MAA)	431

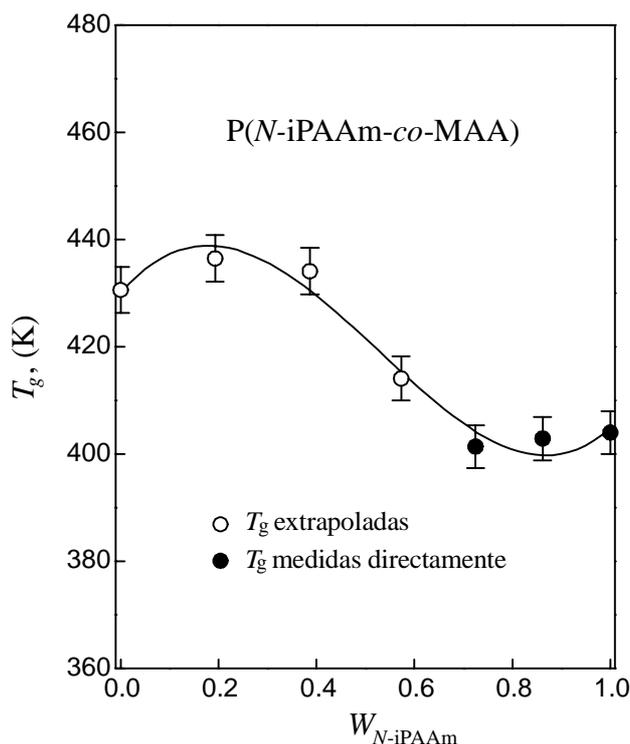
La transición vítrea en copolímeros depende de la distribución y disposición de los comonómeros. Como ya se ha mencionado, en los copolímeros al azar aparece una única  $T_g$  con un valor intermedio a las de ambos homopolímeros. La dependencia con la composición de la  $T_g$  puede ser descrita de acuerdo a la ecuación de GTW (Ec. 1) y es la contribución del término de mezcla derivado de la regla de aditividad de la entropía y/o del volumen del polímero. Se interpreta que la adición de un co-monómero de menor valor de  $T_g$  produce una plastificación interna de las cadenas. Kwei<sup>[34]</sup> llevó a cabo una modificación de la ecuación GTW que permite interpretar el comportamiento de la  $T_g$  cuando existen interacciones específicas entre ambos co-monómeros como los puentes de hidrógeno.

$$T_g = \frac{W_1 \cdot T_{g1} + k \cdot W_2 \cdot T_{g2}}{W_1 + k \cdot W_2} + q \cdot W_1 \cdot W_2 \quad (4)$$

El primer término de la izquierda es idéntico a la ecuación GTW. El término cuadrático  $q \cdot W_1 \cdot W_2$  debe ser proporcional al número de interacciones específicas existentes en la mezcla o en el copolímero, y puede ser interpretado como la contribución de los puentes de hidrógeno. Sin embargo, esta ecuación no reproduce la tendencia observada en el sistema N-iPAAm/MAA.

Recientemente Painter et al.<sup>[1]</sup> presentaron una teoría termodinámica clásica que interpreta la dependencia de la  $T_g$  con la composición para mezclas poliméricas miscibles en las que esten involucradas fuertes interacciones específicas, tales como los puentes de hidrógeno. La teoría propuesta es aplicable para el caso de mezclas poliméricas en las que uno de los componentes es capaz de autoasociarse (por ejemplo, formar puentes de hidrógeno en estado puro) mientras que el otro no (o se

autoasocia más débilmente) pero tiene grupos funcionales por lo que es capaz de unirse fuertemente a los segmentos del primer componente. Esto es exactamente lo que sucede en el caso de los copolímeros y las redes interpenetradas de *N*-iPAAm y MAA. El P(MAA) es capaz de autoasociarse por puentes de hidrógeno formando dímeros de diferente estabilidad. Por otro lado, la P(*N*-iPAAm) también es capaz de autoasociarse, pero no forma dímeros, y estas uniones son más débiles. En el caso de los copolímeros y las redes interpenetradas ambos monómeros son capaces de formar asociaciones muy estables en las que están implicados tanto los puentes de hidrógeno, como interacciones hidrofóbicas.



**Figura 6.** Representación de las temperaturas de transición vítrea,  $T_g$ , del P(MAA), la P(*N*-iPAAm) y sus copolímeros en función de la fracción en peso de *N*-iPAAm.

Continuando con la interpretación de Painter et al.<sup>[1]</sup> para la dependencia de la  $T_g$  con la composición, estos autores han desglosado la ecuación de la que deriva la  $T_g$  del sistema en tres términos: un componente de interacción no específico, un término de calor de mezcla en estado líquido y un tercer término que tiene en cuenta la dependencia térmica del calor específico que es debida a la autoasociación. El primer término se asume que no depende de la temperatura. La  $q$  debida a las interacciones específicas de la Ec. 4 puede cambiar de signo en mezclas con los mismos componentes, ya que no sólo refleja la fuerza de las interacciones específicas, sino que depende del balance entre autoasociaciones y asociaciones entre los dos componentes por lo que,

$$q = q'_1(W) + q'_2(T) \quad (5)$$

donde  $q'_1(W)$  es un término dependiente de la composición que depende del balance de interacciones (autoasociación vs interasociación) en el sistema, mientras que  $q'_2(T)$  representa la contribución de la dependencia con la temperatura del calor específico del componente de autoasociación. De esta forma, resulta una expresión más general de la ecuación de Kwei (Ec. 4) de la siguiente forma,

$$T_g = \frac{W_1 \cdot T_{g1} + k \cdot W_2 \cdot T_{g2}}{W_1 + k \cdot W_2} + W_1 \cdot W_2 \cdot [q'_1(W) + q'_2(T)] \quad (6)$$

Empleando la Ec. 6, Painter et al.<sup>[1]</sup> han determinado experimentalmente las fracciones de especies unidas por puentes de hidrógeno, así como las entalpías de formación de puentes de hidrógeno que definen la variación de estas cantidades con la temperatura. Otro hecho muy importante que estos autores<sup>[1]</sup> ponen de manifiesto es que cuando los términos entálpicos son de signo opuesto y asimétricos en su dependencia con la composición, sería posible obtener curvas no comunes en forma de S para la  $T_g$ . Esta aproximación podría ser empleada para interpretar las temperaturas de transición vítrea obtenidas en el caso de los copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA). Desafortunadamente, no conocemos los valores de las constantes de equilibrio ni otros parámetros necesarios para hacer estas predicciones en nuestros sistemas, por lo que fué necesario emplear otros modelos que también tuvieran en cuenta el efecto de las interacciones entre los componentes de los sistemas.

Schneider et al.<sup>[35]</sup> han propuesto otra aproximación en la que emplean una extensión de la ecuación GTW (1) para curvas asimétricas de  $T_g$  frente a composición causadas por interacciones específicas entre las unidades comonoméricas. La expresión adopta la forma,

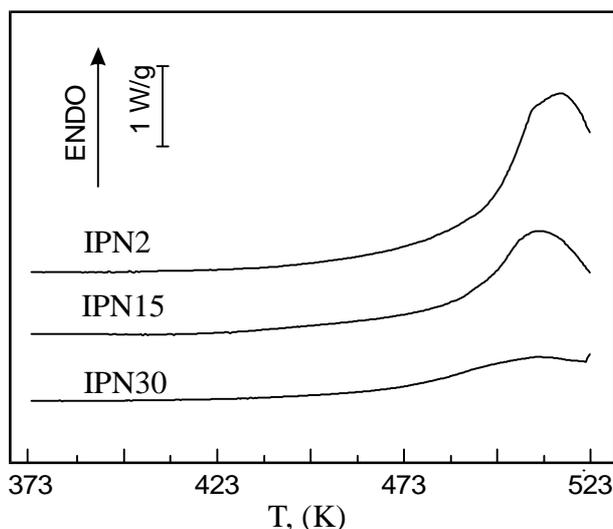
$$T_g = \frac{(W_1 \cdot T_{g1} + k \cdot W_2 \cdot T_{g2})}{W_1 + k \cdot W_2} + \frac{k \cdot (k_1 + k_2) \cdot W_1 \cdot W_2}{(W_1 + k \cdot W_2)^2} + \frac{k^2 \cdot (k_2 - k_3) \cdot W_1 \cdot W_2^2}{(W_1 + k \cdot W_2)^3} \quad (7)$$

El primer término representa la contribución debida a la ecuación GTW (Ec. 1).<sup>[25, 26]</sup> El segundo y el tercer término representan una extensión empleada para la contribución de las diadas y las triadas, donde  $k_1$  caracteriza la contribución de las heterodiadas a la  $T_g$  y  $k_2$  y  $k_3$  de las respectivas heterotriadas conteniendo dos unidades repetitivas del primer componente o del segundo componente respectivamente.

Esta ecuación nos permite ajustar los datos experimentales y obtener los valores de estos parámetros por un método iterativo. Con el procedimiento de mejor ajuste para los datos experimentales obtenidos según la Ec. 7, para  $T_{g1} = 405$  K,  $T_{g2} = 430$  K, los valores obtenidos para los parámetros ajustables son :  $k = 1.1$ ,  $k_1+k_2 = -101.1$  y  $k_2-k_3 = 203.9$ . La línea continua de la Fig. 6 ha sido trazada empleando estos parámetros. A pesar de que el acuerdo con los datos experimentales es bueno, estos valores deben considerarse tan sólo orientativos, debido al escaso número de puntos empleados para el ajuste, que por otra parte viene condicionado por las grandes dificultades que presenta la determinación de la  $T_g$  en estos sistemas.

### 3.3.2.2. TRANSICIÓN VÍTREA EN LAS REDES INTERPENETRADAS

La Fig. 7 muestra una serie de curvas de DSC en la región de 373 a 523 K para una serie de redes interpenetradas secuenciales. Si observamos la Tabla 3 se aprecia que la  $T_g$  más alta corresponde al copolímero con un 15 % molar de *N*-iPAAm y es de 436 K. Observando la Fig. 7 se puede deducir que como mínimo las  $T_g$  de las IPN son mayores que la del copolímero de  $T_g$  más alta y que tampoco aparece ningún indicio de la  $T_g$  de la P(*N*-iPAAm), lo que se puede interpretar como la formación de una verdadera red interpenetrada. A temperaturas mucho más elevadas tiene lugar un pico endotérmico, que está relacionado con la cantidad de MAA en la muestra. La entalpía involucrada en el proceso se incrementa al aumentar el contenido molar de MAA en la red interpenetrada. Se ha supuesto que este pico se debe a que el polímero empieza a descarboxilarse antes de alcanzar la  $T_g$ . Se ha observado que para los complejos poliméricos los valores de  $T_g$  son muy superiores a los de la mezcla. Estos altos valores han sido atribuidos a los enlaces por puentes de hidrógeno entre cadenas que actúan como promotores de un entrecruzamiento físico. Por factores configuracionales y de simetría parece claro que en las redes interpenetradas, la formación de puentes de hidrógeno entre la amida de la *N*-iPAAm y el ácido carboxílico del MAA está menos impedida que en el caso de los copolímeros, lo que justificaría los valores de  $T_g$  más elevados.



**Figura 7.** DSCgramas en la región de 373 a 523 K para muestras de IPNs P(MAA)/P(*N*-iPAAm). El número indica el % molar de *N*-iPAAm en la IPN.

### 3.3.3. INTERACCIONES ENTRE LOS HIDROGELES Y EL AGUA

#### 3.3.3.1. ESTADO DEL AGUA EN LOS HIDROGELES.

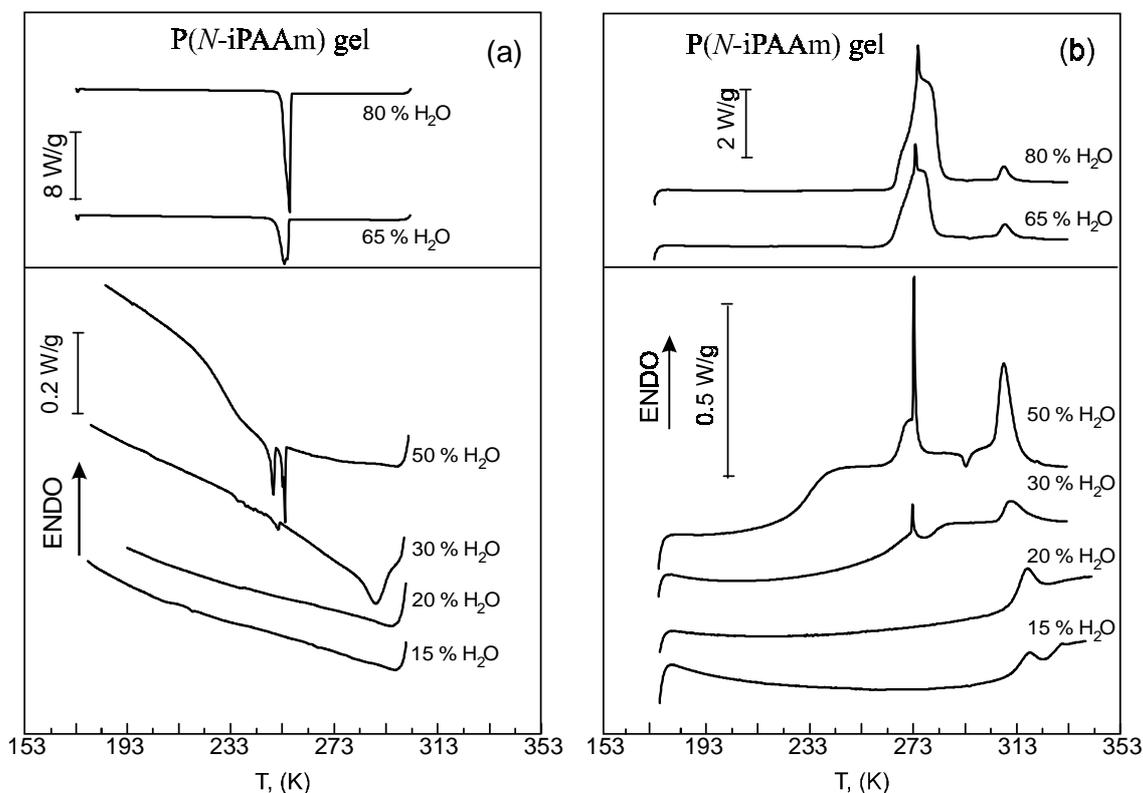
Con el aumento del uso de hidrogeles para aplicaciones en las que se emplean las propiedades difusivas del agua que contienen, se hace evidente la importancia de entender como el polímero afecta al comportamiento y la movilidad del agua que se encuentra en su interior. Sin embargo, como se recoge de

los datos encontrados en la literatura y sugeridos por diversos autores, todavía no existe una visión clara y precisa. Todo ello a pesar de las numerosas técnicas que se han empleado para su análisis, como espectroscopía dieléctrica, rayos X, dispersión de neutrones, DSC o RMN. En este apartado llevaremos a cabo un estudio del estado y la movilidad del agua en el interior de los hidrogeles preparados empleando la técnica de DSC.

En las partes (a) y (b) de la Fig. 8 se presentan los complejos DSCgramas de enfriamiento y calentamiento, respectivamente, obtenidos para una serie de geles de P(N-iPAAm) hinchados con la proporción de agua que se indica. Como puede apreciarse muy claramente en el caso de las curvas de calentamiento, en la región de fusión del agua aparecen múltiples endotermas. Estudios anteriores<sup>[7-12]</sup> en muestras de hidrogeles poliméricos hinchados en agua también han puesto de manifiesto la presencia de múltiples endotermas en la región del agua. Ésto ha sido interpretado por la existencia de distintos tipos de agua: (i) un agua libre o agua no unida, que funde a la temperatura normal, (ii) un agua intermedia o agua cristalizable, que funde a temperaturas inferiores a las normales y (iii) agua no cristalizable o agua unida. Estudios mas profundos<sup>[36]</sup> sugirieron hasta cuatro tipos diferentes de agua que van desde el agua unida más fuertemente, hasta el agua libre o agua en estado de bloque. Stillinger<sup>[37]</sup> señaló que las modificaciones en las transiciones de fase del agua son el resultado de efectos de tamaño finitos. La presencia de límites e interfases debidos a la estructura tridimensional del polímero hace que físicamente se reduzca el número de grados de libertad y se interrumpa el orden natural del agua en estado de bloque.

Rault et al.<sup>[38, 39]</sup> estudiaron el comportamiento térmico de una serie de hidrogeles, interpretando sus transiciones térmicas dentro un marco termodinámico simple basado en el diagrama de fases evitando de esta forma la hipótesis de distintos tipos de agua. Esta interpretación<sup>[38, 39]</sup> supone la presencia de tres regímenes de concentración de agua que originan los diferentes termogramas observados. El comportamiento termico del agua en un hidrogel puede explicarse según Rault et al.<sup>[38, 39]</sup> en base a: (i) una depresión de la temperatura de fusión del agua, (ii) la cristalización en el ciclo de calentamiento (incluso cuando estaba ausente en el enfriamiento); (iii) la existencia de una fracción de agua que no es capaz de cristalizar. En nuestro caso también se pueden apreciar los tres regímenes propuestos por Rault et al.<sup>[38, 39]</sup> En la primera región, el agua no cristaliza y tan sólo se observa una disminución en el valor de la  $T_g$  del polímero al aumentar el contenido de agua en el sistema. Este régimen corresponde a la P(N-iPAAm) hinchada un 15, 20 y 30 % (p/p) en agua. Rault et al.<sup>[38, 39]</sup> postularon que el origen de esta agua no cristalizable no se debe a la unión del agua al polímero, sino que es el estado vítreo del sistema agua-polímero que se alcanza previamente a la temperatura de cristalización del agua ( $T_g > T_c$ ). Desde nuestro punto de vista, este argumento no es totalmente correcto ya que la disminución de la  $T_g$  del polímero es debida al efecto de plastificación del agua. Esta plastificación requiere la existencia de interacciones específicas entre el polímero y el plastificante dando lugar a la denominada “agua unida”. Sin embargo, también hemos apreciado que la cantidad de agua no cristalizable o unida desciende al aumentar el grado de hinchamiento del gel. Por ejemplo, la relación  $m_{\text{agua unida}} / m_{\text{polímero}}$ , desciende de un 0.96, para el gel hinchado en agua un 50 % (p/p), a 0.55 para el gel hinchado un 80 % (p/p), lo que sugiere que en este

régimen no toda el agua que no cristaliza está unida a las cadenas poliméricas, como habían sugerido Rault et al.<sup>[38, 39]</sup>

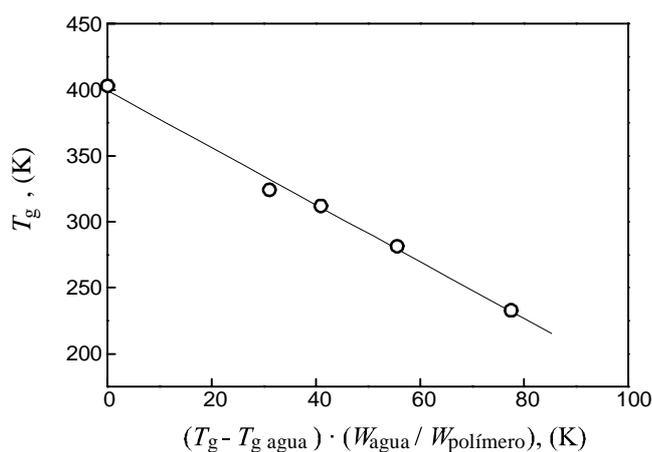


**Figura 8.** DSCgramas de hidrogeles de P(N-iPAAm) con diferentes contenidos (p/p) de agua. (a) Enfriamiento a  $R_C = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  y (b) calentamiento a  $R_H = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ .

En el segundo régimen, tan sólo se aprecia un ligero descenso en la temperatura de cristalización pero, al contrario de lo que sugerían Rault et al.<sup>[38, 39]</sup> no se ha observado ninguna dependencia de la temperatura de fusión del agua ( $T_m$ ) con la concentración. En el tercer régimen tiene lugar una regularización de la  $T_g$ , que no parece depender de la composición. Esto quiere decir que para grandes cantidades de agua cristalizable, no es posible detectar la  $T_g$ , y tan sólo se aprecia un cambio en la línea base (capacidad calorífica) posterior a la fusión del agua. Para analizar el efecto de plastificante del agua en la P(N-iPAAm) se ha aplicado la ecuación de GTW<sup>[25, 26]</sup> (Ec. 1), considerando un valor de  $136 \pm 1 \text{ K}$  para la transición vítrea del agua.<sup>[40]</sup> Los resultados obtenidos en este análisis se muestran en la Fig. 9, en la que se observa que la representación de los valores experimentales de  $T_g$  frente a  $(T_g - T_{g \text{ agua}}) \cdot (W_{\text{agua}}/W_{\text{pol}})$  que da lugar a una línea recta. A efectos comparativos se ha representado la  $T_g$  de la P(N-iPAAm) sin plastificar. De este análisis se puede concluir que el agua se comporta como un plastificante típico.

Resulta interesante comparar el estado del agua en los hidrogeles en función de la composición química del polímero. Las partes (a) y (b) de la Fig. 10 muestran los DSCgramas para muestras hinchadas al 50 % en agua de geles de P(N-iPAAm), P(MAA) y algunos de sus copolímeros junto con la IPN30 con

un 30 % molar de *N*-iPAAm en la región de 173 a 333 K, medidas a una velocidad nominal de 10 K·min<sup>-1</sup> para los ciclos de enfriamiento y calentamiento respectivamente. El pico agudo que aparece en todos los termogramas alrededor de 273 K, debe corresponder al agua segregada del gel durante el proceso de enfriamiento, dado que este pico aumenta con los ciclos sucesivos de enfriamiento y calentamiento. Rault et al.<sup>[38]</sup> también observaron esta endoterma independientemente del contenido en agua, que atribuyeron a la fusión de una pequeña fracción de agua en forma de agregados en los amplios espacios que dejan las heterogeneidades de la red.

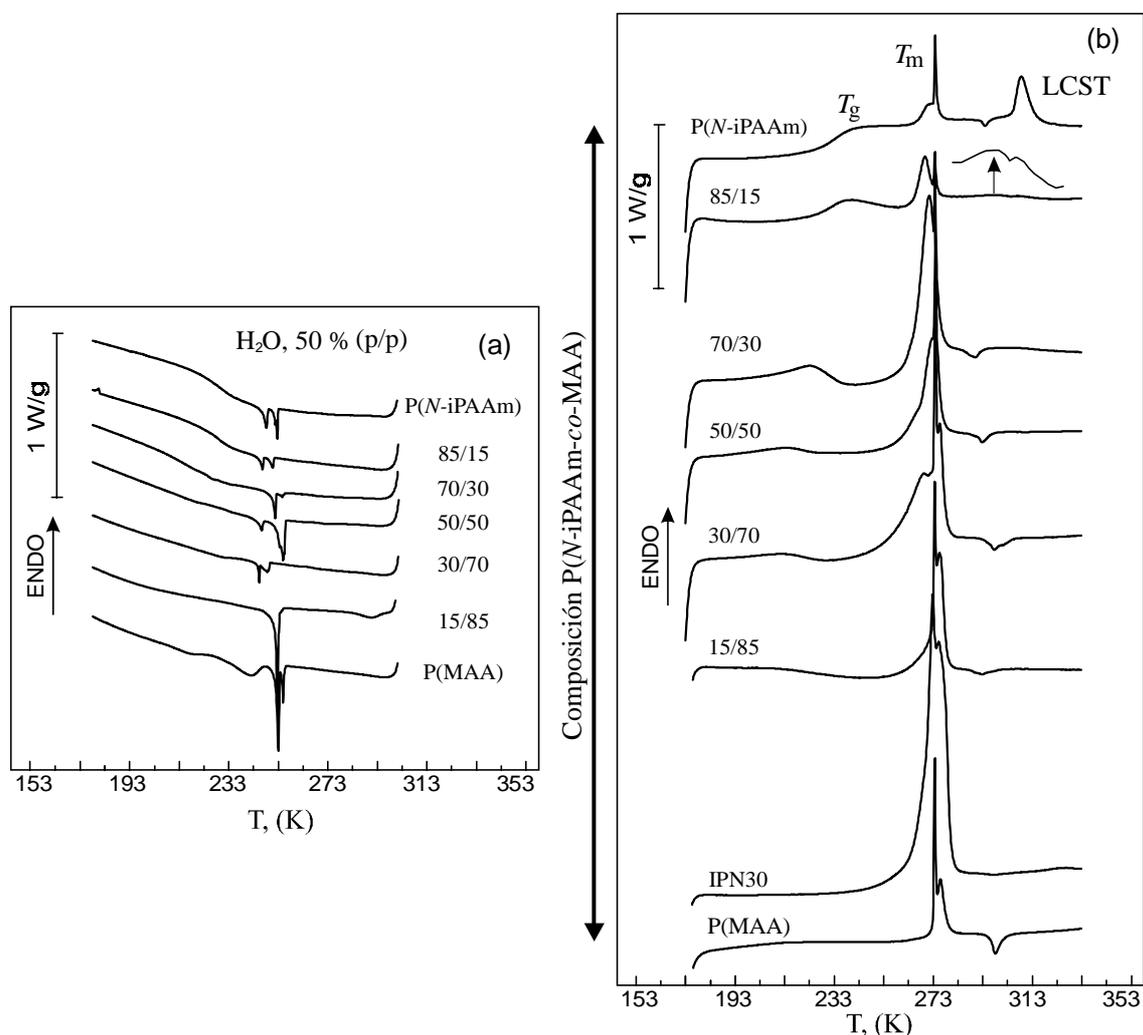


**Figura 9.** Efecto de la concentración del agua en la  $T_g$  de un gel de *P(N-iPAAm)* de acuerdo a la ecuación de Gordon-Taylor-Wood (Ec. 1).

Como se observó anteriormente, en la curva correspondiente al homopolímero de *P(N-iPAAm)* aparece una endoterma por debajo de la temperatura de fusión del agua pura, que podría corresponder a la denominada agua intermedia. Este pico aparece claramente en los copolímeros con un contenido molar de *N*-iPAAm de un 85 y un 70 %. Para el copolímero con un 50 % molar de *P(NiPAAm)*, la endoterma se ensancha, y se divide claramente en dos para el gel con un 30 % molar de *N*-iPAAm, uno a temperatura inferior a la  $T_m$  del agua pura, y otro a temperatura superior. Al disminuir el contenido de *N*-iPAAm el pico de la izquierda disminuye, y el pico a mayor temperatura se transforma en la principal endoterma para el gel con un 15 % molar en *N*-iPAAm. El pico de la izquierda no aparece en el homopolímero de *P(MAA)*. Este hecho puede sugerir o que no hay un agua intermedia para este gel o que este pico está relacionado con la presencia de las unidades estructurales de *N*-iPAAm en el gel.

En las curvas mostradas en la Fig. 10 (b), puede apreciarse la transición vítrea ( $T_g$ ) para algunos de los geles. En el caso particular de la *P(N-iPAAm)*, tiene lugar alrededor de 230-235 K. En los copolímeros también aparece alrededor de esta temperatura, como se puede observar más claramente en las curvas de enfriamiento mostradas en la Fig. 10 (a) En el calentamiento tiene lugar una cristalización fría después de la  $T_g$ , que oscurece el proceso. La entalpía de cristalización es considerablemente mayor que la entalpía de fusión. Este hecho también indica que el descenso en la línea base anterior a la

endoterma de fusión es debido a la cristalización no isoterma del agua en el calentamiento. Efectos similares de subenfriamiento han sido descritos anteriormente en la literatura.<sup>[38, 39]</sup>

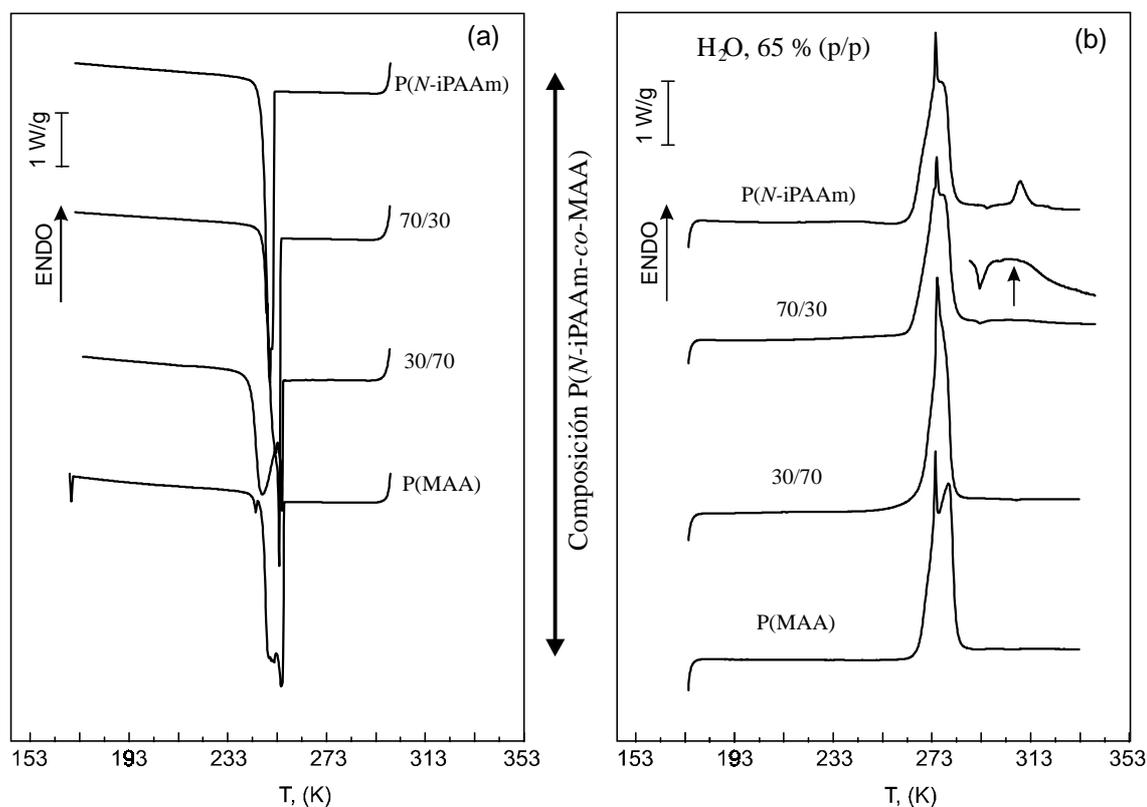


**Figura 10.** DSCgramas de los hidrogeles de P(N-iPAAm), P(MAA), sus copolímeros y la IPN30, con un 30 % molar de N-iPAAm, hinchados un 50 % (p/p) en agua: (a) Enfriamiento  $R_C = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  y (b) calentamiento  $R_H = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Se puede estimar la cantidad de agua unida en la muestra a partir de la diferencia entre la cantidad total de agua y el agua cristalizable, determinada en el área del pico de fusión empleando el calor de fusión del agua pura ( $79.6 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Como señalaron Quinn et al.<sup>[41]</sup> este método no es totalmente correcto, puesto que el calor de fusión del agua cristalizable no es constante. La entalpía de fusión representa un límite superior que da lugar a una sobrestimación de la cantidad de agua no cristalizable del hidrogel. En la Tabla 4 se presenta el porcentaje de agua unida con respecto a la cantidad de polímero para una serie de geles hinchados con un contenido de agua de un 50 y un 65 % (p/p). Se puede apreciar como la cantidad de agua unida depende del grado de hinchamiento de los hidrogeles. El agua unida corresponde aproximadamente al 40-50 % del polímero seco para los geles con menor grado de hinchamiento.

En la Fig. 10 también se muestra el DSCgrama correspondiente a una red interpenetrada P(MAA)/P(*N*-iPAAm) con un 30 % molar de *N*-iPAAm hinchada en agua un 50 % (p/p). Como se puede apreciar en la Tabla 2, la cantidad de agua unida para esta muestra es menor que para el correspondiente copolímero de composición similar. Como se observa en la Fig 9, igual que sucedía en los copolímeros de mayor contenido en MAA, la IPN con un 30 % molar de *N*-iPAAm tiene una cantidad considerable de agua libre.

En la Fig. 11 se muestran los DSCgramas obtenidos para ambos homopolímeros, y algunos de sus copolímeros hinchados en agua un 65 % (p/p). En todos los casos, la principal endoterma es la que aparece a mayor temperatura. Puesto que el contenido de agua cristalizable aumenta al aumentar el grado de hinchamiento del copolímero, este pico debe ser considerado como correspondiente al agua libre cristalizable. Los copolímeros con un contenido mayor de *N*-iPAAm muestran una endoterma a baja temperatura correspondiente al agua intermedia. Por el contrario, los copolímeros con mayor contenido en MAA, muestran una mayor cantidad de agua libre para concentraciones de agua total similares. El cambio en la línea base posterior a la  $T_g$  es más visible en el caso de los geles basados fundamentalmente en *N*-iPAAm. Para los geles con mayor contenido en MAA, más rígidos, el límite de concentración para el que el agua libre domina las curvas se alcanza a una menor concentración de agua.



**Figura 11.** DSCgramas de los hidrogeles de P(*N*-iPAAm), P(MAA) y sus copolímeros hinchados un 65 % (p/p) en agua. (a) Enfriamiento  $R_C = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  y (b) calentamiento  $R_H = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ .

**Tabla 4.** Relación  $m_{\text{agua libre}} / m_{\text{polímero}}$  para hidrogeles de P(N-iPAAm), P(MAA), sus copolímeros y la IPN 30 con un 30 % molar de N-iPAAm hinchados con un 50 y un 65 % (p/p) de agua.

Muestra	$m_{\text{agua libre}} / m_{\text{polímero}}$	
	50 % (p/p) H <sub>2</sub> O	65 % (p/p) H <sub>2</sub> O
Copolímeros		
P(N-iPAAm)	0.96	0.77
85/15	0.94	-
70/30	0.74	0.64
50/50	0.79	-
30/70	0.70	0.72
15/85	0.93	-
P(MAA)	0.84	0.52
IPN30	0.45	-

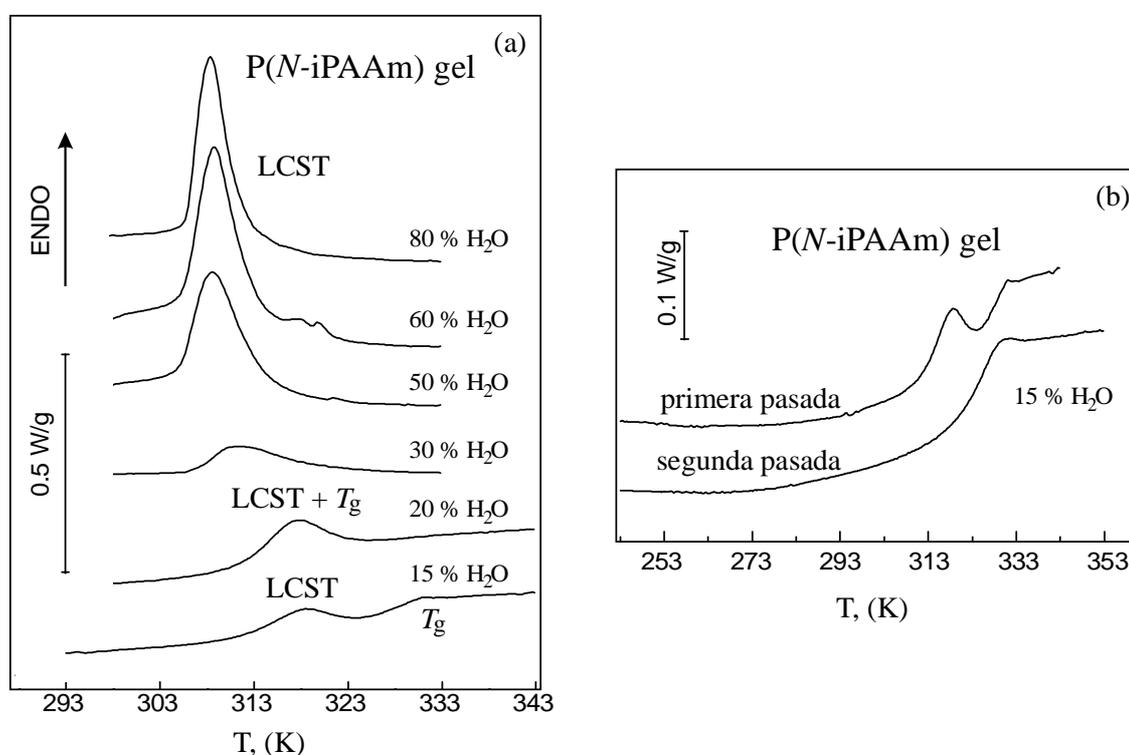
### 3.3.3.2. TEMPERATURA INFERIOR CRÍTICA DE HINCHAMIENTO

Una característica importante de los geles de N-iPAAm es que presentan una transición volumétrica con una LCST de aproximadamente 34°C. Esta transición es un colapso inducido por la temperatura desde un estado de ovillo estadístico perturbado a un glóbulo, que macroscópicamente da lugar a una repentina a deshidratación del polímero cuando se aumenta la temperatura por encima de la LCST. En algunas ocasiones ha sido definida también como una temperatura  $\theta$  ó transición de desmezcla.<sup>[15]</sup> Su origen ha sido interpretado por el balance de grupos laterales hidrofóbicos/hidrofílicos en las cadenas poliméricas.

La P(N-iPAAm) presenta una parte hidrofílica (amida) y otra hidrofóbica (isopropilo) en su cadena lateral. El comportamiento de este tipo de solutos en medio acuoso resulta de las orientaciones específicas requeridas para la formación de puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, que se encuentran, de alguna forma, ordenadas.<sup>[42]</sup> El polímero se hace soluble mediante la formación de puentes de hidrógeno entre el agua y los grupos amida laterales. Esta es la causa principal del hinchamiento y da lugar a una entalpía de mezcla negativa.<sup>[20]</sup> Las moléculas de agua, atrapadas mediante estos enlaces, tienen que reordenarse (formando una estructura parecida a la del agua congelada) alrededor de las regiones no polares del soluto, siendo incapaces de formar puentes de hidrógeno con ellos. Es lo que se ha denominado efecto hidrofóbico,<sup>[43]</sup> que da lugar a la entropía de mezcla negativa. La LCST se ha interpretado como la ruptura de la estructura ordenada de las moléculas de agua que rodean a los grupos isopropilo hidrofóbicos. Al aumentar la temperatura, cuando el término entrópico domina sobre el entálpico, tiene lugar la separación de fases. Con el aumento de la temperatura tiene lugar la fusión del agua congelada alrededor de las regiones no polares del soluto lo que permite a los grupos hidrofóbicos aproximarse dando lugar a las denominadas interacciones hidrofóbicas.<sup>[42]</sup> Algunos autores<sup>[44]</sup> mencionan

la posibilidad de que los puentes de hidrógeno, tanto polímero-polímero como polímero agua se encuentren también implicados en la transición. En su revisión sobre la P(*N*-iPAAm) Schild<sup>[20]</sup> señala que ambos efectos no son independientes y pueden influir en los resultados. Resulta muy interesante el estudio de esta transición térmica empleando la técnica de DSC, en la que se observa como una absorción de calor<sup>[15, 45, 46]</sup> cuyos valores de entalpía son típicos de interacciones por puentes de hidrógeno.<sup>[15, 46]</sup> Además Grinberg et al.<sup>[47, 48]</sup> estudiaron el proceso empleando la técnica de microcalorimetría de alta sensibilidad y apreciaron un ligero descenso en la capacidad calorífica del polímero después de la transición. Esto fue atribuido a una disminución en la accesibilidad del disolvente a parte de los residuos hidrofóbicos como consecuencia de la transición.<sup>[48]</sup> Sin embargo, puesto que la entalpía de disociación implicada en el proceso es lo suficientemente elevada como para poder ser detectada con un DSC convencional, este aparato fue empleado en nuestro trabajo para la determinación del efecto de ciertos factores sobre la LCST.

En primer lugar mostraremos la influencia de la concentración de agua en la LCST de hidrogeles de *N*-iPAAm. En la Fig. 12 (a) se muestra una ampliación de la zona de la LCST para las curvas de DSC mostradas en la Fig. 8 (b). El salto del pico endotérmico corresponde a la temperatura de colapso.<sup>[14]</sup> El valor de LCST así obtenido para los geles de P(*N*-iPAAm) está de acuerdo con los encontrados por otros autores.<sup>[13, 16, 20, 49]</sup>

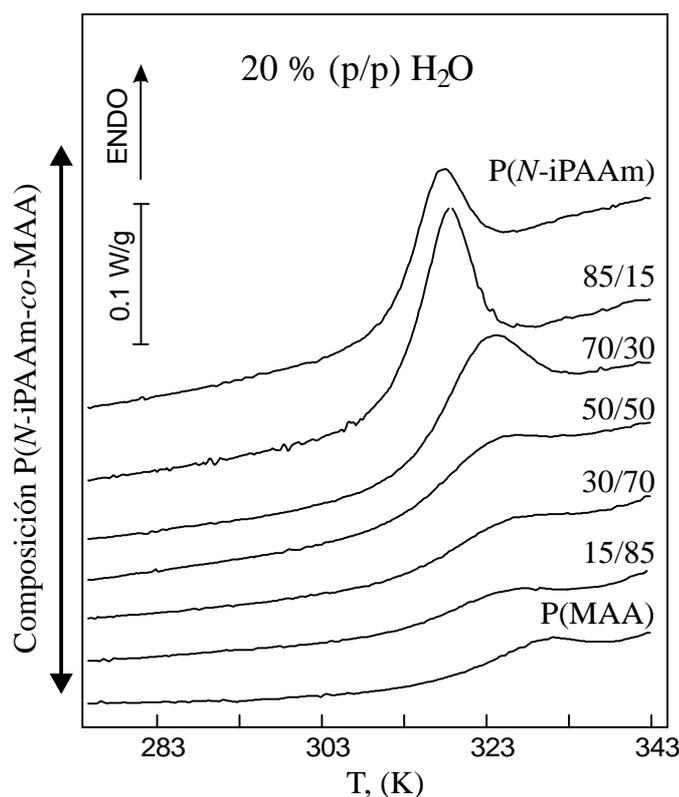


**Figura 12.** DSCgramas de una serie de geles de P(*N*-iPAAm) con diferentes concentraciones (% (p/p)) de agua, y obtenidas con una velocidad de calentamiento de  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ : (a) Efecto del contenido de agua en la transición LCST y en la transición vítrea. (b) Efecto de la historia térmica en un gel con un 15 % (p/p) de agua.

Según Shibayama et al.<sup>[45]</sup> la entalpía de disociación para las interacciones hidrofóbicas depende de la concentración de polímero, sin embargo no hemos sido capaces de encontrar referencias en la literatura que describan una dependencia de esta LCST con la concentración de polímero. En la Fig. 12 (a) se aprecia claramente como el máximo de la LCST permanece constante para altos grados de hinchamiento, pero se desplaza a temperaturas más elevadas cuando la concentración de agua en el gel es inferior al 50 % (p/p). Para el gel con un contenido en agua del 20 % (p/p), la  $T_g$  prácticamente se solapa con con la transición LCST. Puesto que el agua actúa como un plastificante, al disminuir el contenido de agua aun más, es decir al 15 % (p/p), la  $T_g$  aparece a temperaturas más elevadas. Como se describió en la metodología experimental, estas muestras se dejaron equilibrar durante 24 horas a temperatura ambiente previamente a ser estudiadas por DSC. En la Fig. 12 (b) se observa que cuando el gel con un 15 % de agua es sometido inmediatamente a un segundo calentamiento, la endoterma correspondiente a la LCST no aparece. Resulta evidente que la muestra en estado vítreo necesita un periodo prolongado para recuperar su conformación original. Estos hechos nos indican que en el régimen de bajas concentraciones de agua, en el que la  $T_g$  no es constante, el valor de la LCST también depende de la concentración de agua, debido a que el gel necesita cierta movilidad para que pueda tener lugar el proceso.

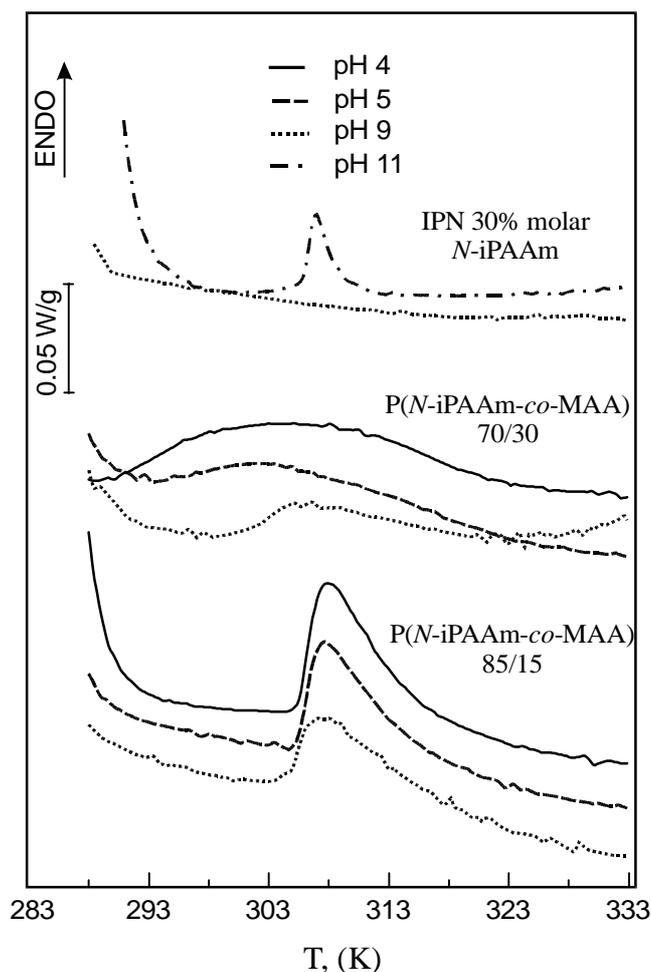
Para estudiar el efecto de la adición de MAA como co-monómero en la red de *N*-iPAAm, en la Fig. 13 se muestra la ampliación de la zona de la LCST de las curvas de DSC de muestras de P(MAA), P(*N*-iPAAm) y sus copolímeros con un contenido de agua del 20 % (p/p). La Fig. 13 nos permite apreciar que la  $T_g$  no muestra una fuerte dependencia con la composición. Asociado a la  $T_g$  aparece un pico exotérmico, que en el caso de la P(*N*-iPAAm) pura se ha atribuido a la LCST. Este pico disminuye en intensidad al aumentar el contenido en la unidad comonomérica de MAA, lo que nos indica que está relacionado con la presencia de la *N*-iPAAm y probablemente con la LCST.

La adición de co-monómeros hidrofóbicos tiende a disminuir el valor de la LCST<sup>[14, 15, 18, 45, 49]</sup> y, por el contrario, la adición de monómeros hidrofílicos al gel de P(*N*-iPAAm) debe aumentar su valor.<sup>[13-18]</sup> Mediante RMN y en los estudios de hinchamiento, la termosensibilidad de los copolímeros de P(*N*-iPAAm-co-MAA) no permanece en todo el intervalo de composiciones, de forma que el gel pierde su respuesta térmica debido al incremento del balance hidrofílico. Se ha interpretado que los co-monómeros hidrofílicos impiden la deshidratación de las cadenas poliméricas y tiende a expandir la estructura colapsada. Específicamente, los comonómeros ionizables presentaran este efecto de manera aun más pronunciada dependiendo del pH, debido a que los grupos cargados son aun más hidrofílicos. Chen et al.<sup>[19]</sup> describieron como la adición de unidades del ácido acrílico (AA) tiende a aumentar la LCST de los copolímeros de P(*N*-iPAAm-co-AA), debido a que los grupos  $-\text{COO}^-$  ionizados son suficientemente solubles para contrarrestar la agregación de las unidades hidrofóbicas sensibles a la temperatura. Además, la repulsión de los grupos  $-\text{COO}^-$ , así como la formación de complejos entre los grupos amida en la *N*-iPAAm y los grupos carboxílicos en el MAA puede afectar al colapso inducido por las unidades de *N*-iPAAm aumentando la LCST.



**Figura 13.** DSCgramas de una serie de hidrogeles homopolímeros de  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$  y  $P(\text{MAA})$  y algunos de sus copolímeros,  $R_H = 10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Para investigar la influencia del pH en la LCST mediante DSC, las muestras secas se hincharon en disoluciones de pH 4, 5, 9 y 11 con un grado de hinchamiento  $Q=10$  ( $Q=\text{peso seco/peso hinchado}$ ) y fueron sometidas a la misma historia térmica de los estudios anteriores. Los resultados obtenidos para la IPN30 con un 30 % molar de  $N\text{-}i\text{PAAm}$  y los copolímeros con un 70 % y un 85 % molar de  $N\text{-}i\text{PAAm}$  se muestran en la Fig. 14. Tan sólo los copolímeros de alto contenido en  $N\text{-}i\text{PAAm}$  y las IPNs a pH muy básico muestran la transición y en todos los casos la endoterma aparece a la misma temperatura que en el homopolímero de  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$ . La forma de la endoterma en el de un 85 % molar de  $N\text{-}i\text{PAAm}$  es muy similar a la del homopolímero, sin embargo, para el de un 70 % la endoterma es considerablemente más ancha. Cuando se aumenta el pH no se aprecia ni la desaparición de la transición, ni un cambio en su temperatura, pero sí una disminución en el área de la endoterma. La protonación de los grupos carboxilato a pHs ácidos dará lugar a una disminución en la hidrofilia y una menor repulsión que favorece el acercamiento de los grupos hidrofóbicos y por tanto la transición. Por el contrario, en el caso de las IPNs a pH ácido la asociación entre sitios complementarios de las redes independientes, da lugar a complejos de carácter hidrofóbico que disminuyen la habilidad del gel para hincharse en agua, y la red independiente de  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$  pierde su transición LCST. Estos complejos se rompen cuando aumenta el pH del medio, permitiendo a las redes independientes recuperar sus características originales de termosensibilidad.



**Figura 14.** DSCgramas de una serie de hidrogeles homopolímeros de  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$  y  $P(\text{MAA})$  y algunos de sus copolímeros, obtenidos con una velocidad de calentamiento de  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Como se verá más adelante, por RMN y en los estudios de hinchamiento no es posible detectar la transición a pHs elevados, en los que el ácido carboxílico del MAA se encuentra ionizado, ni siquiera en los copolímeros de mayor contenido en  $N\text{-}i\text{PAAm}$ . Sin embargo en condiciones ácidas (por debajo del  $\text{pK}_a$  del MAA), tiene lugar el colapso termodependiente a la LCST. Estas discrepancias entre los experimentos de DSC, RMN e hinchamiento indican la existencia de macro y microtransiciones, como sugirieron Shibayama et al.<sup>[15, 45]</sup> para los copolímeros  $P(N\text{-}i\text{PAAm}\text{-}co\text{-}AA)$ . Estos autores<sup>[50]</sup> proponen que las diferencias encontradas para el valor de la LCST dependiendo del método empleado en su determinación se deben a la diferente definición que el valor tiene en cada caso. Empleando la técnica de difracción de luz dinámica (Dynamic Light Scattering) para el estudio de geles ionizados de bajo contenido en AA, demostraron que por encima de la LCST la red polimérica se vuelve heterogénea y aparecen fases ricas y pobres en polímero.<sup>[50]</sup> Esto es debido a las interacciones antagónicas entre la zona hidrofóbica colapsada, y por tanto rica en polímero y la zona hidrofílica expandida debido a la existencia de cargas. La LCST determinada por DSC corresponde al inicio de la separación de estas fases, ya que la

endoterma se relaciona con el inicio de las interacciones de la fase hidrofóbica.<sup>[50]</sup> Los residuos de *N*-iPAAm empiezan a colapsarse a la misma temperatura, lo que explica la detección de la misma LCST en todas las condiciones en nuestro estudio de DSC. Por el contrario las medidas obtenidas por RMN, o en los estudios de hinchamiento, corresponden a la transición volumétrica macroscópica, resultado de la competencia entre la tendencia de los residuos de *N*-iPAAm a colapsar y los residuos ionizados a expandir.<sup>[50]</sup> Esto explica los valores más altos de temperatura a los que tiene lugar la transición macroscópica obtenidos por otros autores para este tipo de sistemas<sup>[13-18]</sup> y la no aparición de esta transición a pH básico ni en el hinchamiento ni por RMN en nuestros sistemas a las temperaturas estudiadas, debido a la gran cantidad de residuos ionizados incorporados a la red de *N*-iPAAm.

### 3.4. BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] P. C. Painter, J. F. Graf, M. M. Coleman, *Macromolecules*, **1991**, *24*, 5630.
- [2] H. A. Schneider, J. Rieger, E. Penzel, *Polymer*, **1997**, *38*, 1323.
- [3] J. Y. Chang, J. L. Hong, *Polymer*, **1998**, *39*, 7119.
- [4] S. Zheng, Q. Guo, Y. Mi., *J. Polym. Sci., Part B: Polym Phys*, **1998**, *36*, 2291.
- [5] U. Epple, H. A. Schneider, *Thermochimica Acta*, **1990**, *160*, 103.
- [6] G. Staikos, G. Boikas, K. Karayanni, *Polym. Int.*, **1996**, *41*, 345.
- [7] P. H. Corkhill, A. M. Jolly, C. O. Ng, B. J. Tighe, *Polymer*, **1987**, *28*, 1758.
- [8] A. Barnes, P. H. Corkhill, B. J. Tighe, *Polymer*, **1988**, *29*, 2191.
- [9] F. X. Quinn, E. Kampff, G. Smyth, V. J. McBrierty, *Macromolecules*, **1988**, *21*, 3191.
- [10] G. Smyth, F. X. Quinn, V. J. McBrierty, *Macromolecules*, **1988**, *21*, 3198.
- [11] K. Hofer, E. Mayer, G. P. Johari, *J. Phys. Chem.*, **1990**, *94*, 2689.
- [12] K. Ishikiriya, M. J. Todoki, *Polym. Sci. Part B, Polym. Phys.*, **1995**, *33*, 791.
- [13] R. A. Stile, W. R. Burghardt, K. E. Healy, *Macromolecules*, **1999**, *32*, 7370.
- [14] H. Feil, Y. H. Bae, J. Feijen, S. W. Kim, *Macromolecules*, **1993**, *26*, 2496.
- [15] M. Shibayama, S. Mizutani, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, *29*, 2019.
- [16] A. S. Hoffman, A. Afrassiabi, L. C. Dong, *J. Control. Release*, **1986**, *4*, 213.
- [17] C. S. Brazel, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **1995**, *28*, 8016.
- [18] R. Yoshida, K. Sakai, T. Okano, Y. Sakurai, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **1994**, *6*, 585.
- [19] G. H. Chen, A. S. Hoffman, *Nature*, **1995**, *373*, 49.
- [20] H. G. Schild, *Prog. Polym. Sci.*, **1992**, *17*, 163.
- [21] H. G. Schild, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **1996**, *34*, 2259.

- [22] H. G. Schild, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **1993**, *31*, 2403.
- [23] B.-C. Ho, Y.-D. Lee, W. K. Chin, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **1992**, *30*, 2389.
- [24] M. Lazzari, T. Kitayama, K. Hatada, O. Chiantore, *Macromolecules*, **1998**, *31*, 8075.
- [25] M. Gordon, J. S. Taylor, *J Appl. Chem.*, **1952**, *2*, 493.
- [26] L. A. Wood, *J. Polym. Sci.*, **1958**, *28*, 319.
- [27] K. Hofer, E. Mayer, G. P. Johari, *J. Phys. Chem.*, **1991**, *95*, 7100.
- [28] R. G. Sousa, W. F. Magalhães, R. F. S. Freitas, *Polym. Deg. Stab.*, **1998**, *61*, 275.
- [29] D. Kuckling, H. J. P. Alder, L. Ling, W. D. Habicher, K. F. Arndt, *Polym. Bull.*, **2000**, *44*, 269.
- [30] D. Kuckling, H. J. P. Alder, K. F. Arndt, L. Ling, W. D. Habicher, *Macromol. Chem. Phys.*, **2000**, *201*, 273.
- [31] H. A. Schneider, *Makromol. Chem.*, **1988**, *189*, 1941.
- [32] G. Bélorgey, M. Aubin, R. E. Prud'homme, **1982**, *Polymer*, *23*, 1051.
- [33] H. A. Schneider, U. Epple, *Termochimica Acta*, **1987**, *112*, 123.
- [34] T. K. Kwei, *J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed.*, **1984**, *22*, 307.
- [35] H. A. Schneider, J. Rieger, E. Penzel, *Polymer*, **1997**, *38*, 1323.
- [36] A. R. Haly, J. W. Snaith, *Biopolymers*, **1971**, *10*, 1681.
- [37] F. H. Stilling, "Water in Polymers", Editor S. P. Rowland. ACS Symposium Series 127; American Chemical Society; Washington DC, 1980.
- [38] J. Rault, A. Lucas, R. Neffati, M. Monleon Pradas, *Macromolecules*, **1997**, *30*, 7866.
- [39] J. Rault, Z. H. Ping, T. Nguyen, *J. Non-Cryst. Solids*, **1994**, *172/174*, 733.
- [40] G. P. Johari, A. Hallbrucker, E. Mayer, *Nature*, 1987, *330*, 552.
- [41] F. X. Quinn, E. Kampff, G. Smyth, V. J. McBrierty, *Macromolecules*, **1988**, *21*, 3191.
- [42] F. Zeng, Z. Tong, H. Feng, *Polymer*, **1997**, *38*, 5539.
- [43] C. Tanford, "The hydrophobic effect", 2<sup>nd</sup> ed. J. Wiley and sons, New York, 1973.
- [44] Y. Maeda, T. Higuchi, I. Ikeda, *Langmuir*, **2000**, *16*, 7503.
- [45] M. Shibayama, Y. Suetoh, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, *29*, 6966.
- [46] M. Heskins, J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci.-Chem.*, **1968**, *A2(8)*, 1441.
- [47] N. V. Grinberg, A. S. Dubovick, V.Y. Grinberg, D. V. Kuznetsov, E. E. Makhaeva, A.Y. Grosberg, T. Tanaka, *Macromolecules*, **1999**, *32*, 1471.
- [48] V. Y. Grinberg, A. S. Dubovick, D. V. Kuznetsov, N. V. Grinberg, A.Y. Grosberg, T. Tanaka, *Macromolecules*, **2000**, *33*, 8685.
- [49] Y. H. Bae, T. Okano, S. W. Kim, *Pharm. Res.*, **1991**, *8*, 531.
- [50] M. Shibayama, Y. Fujikawa, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, *29*, 6535.

## 4. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

### 4.1. INTRODUCCIÓN

---

Debido al gran número de variables que influyen en las propiedades de los geles poliméricos sensibles a estímulos, su estudio resulta muy complejo. En esta sección se emplean las técnicas de Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido para el estudio de la estructura, interacciones moleculares y movilidad que son responsables del comportamiento de los hidrogeles poliméricos empleados en nuestro trabajo.

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una herramienta muy poderosa, empleada en múltiples ramas de la ciencia para entender y caracterizar las relaciones entre estructura química, dinámica molecular y propiedades macroscópicas de los sistemas. Además de masa y carga, los núcleos atómicos poseen una propiedad denominada momento angular de espín ( $\vec{L}$ ) que genera un momento magnético ( $\vec{\mu}$ ) proporcional y paralelo al espín

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{L} \quad (1)$$

siendo  $\gamma$  la denominada relación magnetogirica, característica de cada tipo de núcleo. Esto hace que cuando los núcleos con espín distinto de cero se sitúan en un campo magnético ( $B_0$ ), éste interactúa con el momento magnético nuclear dando lugar a la separación de la energía magnética en distintos niveles energéticos (Niveles de Zeeman). Si estos núcleos se irradian con una radiación electromagnética de frecuencia equivalente a la diferencia de energía entre sus niveles ( $\omega_0$ , frecuencia de Larmor)

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0 \quad (2)$$

tienen lugar transiciones entre los niveles energéticos, generando señales de absorción que pueden ser detectadas. Aunque en principio la frecuencia de absorción o frecuencia de resonancia sólo depende del tipo de núcleo y del campo magnético externo, el entorno electrónico del núcleo en cuestión genera un campo local que se superpone al campo magnético principal, dando lugar a señales con frecuencias distintas, es decir, al desplazamiento químico. Los espines nucleares pueden también interactuar entre sí a través de los enlaces (acoplamiento escalar  $J$ , de gran importancia en la RMN de líquidos) o a través del espacio (acoplamiento dipolar  $D$ , que contribuye a la relajación de los núcleos y es fundamental en la RMN de sólidos). Las distintas líneas que se observan en los espectros de RMN originadas por las diferencias en los desplazamientos químicos de cada núcleo simétricamente distinto, así como por los acoplamientos escalares o dipolares entre los distintos núcleos de un sistema, ofrecen una gran cantidad de información. Todo ello ha hecho de la RMN una herramienta fundamental a la hora de resolver problemas estructurales o dinámicos.

A pesar de la gran capacidad de hinchamiento en ciertos disolventes y bajo determinadas condiciones de los sistemas estudiados, las técnicas normales de RMN en disolución no permiten obtener

espectros con suficiente resolución e intensidad. Las redes tridimensionales que forman los geles poliméricos y que son las responsables de las características tan interesantes de estos sistemas, son también las que dan lugar a las grandes dificultades que presenta su caracterización. La movilidad de las cadenas está muy restringida debido, además de a su naturaleza polimérica, a los puntos de entrecruzamiento que impiden la disolución de las muestras. Esto tiene como consecuencia un ensanchamiento en las líneas de resonancia debido a las interacciones dipolares residuales, la anisotropía del desplazamiento químico y los gradientes de susceptibilidad de las muestras.<sup>[1]</sup> Todo ello nos condujo al empleo de la RMN en estado sólido como método de caracterización de las muestras.

En una muestra sólida rígida, las interacciones en las que está implicado un espín, o sistema de espines, son anisotrópicas, es decir, dependen de la orientación que no es la misma en todas las moléculas de la muestra. Los espectros de alta resolución obtenidos en líquidos son el resultado de los rápidos movimientos de las moléculas que promedian a cero el ensanchamiento de las líneas. Con sistemas de espines rotando rápidamente y de forma isotrópica, las componentes anisotrópicas de las interacciones se promedian a cero, de forma que cada señal representa la parte isotrópica del Hamiltoniano que corresponde a todos los espines químicamente equivalentes.<sup>[2]</sup> En el estado sólido estos movimientos normalmente no tienen lugar y las interacciones anisotrópicas dan lugar al ensanchamiento de las señales. Este ensanchamiento es predominantemente inhomogéneo, lo cual deriva del hecho de que no se trata de una única señal ancha, sino del solapamiento de múltiples señales mucho más estrechas asociadas a cada uno de los espines de la muestra. Las técnicas empleadas en la espectroscopía de RMN en estado sólido permiten reducir el ensanchamiento de las señales en los sólidos y de esta forma obtener espectros bien resueltos e información adicional inherente a las interacciones anisotrópicas particulares al estado sólido.<sup>[3]</sup>

Los métodos de  $^1\text{H}$  RMN en estado sólido intentan por una parte, reducir el ensanchamiento debido a las interacciones dipolares para obtener información acerca del desplazamiento químico de las muestras. Por otra parte los nuevos métodos, en desarrollo en la actualidad, intentan preservar la información inherente a estos acoplamientos dipolares acerca de las proximidades entre los distintos núcleos, y por tanto acerca de interacciones intra- e intermoleculares. El método ideal combina la información acerca de la identidad de un grupo molecular con la información espacial y orientación de las interacciones dipolares. Estas técnicas están especialmente indicadas para el estudio de interacciones no covalentes, como los puentes de hidrógeno, capaces de inducir estructuras supramacromoleculares.<sup>[4, 5]</sup> En particular los métodos de RMN de  $^1\text{H}$  en estado sólido que aplican velocidades de MAS muy elevadas, o acoplamientos dipolares de múltiple cuanto permiten obtener información detallada de puentes de hidrógeno complejos sin necesidad de la cristalización o el marcado isotópico de las muestras.<sup>[4, 6-8]</sup>

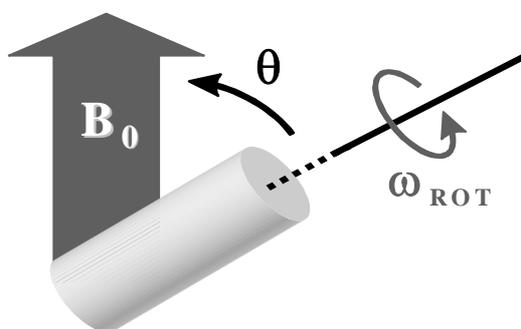
#### 4.1.1. ROTACIÓN EN EL ÁNGULO MÁGICO (MAS)

El principal método empleado para reducir la anchura de las líneas en RMN de sólidos es la denominada rotación alrededor del ángulo mágico (Magic Angle Spinnig, MAS). Para los núcleos de

espín  $I = 1/2$  ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,...) las dos interacciones anisotrópicas más importantes son la anisotropía del apantallamiento químico y las interacciones dipolares entre los momentos de dos o más espines. Se ha demostrado que la rotación física de las muestras alrededor de un eje inclinado a un ángulo de  $54.7^\circ$  (denominado ángulo mágico) con respecto al campo magnético  $B_0$ , promedia a cero estas interacciones.<sup>[9, 10]</sup> Esto es debido a que la anisotropía del apantallamiento químico y de las interacciones dipolares, dependen de la orientación de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\omega \propto 1/2 (3 \cos^2\theta - 1), \quad (3)$$

donde  $\theta$  es el ángulo entre el eje principal del sistema y la dirección del campo magnético  $B_0$  (Esquema 1). Para el ángulo mágico,  $\theta = 54.7^\circ$ , la expresión anterior se anula.<sup>[3, 4]</sup>



*Esquema 1: Rotación alrededor del ángulo mágico*

La efectividad de la técnica de MAS como método de estrechamiento de las líneas de resonancia en sólidos está claramente demostrada,<sup>[3, 4]</sup> especialmente en el caso de la anisotropía del desplazamiento químico. Este no es el caso de la espectroscopía de  $^1\text{H}$  RMN, que en disolución es uno de los métodos de rutina para la caracterización estructuras de un material. En el estado sólido debido a la gran abundancia natural de los  $^1\text{H}$ , los espectros están dominados por las fuertes interacciones dipolares homonucleares que dan lugar a un ensanchamiento de las señales muy importante. No obstante, la técnica de  $^1\text{H}$  MAS RMN puede aplicarse ventajosamente en sistemas con cierta movilidad, como los geles hinchados, para obtener información dinámica de gran utilidad sobre los distintos componentes del sistema disolvente polímero.

Sin embargo esta aplicación a señales ensanchadas a causa del acoplamiento dipolar estaba limitada a sistemas con acoplamientos dipolares débiles. En el caso de sistemas rígidos, como los geles en estado seco, la fuerza de los acoplamientos dipolares, de hasta 50 kHz, hacía que la eficiencia del desacoplamiento obtenido a las velocidades de rotación que se pueden alcanzar con un rotor de 4 mm (hasta 15 kHz) fuera insuficiente. Disminuyendo el diámetro del rotor a 2.5 mm, se han obtenido sondas de MAS capaces de rotar a frecuencias de hasta 35 kHz, que han mejorado en gran medida la resolución de la espectroscopía de  $^1\text{H}$  en estado sólido.

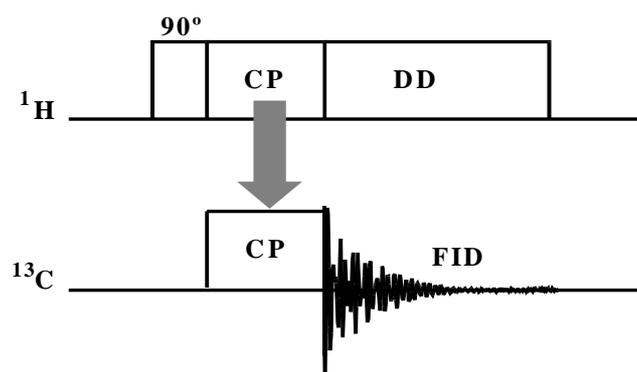
#### 4.1.2. $^{13}\text{C}$ MAS

##### 4.1.2.1. DESACOPLAMIENTO DIPOLAR (DD)

Como se ha descrito en el párrafo anterior, para conseguir eliminar completamente el ensanchamiento de las señales debido a los acoplamiento dipolares empleando la técnica de MAS, sería necesario rotar las muestras a velocidades superiores a 40-50 kHz, lo que en la actualidad es físicamente imposible. En el caso de los espines diluidos ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ...), las interacciones dipolares homonucleares pueden ser ignoradas debido a su baja abundancia natural, y sólo deben ser tenidas en cuenta las interacciones dipolares heteronucleares con los protones (99.98 % de abundancia natural). En estos casos un método práctico para la eliminación del ensanchamiento dipolar debido a los protones, es el empleo de irradiación de alta potencia a las frecuencias de resonancia de los protones. Este desacoplamiento dipolar (DD) es similar al desacoplamiento escalar  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  empleado en la RMN en disolución, sólo que requiere potencia mucho mayor.

##### 4.1.2.2. POLARIZACIÓN CRUZADA (CP)

Otro problema que se presenta a la hora de obtener espectros de RMN de sólidos de alta resolución para los núcleos diluidos, es la baja sensibilidad debida a su escasa abundancia natural y a sus largos tiempos de relajación espín-retículo ( $T_1$ ). Por el contrario, los núcleos naturalmente abundantes, tienen tiempos de relajación  $T_1$  relativamente cortos. La técnica de Polarización Cruzada (CP) transfiere la magnetización de los núcleos abundantes y sensibles ( $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ...) a los núcleos de baja abundancia natural ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{29}\text{Si}$ ...) empleando un mecanismo de relajación cruzada. Funciona forzando un solapamiento de las energías de los núcleos abundantes y no abundantes. En el Esquema 2 se muestra la secuencia de pulsos de un experimento estándar de CP  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ .



**Esquema 2:** Secuencia de pulsos de un experimento estándar de Polarización Cruzada  $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ .

Un pulso de  $90^\circ$  genera la magnetización transversal en los núcleos abundantes. Posteriormente se cambia la fase del transmisor en  $90^\circ$ , que irradia de manera continua durante el denominado tiempo de contacto. En este tiempo los espines quedan atrapados (spin lock) en el campo magnético oscilante de la radiofrecuencia  $B_{1\text{H}}$ , en el que rotan con una frecuencia

$$\omega_H = \gamma_H B_{1H} \quad (4)$$

Mientras tanto los espines del núcleo diluido se ponen en contacto con los protones, aplicando un segundo campo  $B_{1C}$  a la frecuencia del núcleo diluido y con la misma fase. Los espines del núcleo diluido precesan en el campo de radiofrecuencia con una frecuencia

$$\omega_C = \gamma_C B_{1C} \quad (5)$$

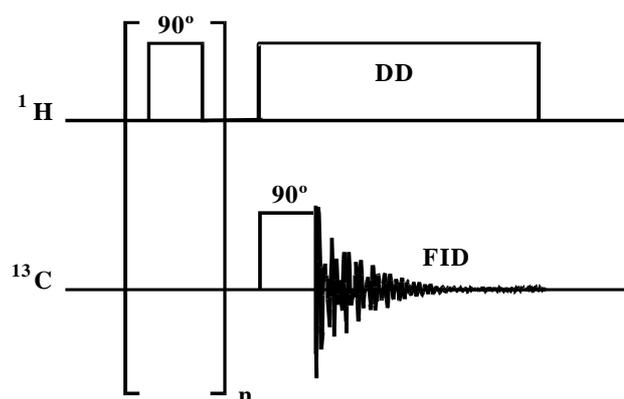
Si las magnitudes de los campos oscilantes son tales que se cumple la condición de Hartman-Hahn ( $|\gamma_C B_{1C}| = |\gamma_H B_{1H}|$ ), las dos especies de espines precesan con la misma frecuencia alrededor del eje del campo oscilante. Las componentes  $z$  de ambos núcleos están oscilando a la misma frecuencia, y puesto que al principio sólo existe magnetización en el núcleo abundante, se produce un flujo de polarización de los espines abundantes a los diluidos. Se aprecia un incremento en la intensidad de los núcleos de escasa abundancia en el factor de las relaciones magnetogíricas:  $\gamma_H/\gamma_C$ . Este método presenta la ventaja adicional de que la relajación de los protones es mucho más rápida que la de los núcleos poco abundantes, lo que acorta el tiempo experimental.

La técnica de CP es una herramienta muy útil para el estudio de sistemas rígidos en los que la transferencia de magnetización de los  $^1\text{H}$  a los  $^{13}\text{C}$  es especialmente eficaz. Sin embargo, en sistemas que tienen algo de movilidad, esta técnica no es efectiva. Puesto que la inducción de movilidad en la muestra, por ejemplo mediante el empleo de un disolvente, promedia las interacciones dipolares necesarias para la polarización cruzada es necesario el empleo de otras técnicas, para la medida de estos sistemas.

#### 4.1.2.3. TRANSFERENCIA MEDIANTE SATURACIÓN POR PULSOS (PULSE SATURATION TRANSFER, PST)

Como ya se indicó, las técnicas habituales de RMN en disolución no son eficaces en el estudio de los geles poliméricos, debido a la restricción en la movilidad de las cadenas provocada por los puntos de entrecruzamiento que impiden la disolución de las muestras. Para obtener información de las regiones móviles de los geles, se ha propuesto el empleo de secuencias de pulsos de RMN en disolución para muestras de geles hinchados en distintos disolventes, como la polarización directa.<sup>[11-13]</sup> El comportamiento sólido residual de las muestras se reduce mediante la rotación en el ángulo mágico y el empleo de desacoplamiento dipolar de alta potencia.

La técnica de transferencia mediante pulsos de saturación (Pulse Saturation Transfer, PST) ha sido ampliamente empleada por Ando y colaboradores<sup>[1, 14, 15]</sup> para el estudio de geles poliméricos hinchados. Como se muestra en el Esquema 3, en esta técnica la magnetización del  $^{13}\text{C}$  obtiene por un pulso directo de  $90^\circ$  al  $^{13}\text{C}$  y se emplea el efecto nuclear Overhauser (NOE) para aumentar la señal, mediante la saturación de las resonancias de los protones.<sup>[1, 14]</sup>



*Esquema 3: Secuencia de pulsos de un experimento de PST MAS.*

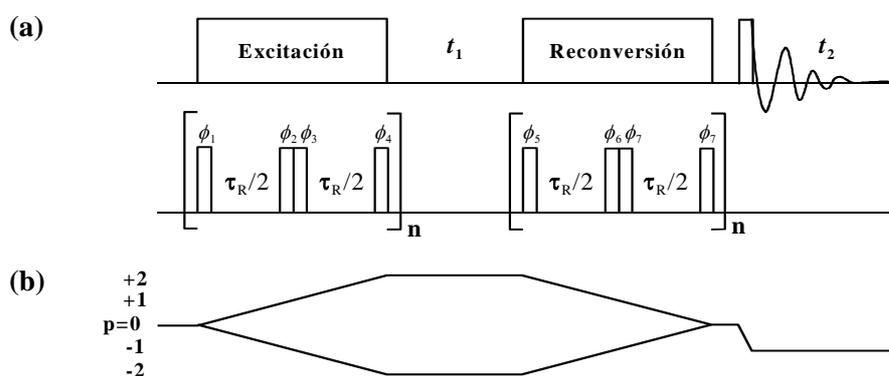
#### 4.1.3. $^1\text{H}$ MAS: RMN HOMONUCLEAR DE DOBLE CUANTO (DQ)

Los métodos descritos anteriormente se basan en conseguir un aumento de la resolución de la RMN de sólidos mediante la reducción del ensanchamiento debido a las interacciones dipolares. Sin embargo, con ello se pierde una valiosa información estructural y dinámica inherente a estos mismos acoplamientos dipolares. Un método que en lugar de luchar contra las interacciones dipolares hace uso de ellas es la espectroscopía dipolar de doble cuanto de protón ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  DQ MAS), en la que la creación de una coherencia de doble cuanto (DQC) se basa en la existencia de un acoplamiento dipolar entre dos protones. Las señales específicas de un espín, características de los experimentos de un solo pulso, o de experimentos de coherencia simple son reemplazadas por señales específicas de la pareja que combinan la intensidad del acoplamiento dipolar con el desplazamiento químico de los núcleos implicados en la coherencia.<sup>[4]</sup>

Puesto que las coherencias de múltiple cuanto (MQ) no pueden ser detectadas directamente, la espectroscopía MQ RMN necesita una aproximación bidimensional en la que una dimensión MQ se relaciona con una dimensión de coherencia simple (SQ) detectable. En el Esquema 4 se muestra la secuencia de pulsos y la ruta de transferencia de coherencia para un experimento  $^1\text{H}$  DQ MAS. El experimento se divide en cuatro periodos: En primer lugar, un tren de pulsos con un ciclo de fases adecuado, excita una DQC que se deja evolucionar durante un periodo determinado  $t_1$  y posteriormente se transforma en una coherencia simple observable, que es detectada en el periodo de adquisición.

En principio, dos pulsos son suficientes para excitación y reconversión de las MQCs, empleando los acoplamientos dipolares, que actúan en el periodo entre pulsos, para crear correlaciones de espín más altas. Para la excitación de una DQC bajo MAS, se debe tener en cuenta la interferencia con la rotación de la muestra, ya que, mientras que los acoplamientos dipolares son indeseables para obtener la máxima resolución, si son necesarios para excitar DQCs. Debido al empleo de MAS tiene lugar una promediación de los acoplamientos dipolares en un proceso de reversión. Para resolver esta contradicción surgió el

concepto de reacoplamiento, que implica la aplicación de pulsos de radiofrecuencia para neutralizar el efecto de la rotación física. En el caso de emplear MAS, se debe obtener una señal DQ suficiente, para periodos de excitación menores que la mitad del periodo de rotación ( $\tau_R/2$ , para  $\tau_R = 1/\omega_R$ ). A escalas de tiempo por encima del  $\tau_R$ , los pares de acoplamientos dipolares están completamente promediados a cero, mientras que para tiempos por encima de  $\tau_R/2$ , sólo tiene lugar un promedio parcial. El empleo de secuencias de pulsos de reacoplamiento durante los periodos de excitación y reconversión de las DQCs, como la secuencia BABA que se muestra en el Esquema 4, compensa el efecto desacoplante de la rotación de la muestra, por una rotación en sentido contrario en el espacio del espín.<sup>[4]</sup>

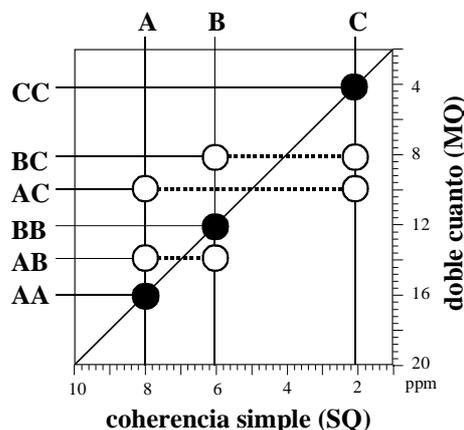


**Esquema 4:** (a) diagrama de la secuencia de pulsos y (b) ruta de transferencia de coherencia para un experimento  $^1\text{H}$  DQ MAS empleando la secuencia BABA de reacoplamiento para la excitación y reconversión de las DQCs.

Para determinar que protones están implicados en las coherencias DQ, es necesario llevar a cabo experimentos  $^1\text{H}$  DQ MAS bidimensionales, en los que una dimensión  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  DQ se correlaciona con una dimensión de coherencia simple  $^1\text{H}$  SQ. Este tipo de experimentos se puede llevar a cabo por dos procedimientos distintos. En primer lugar, sincronizando la velocidad del rotor con  $t_1$ , es decir, cuando el incremento de  $t_1$  se iguala a un periodo de rotación  $\tau_R$ . De esta forma, los ecos de rotación se repliegan a la posición de la banda central. En el Esquema 5 se muestra la apariencia de un espectro de este tipo. Dado que la frecuencia DQ de una determinada coherencia DQ es simplemente la suma de dos frecuencias de resonancia de  $^1\text{H}$  SQ, las coherencias DQ entre espines similares dan lugar al denominado pico de la diagonal ( $\delta_{AA} = \delta_A + \delta_A$ ), mientras que las coherencias DQ entre espines distintos dan lugar a dos picos de correlación que se sitúan de forma simétrica a ambos lados de la diagonal ( $\delta_{AB} = \delta_A + \delta_B$ ). La intensidad de una señal DQ es proporcional al cuadrado de la constante de acoplamiento dipolar ( $D$ ),<sup>[5]</sup> cuyo valor está definido por:

$$D = \frac{\mu_0}{4\pi} \cdot \frac{\hbar\gamma_1\gamma_2}{r^3} \quad (6)$$

Puesto que  $r$  representa la distancia internuclear, la intensidad de las señales DQ es inversamente proporcional a  $r^6$ . De esta forma, simplemente considerando la presencia o ausencia de picos en los espectros DQ se obtiene información semicuantitativa sobre las distancias internucleares. La presencia o ausencia de un pico en un espectro  $^1\text{H}$  DQ MAS implica una distancia protón-protón de, aproximadamente 0.4 nm.



**Esquema 5:** Representación esquemática de un espectro bidimensional  $^1\text{H}$  DQ MAS (sincronizado con el rotor) que muestra las posiciones de los 9 posibles picos DQ (3 en la diagonal y 6 picos de correlación) para una muestra con 3 tipos de protones distintos (A, B y C) con acoplamientos dipolares.

El otro procedimiento permite además llevar a cabo una evaluación cuantitativa de los acoplamientos dipolares (y por tanto de las distancias internucleares) reduciendo el incremento en el tiempo de evolución  $t_1$ . De esta forma se aumenta la anchura espectral y se obtiene un patrón de ecos de rotación de doble cuanto (DQ spinning-sideband pattern). Siempre y cuando se emplee una secuencia de reacoplamiento en la que la amplitud dependa de la fase del rotor (como la secuencia BABA), este experimento se basa en la codificación en el rotor de la interacción dipolar reacoplada.<sup>[16, 17]</sup> Cuando los incrementos en  $t_1$  son arbitrarios y no coinciden con  $\tau_R$ , las orientaciones del rotor no serán idénticas al comienzo de los periodos de excitación y de reconversión. Por ello las interacciones dipolares responsables de la excitación y de la reconversión de las DQCs difieren con respecto a su fase. Tomando la fase de la excitación como referencia, la fase de la reconversión se encuentra codificada en el rotor, lo que induce la aparición de ecos de rotación en la señal DQ. Este patrón de ecos de rotación es muy sensible al producto de  $D$  y al tiempo de excitación/reconversión ( $t_{\text{exc}}$ ), siempre que  $D \cdot t_{\text{exc}}$  sea superior a 0.5. En este caso aparecen ecos de rotación impares de orden superior para las interacciones DQ. Puesto que el valor de  $t_{\text{exc}}$  es conocido es posible determinar el valor absoluto de  $D$   $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y por tanto de las distancias internucleares.<sup>[4, 5]</sup>

El análisis de este experimento se basa en la suposición de que la DQC provenga de una pareja de espines aislada,<sup>[4]</sup> para la cual el espectro DQ MAS consiste sólo en ecos rotacionales impares. Si la pareja de espines no está completamente aislada, la evolución durante  $t_1$  bajo el acoplamiento dipolar con

otros protones cercanos, da lugar a bandas centrales y a ecos rotacionales pares.<sup>[5]</sup> La intensidad de esos ecos rotacionales no deseados nos permite determinar la validez de la aproximación de la pareja de espines aislados. Se ha demostrado experimentalmente,<sup>[6]</sup> y mediante simulaciones teóricas,<sup>[18]</sup> que en el caso de los dímeros de ácidos carboxílicos la situación puede ser aproximada de forma fiable, ignorando los débiles ecos de rotación pares y considerando sólo las intensidades de los ecos de rotación impares, es decir, asumiendo una pareja de espines aislada.

## **4.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

---

### 4.2.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se estudiaron muestras con un 0.25 (p/p) % o sin entrecruzante de P(MAA), P(N-iPAAm), sus distintos copolímeros, redes interpenetradas y semi-interpenetradas. Parte de los estudios se realizaron en las muestras tal y como se obtuvieron de la síntesis (parcialmente ionizadas debido a las trazas de NaOH empleadas para neutralizar la mezcla de reacción), y para otros se llevó a cabo un acondicionamiento de las muestras para comparar el efecto del pH del medio. Para obtener muestras completamente protonadas, se sumergieron en una disolución de HCl a pH 1.2, dando lugar al colapso pH dependiente de las muestras. Para obtener muestras completamente ionizadas se empleó una disolución de NaOH a pH 10, con lo que aumenta en gran medida el hinchamiento (muestras expandidas). Para estudiar el efecto en condiciones cercanas al pH de colapso ( $pK_a$  del MAA = 4.65) de las muestras se emplearon disoluciones a pH 5.5 y a pH 4.5 por encima y por debajo del pH de colapso respectivamente. Las muestras se equilibraron en las respectivas disoluciones (2-3 días) y se dejaron secar a temperatura ambiente. Previamente a los ensayos de RMN las muestras se pulverizaron en un molino analítico IKA®, y se secaron a vacío durante 12 h.

Para preparar las muestras hinchadas se tomaron muestras preparadas como se describe en el párrafo anterior y posteriormente se hincharon en D<sub>2</sub>O a las concentraciones 50 % (1:1, polímero/D<sub>2</sub>O p/p) o 90 % (1:9, polímero/D<sub>2</sub>O p/p), en metanol-d<sub>4</sub> a la concentración 90 % (1:9, polímero/metanol-d<sub>4</sub> p/p) o en cloroformo-d al 50 % (1:1, polímero/cloroformo-d p/p) y se dejaron equilibrar. Los rotores con muestras hinchadas se pesaron antes y después de los experimentos de RMN para comprobar que no había pérdidas de disolvente por evaporación. Los tipos de muestras y las condiciones empleadas se resumen en la Tabla 1.

### 4.2.2. EXPERIMENTOS DE RMN

Los espectros de RMN <sup>13</sup>C CP MAS y <sup>13</sup>C PST MAS fueron realizados en espectrómetros Bruker MSL 300 y DRX 300 de RMN (7.05 Tesla) equipados con una sonda estándar Bruker 4 mm CP MAS de doble resonancia. Se emplearon rotores de circonia especiales para MAS con un diámetro exterior de 4 mm, que se rellenaban con las muestras secas o hinchadas. La temperatura de las muestras se controlaba empleando un controlador de temperatura Bruker BVT-100 y un sistema de flujo de aire/N<sub>2</sub> gas frío ( $\pm 1$

K). Todas las muestras fueron rotadas a frecuencias de MAS de 5 kHz. Para el desplazamiento químico del carbono se empleó como referencia el TMS, utilizando el adamantano (38.5 ppm) como estándar secundario. Las condiciones empleadas en los espectros  $^{13}\text{C}$  CP MAS fueron: Tiempo entre espectros (recycle delay), 2 s. Pulso de  $90^\circ$  para el  $^1\text{H}$ ,  $3.960\mu\text{s}$ . Tiempo de contacto en CP, 1-2 ms. Desacoplamiento dipolar 16 ms. Número total de puntos (TD), 1k (1024). Anchura espectral, 33.33 kHz. Y hasta  $3 \cdot 10^4$  acumulaciones para conseguir una adecuada relación señal/ruido. Para muestras muy hinchadas (90 % en peso) se empleó la técnica de PST MAS. Tiempo entre espectros ,4 s. Pulso de  $90^\circ$  para el  $^1\text{H}$ ,  $3.690 \mu\text{s}$ , y para el  $^{13}\text{C}$ ,  $4 \mu\text{s}$ . Desacoplamiento dipolar 26 ms. TD, 1k. Anchura espectral, 20 kHz. Y de  $10^4 - 2 \cdot 10^4$  acumulaciones. Los espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN en disolución fueron realizados en un espectrómetro Varian INOVA 400 MHz. Los desplazamientos químicos se asignaron con respecto al TMS empleando la señal del disolvente como referencia interna.

**Tabla 1:** Tipo de muestra, con las condiciones empleadas y los experimentos realizados en cada caso.

Muestras	Disolvente	Hinchamiento, (p/p)	Técnica	MAS, (kHz)
De la síntesis	-	-	$^{13}\text{C}$ CP MAS	5
	$\text{D}_2\text{O}$	50 %	$^1\text{H}$ MAS, $^{13}\text{C}$ CP MAS, $^{13}\text{C}$ PST MAS	5
		90 %	$^{13}\text{C}$ CP MAS, $^{13}\text{C}$ PST MAS	5
	Metanol- $\text{d}_4$	90 %	$^{13}\text{C}$ PST MAS	5
	Cloroformo-d	50 %	$^1\text{H}$ MAS, $^1\text{H}$ DQ MAS	30
pH 1.2 y 10	$\text{D}_2\text{O}$	50 %	$^1\text{H}$ MAS	10
	-	-	$^1\text{H}$ MAS, $^1\text{H}$ DQ MAS, (1 y 2D)	30
pH 4.5 y 5.5	-	-	$^1\text{H}$ MAS, $^1\text{H}$ DQ MAS, (1 y 2D)	30

Los espectros de  $^1\text{H}$  MAS en muestras hinchadas fueron realizados en espectrómetros Bruker MSL-300 y DRX 300 de RMN con una sonda estándar Bruker 4 mm, a frecuencias de MAS 5-10 kHz con un pulso de  $90^\circ$  para el  $^1\text{H}$ ,  $3.690 \mu\text{s}$ , una anchura espectral de 100 kHz, TD 1 k y 64 acumulaciones. Los experimentos  $^1\text{H}$  MAS y  $^1\text{H}$  DQ MAS en muestras secas se llevaron a cabo en un espectrómetro Bruker ASX 500 MHz. Se empleó una sonda Bruker estándar de doble resonancia, con rotores de 2.5 mm de diámetro exterior. Todas las muestras se rotaron a una frecuencia de MAS de 30 kHz. La longitud del pulso de  $90^\circ$  se ajustó a  $3 \mu\text{s}$  en todos los casos, y se empleó un tiempo entre espectros de 3 s. El número de acumulaciones entre 4-64, la anchura espectral 100 kHz y el TD 1k. Los experimentos  $^1\text{H}$  DQ MAS se llevaron a cabo empleando  $2 \tau_R$  de la secuencia de reacoplamiento back-to-back (BABA) <sup>[19]</sup> para la excitación y reconversión de las coherencias dipolares DQ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Para los espectros bidimensionales se empleó un TD en F1 de 64, y anchura espectral 30 kHz. Los patrones de ecos de rotación ( $^1\text{H}$  DQ MAS sideband patterns) se realizaron empleando  $4 \tau_R$  con reacoplamiento de tipo BABA con un TD en F1 de 64-800 y anchura espectral 480 kHz.

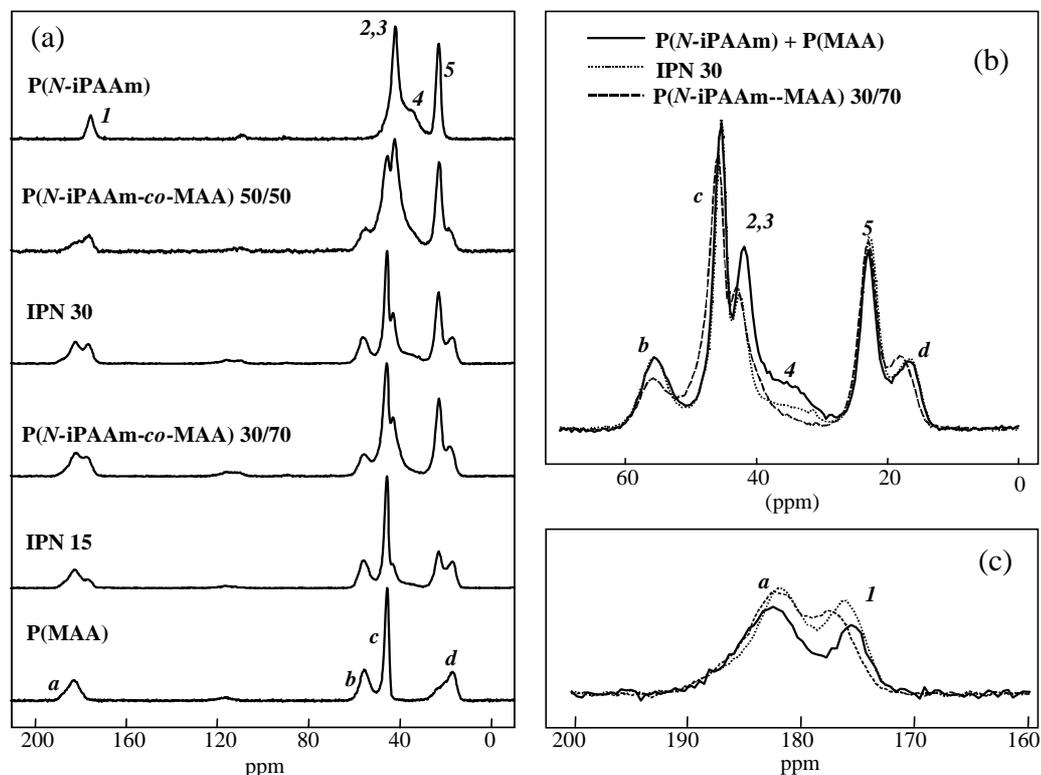
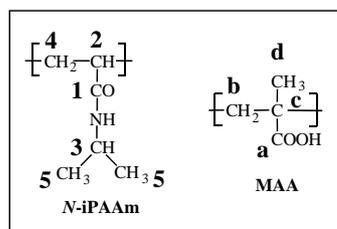
### 4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.3.1. CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL: ESPECTROSCOPÍA DE RMN DE $^{13}\text{C}$

##### 4.3.1.1. $^{13}\text{C}$ CP MAS RMN

Los copolímeros entrecruzados de P(*N*-iPAAm-co-MAA) y sus redes interpenetradas (IPNs) fueron estudiados en estado seco (xerogeles) mediante  $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN. Esta técnica es más sensible a los  $^{13}\text{C}$  de las regiones más rígidas de la muestra. Debido a que esta técnica se basa en la transferencia de magnetización de los protones a los carbonos, la observación de carbonos con distintos entornos se consigue variando el tiempo de contacto, y dependiendo del tiempo de contacto, se modifica la intensidad de los carbonos según su proximidad a los protones. Las estructuras de los dos monómeros, *N*-iPAAm y MAA se muestran en la Fig. 1 y en la Fig. 2 se muestran los espectros obtenidos para los homopolímeros de P(*N*-iPAAm), P(MAA), algunos copolímeros e IPNs. La asignación de las señales se realizó de acuerdo con la bibliografía.<sup>[14, 20-22]</sup>

**Figura 1.** Estructuras de las unidades de *N*-iPAAm y de MAA.



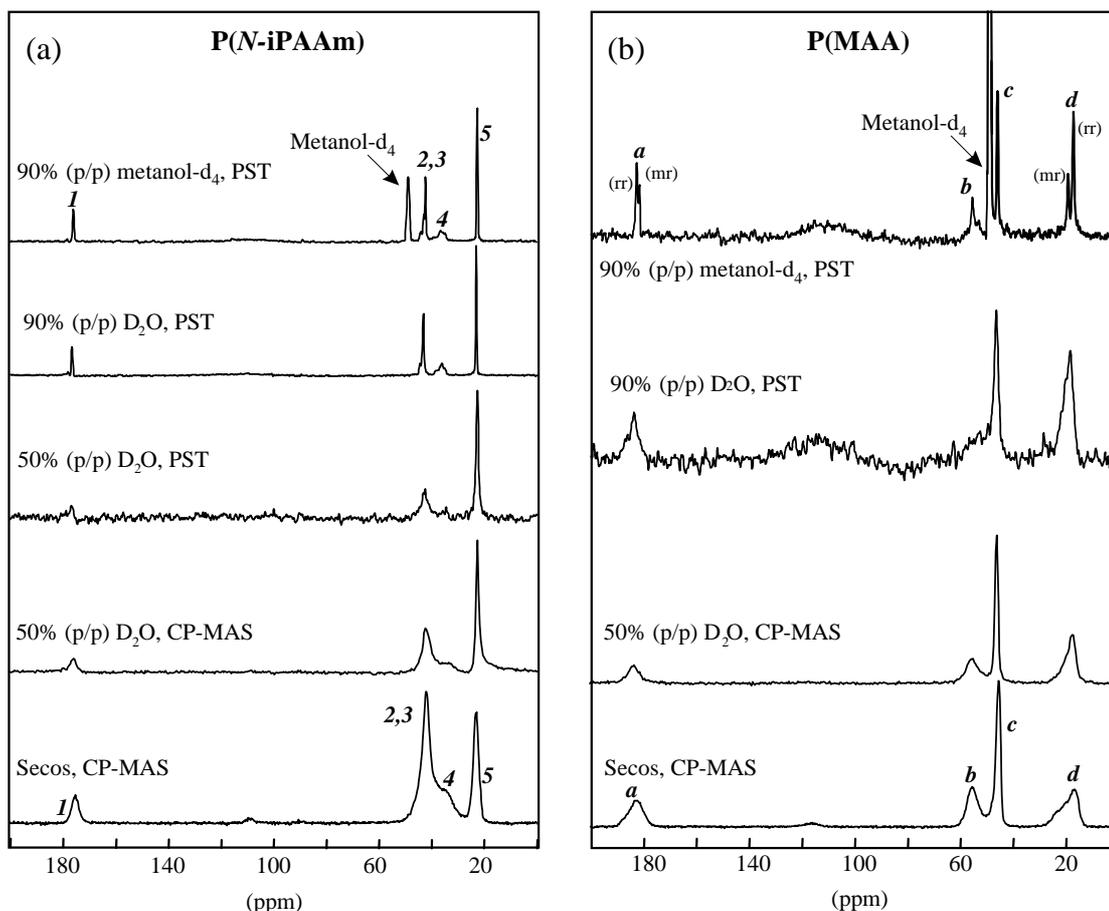
**Figura 2.** (a) Espectros  $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN a temperatura ambiente de muestras de P(MAA), P(*N*-iPAAm), sus copolímeros e IPNs. En la ampliación se comparan los espectros de la IPN 30 y el copolímero 30/70, ambos con un 30 % molar de *N*-iPAAm, con la superposición de los espectros de ambos homopolímeros. (a) Región alifática. (b) Región del carbonilo. Velocidad de MAS 5 kHz.

Los espectros de las redes interpenetradas son muy similares a los de los copolímeros de la misma composición, y ambos parecen ser una superposición de los espectros de los homopolímeros. Las redes interpenetradas muestran una resolución espectroscópica ligeramente mejor que puede ser resultado de una menor interacción entre las secuencias de MAA y *N*-iPAAm comparado con los copolímeros. El enlace químico covalente entre los dos monómeros en los copolímeros al azar da lugar a desplazamientos químicos ligeramente diferentes en los carbonos implicados en el enlace como resultado de su nuevo entorno químico y por tanto a un ensanchamiento de la señal.

En el caso de existir una interacción fuerte entre los dos componentes de una mezcla, se deben apreciar cambios significativos en el desplazamiento químico y/o en la forma de las líneas del espectro, cuando se comparan con las de los respectivos homopolímeros. En la ampliación de las Fig. 2 (b) y (c) se comparan los espectros correspondientes a la IPN 30 con un 30 % de *N*-iPAAm y al copolímero P(*N*-iPAAm-co-MAA)(30/70) de composición similar con el espectro resultante de la simple adición de los espectros de los homopolímeros. Se pueden observar diferencias significativas: En primer lugar para el copolímero en la Fig. 2 (b) se aprecia un desplazamiento a campo más bajo de la resonancia del metilo. En segundo lugar, para ambos copolímero e IPN la resonancia del CH<sub>2</sub> de la cadena principal de la *N*-iPAAm disminuye en intensidad, especialmente en el caso del copolímero. La señal de los metinos (el correspondiente a la cadena principal y al grupo lateral de la *N*-iPAAm se encuentran solapados) disminuye en intensidad y se desplaza ligeramente a campo más alto. Y por último, en la Fig. 2 (c) que muestra la región del carbonilo, las señales parecen mostrar una mayor dispersión del desplazamiento químico isotrópico en comparación a los homopolímeros. Todas estas características pueden ser indicativas de la existencia de interacciones entre las dos redes independientes que componen la IPN.

#### 4.3.1.2. <sup>13</sup>C PST MAS RMN

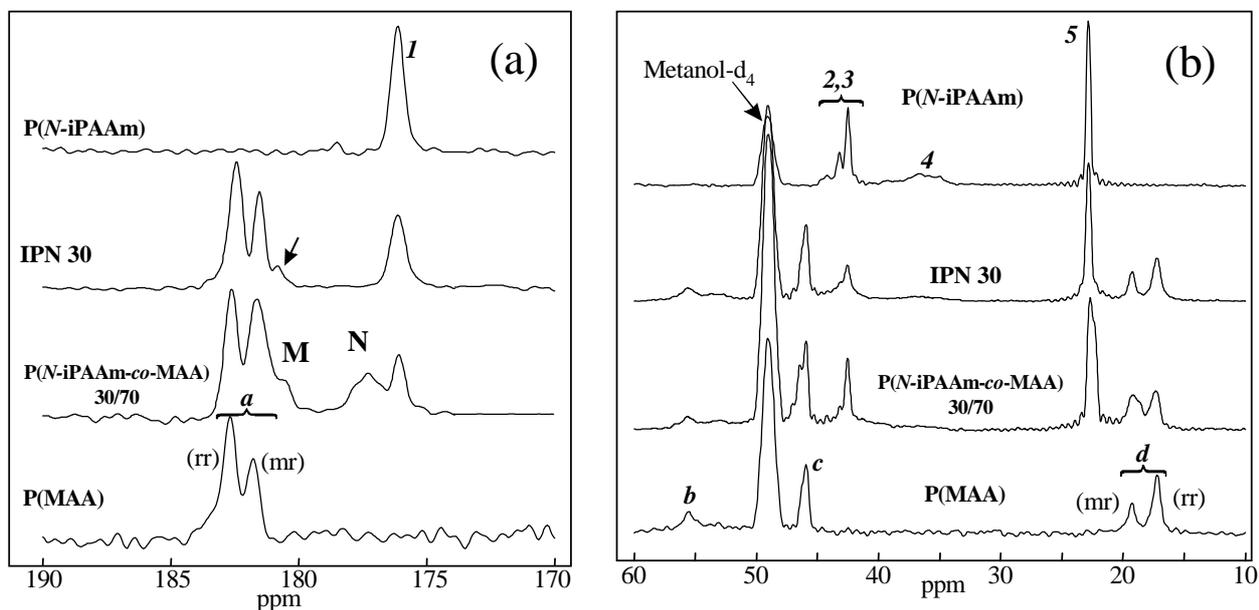
Como ya se describió en la introducción, para obtener información sobre las regiones más móviles del gel se empleó la técnica de transferencia mediante pulsos de saturación <sup>13</sup>C PST MAS RMN. En la Fig. 3 se comparan los espectros obtenidos para los geles de P(*N*-iPAAm) y P(MAA), empleando las distintas técnicas, distintos grados de hinchamiento y/o distintos disolventes. En ambas redes poliméricas la resolución aumenta cuando se miden muestras muy hinchadas en metanol-d<sub>4</sub> por la técnica de PST MAS. Para la P(*N*-iPAAm) se puede apreciar un incremento en la movilidad en el espectro de CP MAS para un grado de hinchamiento del 50 % en peso en D<sub>2</sub>O. Este grado de hinchamiento es insuficiente para conseguir una adecuada relación señal ruido en el espectro de PST MAS, lo que indica que la movilidad del gel está aun muy restringida. En el caso del P(MAA) el hinchamiento del 50 % en peso con D<sub>2</sub>O no aumenta la movilidad de las cadenas, como se demuestra la gran similitud entre los espectros de CP MAS del gel hinchado y el xerogel. Aumentando el grado de hinchamiento en D<sub>2</sub>O no aumenta mucho la resolución del espectro. En cambio si se sustituye el D<sub>2</sub>O por metanol-d<sub>4</sub> se mejora en gran medida la intensidad de las señales y la resolución del espectro. Esto quiere decir que en estas condiciones el metanol se comporta como mejor disolvente del P(MAA) que el agua. Este efecto no se observa en la P(*N*-iPAAm) para la que los espectros en D<sub>2</sub>O y metanol-d<sub>4</sub> son muy similares.



**Figura 3.** Espectros  $^{13}\text{C}$ -RMN de muestras de (a)  $P(N\text{-iPAAm})$  y (b)  $P(\text{MAA})$  obtenidos empleando distintas técnicas de RMN, distinto estado de hinchamiento y/o distintos disolventes, como se indica en la Fig.

En la Fig. 4 se comparan los espectros obtenidos para las redes de  $P(\text{MAA})$  y  $P(N\text{-iPAAm})$ , la IPN 30 y el copolímero 30/70, ambos con un 30 % molar de  $N\text{-iPAAm}$ , hinchados al 90 % (p/p) en metanol- $d_4$ . Las resonancias para la  $P(N\text{-iPAAm})$  fueron asignadas según Zeng et al.<sup>[20]</sup> y Ohta et al.<sup>[14]</sup> y para el  $P(\text{MAA})$  según Yasunaga y Ando.<sup>[21]</sup> El pico a 49.05 ppm corresponde al disolvente. En la Fig. 4 (a) se observa como las señales del C=O y del CH<sub>3</sub> en el  $P(\text{MAA})$  se desdoblan en dos picos a causa de la estereoquímica. Los picos fueron asignados a las secuencias de configuración heterotáctica (C=O (mr) a  $\delta = 181.8$  ppm y CH<sub>3</sub> (mr) a  $\delta = 19.3$  ppm) y sindiotáctica (C=O (rr) a  $\delta = 182.7$  ppm y CH<sub>3</sub> (rr) a  $\delta = 17.2$  ppm). La triada isotáctica, o no aparece, o su intensidad es demasiado baja para poder ser detectada. Yasunaga y Ando<sup>[21]</sup> encontraron que esta triada corresponde al 5.5 % del total para el  $P(\text{MAA})$  sintetizado por vía radical. La tacticidad resultante es mayormente sindiotáctica como también se encontraron Yasunaga y Ando<sup>[21]</sup> para el gel sintetizado por polimerización radical. Las fracciones de las triadas fueron estimadas rr:mr  $\cong$  73:27 % por integración del espectro obtenido. Analizando el espectro de la  $P(N\text{-iPAAm})$ , el pico a campo más bajo fue asignado al carbonilo (C=O a  $\delta = 176.1$  ppm), seguido por el grupo metino de la cadena principal (CH a  $\delta = 43.2$  ppm), el metino de la cadena lateral

(CH a  $\delta = 42.5$  ppm), un pico muy ancho correspondiente al grupo metileno de la cadena principal (CH<sub>2</sub> a  $\delta = 36.6$  ppm) y la resonancia del grupo metilo (CH<sub>3</sub> a  $\delta = 22.8$  ppm). En este caso no pudo apreciarse el efecto de la tacticidad en ninguna de las señales.



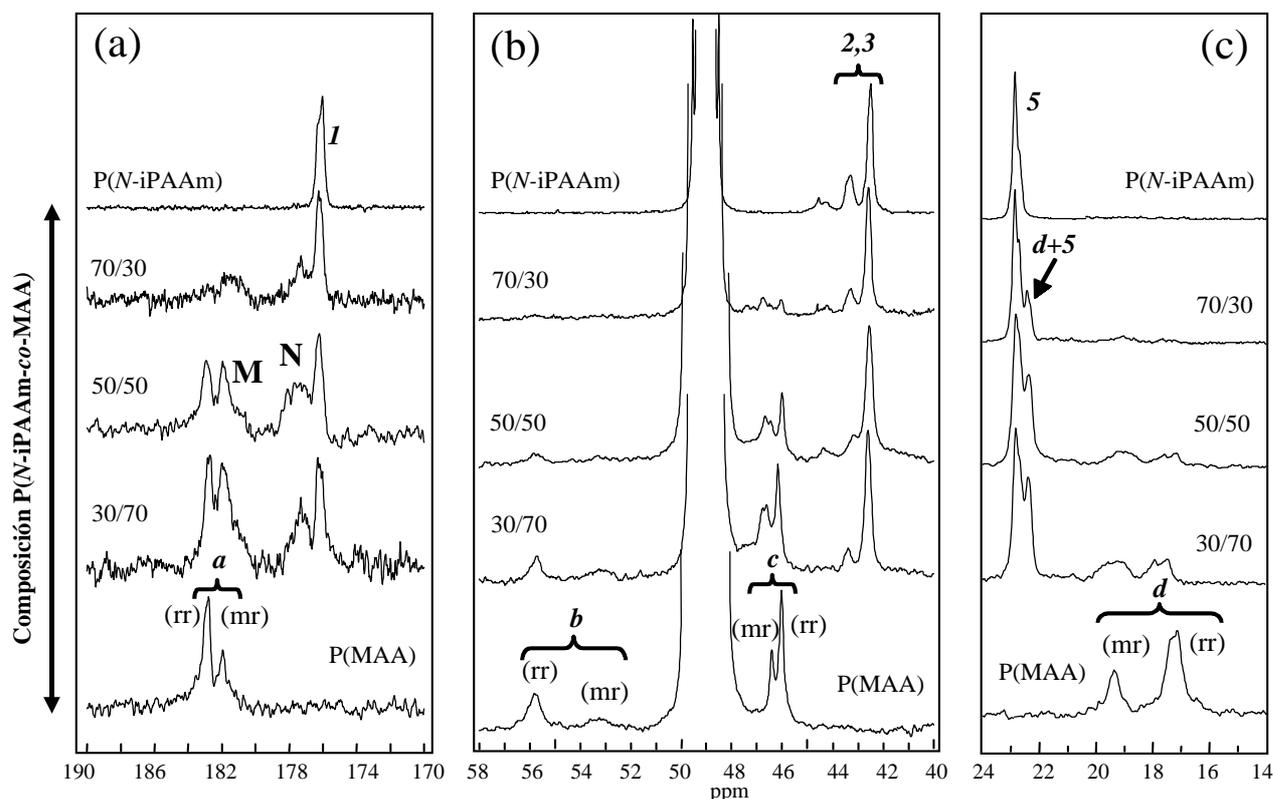
**Figura 4.** Espectros <sup>13</sup>C PST MAS RMN de los geles de P(N-iPAAm) y P(MAA) comparados con los del copolímero 30/70 y la IPN 30 ambos con un 30% molar de N-iPAAm, hinchados metanol-d<sub>4</sub> al 90% (p/p) (a) Región del carbonilo. (b) Región alifática.

En el espectro correspondiente al P(N-iPAAm-co-MAA) con un 30 % molar de N-iPAAm, en la Fig. 4 (a) se observa que la señal de la amida y el ácido carboxílico se dividen en regiones **N** (N-iPAAm) y **M** (MAA) dependiendo del grupo al que se encuentre unido directamente el monómero correspondiente, que cambian en intensidad al modificar la composición del copolímero. En la Fig. 4 (b), la señal del CH<sub>3</sub> de la N-iPAAm se ensancha, y aparece un nuevo pico solapado en la señal CH<sub>3</sub> de la triada mr del MAA. El resto del espectro permanece prácticamente inalterado. Las diferencias entre el espectro de la IPN con un 30 % molar de N-iPAAm y los de los homopolímeros no son tan evidentes y el espectro parece una simple superposición de ambos homopolímeros. Sin embargo analizando cuidadosamente la señal del grupo carbonilo del MAA en la Fig. 4 (a) aparece un pequeño pico a la derecha (señalado con la flecha) que se encuentra ausente en el homopolímero de P(MAA). La región del metino también muestra una disminución en la intensidad que puede ser debida a un ensanchamiento del desplazamiento químico o a un descenso en la movilidad.

#### 4.3.1.3. <sup>13</sup>C-RMN EN DISOLUCIÓN DE POLÍMEROS MODELO

Con el objetivo de identificar las nuevas señales que aparecían en los espectros de PST MAS de los copolímeros entrecruzados se llevó a cabo la síntesis y caracterización por <sup>13</sup>C RMN de homopolímeros y copolímeros lineales con la misma composición. Los espectros obtenidos se muestran en la Fig. 5. El empleo de polímeros lineales en lugar de entrecruzados a mejora la resolución y nos

permiten apreciar que las señales del C=O del grupo amida y el CH<sub>3</sub> de la P(*N*-iPAAm) se dividen en dos señales solapadas. Esta división puede ser el resultado de las triadas sindiotácticas y heterotácticas, ya que la triada isotáctica puede presentar impedimentos estéricos. Igual que en el caso de los copolímeros entrecruzados, en la Fig. 5 (a) se observa como la región del carbonilo se divide en regiones **N** y **M** (como es de esperar en copolímeros al azar). Además, en el caso de los copolímeros lineales, una nueva señal aparece en la región correspondiente al metilo de la P(*N*-iPAAm) en la Fig. 5 (c). Esta señal aumenta en intensidad al aumentar el contenido de MAA en el copolímero y también se ha asociado a los monómeros de *N*-iPAAm unidos directamente a monómeros de MAA. En esta Fig. 5 (c) también se aprecia que señales correspondientes a las triadas mr y rr del CH<sub>3</sub> del MAA se ven apreciablemente afectadas, y en el copolímero ambas señales se encuentran ensanchadas y se modifican sus desplazamientos químicos e intensidades relativas. En la región del carbono cuaternario del MAA, Fig. 5 (b), aparecen nuevas señales y se detecta un nuevo pico a campo más bajo.

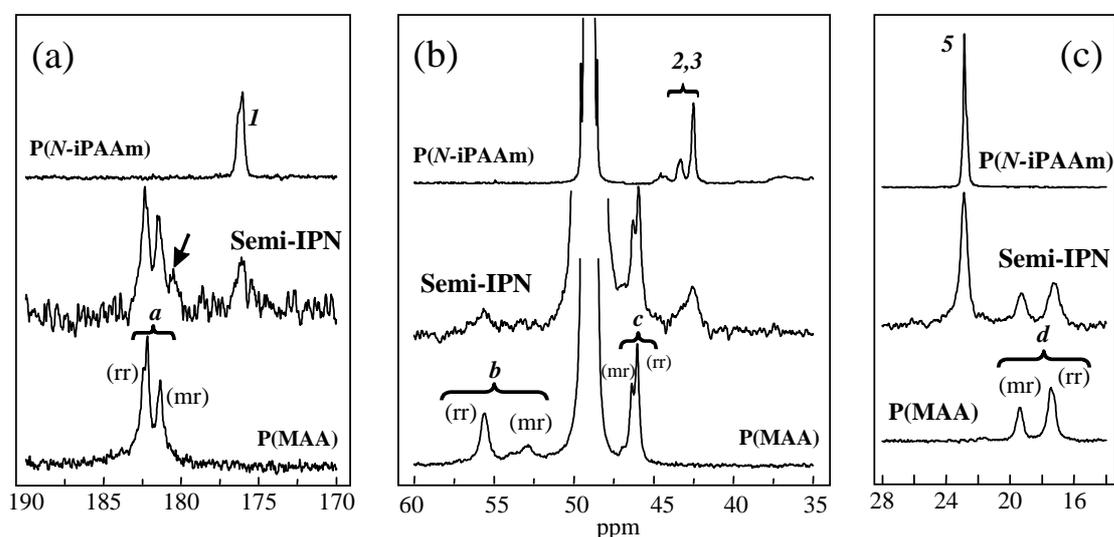


**Figura 5.** Espectros de <sup>13</sup>C-RMN en disolución para muestras sin entrecruzar de P(*N*-iPAAm), P(MAA) y algunos de sus copolímeros (a) Región CO, (b) Región CH<sub>2</sub>, CH, -C-, (c) Región CH<sub>3</sub>.

En el caso de las redes intepenetradas de P(*N*-iPAAm)/P(MAA), se observó experimentalmente que cuando tienen un contenido de *N*-iPAAm superior al 30 %, no se hinchan en disoluciones acuosas ácidas o neutras, pero si se hinchan en etanol y en metanol. Esta característica peculiar puede ser atribuida a la formación de complejos mediante puentes de hidrógeno entre las unidades comonoméricas. Con el fin de profundizar en el origen de este comportamiento se sintetizó una nueva semi-IPN, en la que un

homopolímero lineal de P(*N*-iPAAm) se fotopolimerizó en el interior de una red entrecruzada de P(MAA). Esta semi-IPN presenta las mismas características que sus homologas IPNs entrecruzadas, es decir, no se hincha en agua. Se llevó a cabo una extracción de la P(*N*-iPAAm) lineal en metanol, pero después de permanecer 48 h extrayendo, aproximadamente un 24 % de la P(*N*-iPAAm) continuaba en el interior de la red de P(MAA). Al estudiar la P(*N*-iPAAm) extraída por  $^{13}\text{C}$  RMN en disolución se comprobó que la microestructura era similar a la del polímero sintetizado sin estar en el interior del P(MAA), por lo que las diferencias no podían atribuirse a un cambio de la P(*N*-iPAAm) al sintetizarla en presencia de un molde. Parece lógico pensar que la imposibilidad de extracción de un porcentaje tan alto del P(*N*-iPAAm) se debe a que algún tipo de interacción con el P(MAA) la retiene en su interior.

En la Fig. 6 se compara los espectros de los homopolímeros con el de la semi-IPN con los restos de P(*N*-iPAAm) después de ser extraída. En la región del carbonilo del MAA de la semi-IPN, Fig. 6 (a) aparece un nuevo pico señalado con una flecha. Esta señal también se detectó en el espectro de PST de la IPN con un 30 % molar de *N*-iPAAm, por lo que se ha atribuido a los grupos carbonilo del MAA formando complejos interpoliméricos por puentes de hidrógeno con el grupo amida de la P(*N*-iPAAm). También se aprecia un ensanchamiento de la señal del metilo, Fig. 6 (c), y especialmente de las de los metinos de la P(*N*-iPAAm) en la Fig. 6 (b), lo que indica una restricción en la movilidad del grupo isopropilo en la IPN. Todo esto también puede considerarse indicativo de la interacción por puentes de hidrogeno con la red de P(MAA), que es la que impide a la P(*N*-iPAAm) poder ser extraída.



**Figura 6.** Espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN en disolución de la IPN 6 parcialmente extraída, comparada con los correspondientes homopolímeros. La flecha indica la nueva señal que aparece en las IPNs (a) Región CO. (b) Región  $\text{CH}_2$ , CH,  $-\text{C}-$ . (c) Región  $\text{CH}_3$ .

#### 4.3.2. MOVILIDAD Y ESTADO DEL AGUA EN LOS HIDROGELES

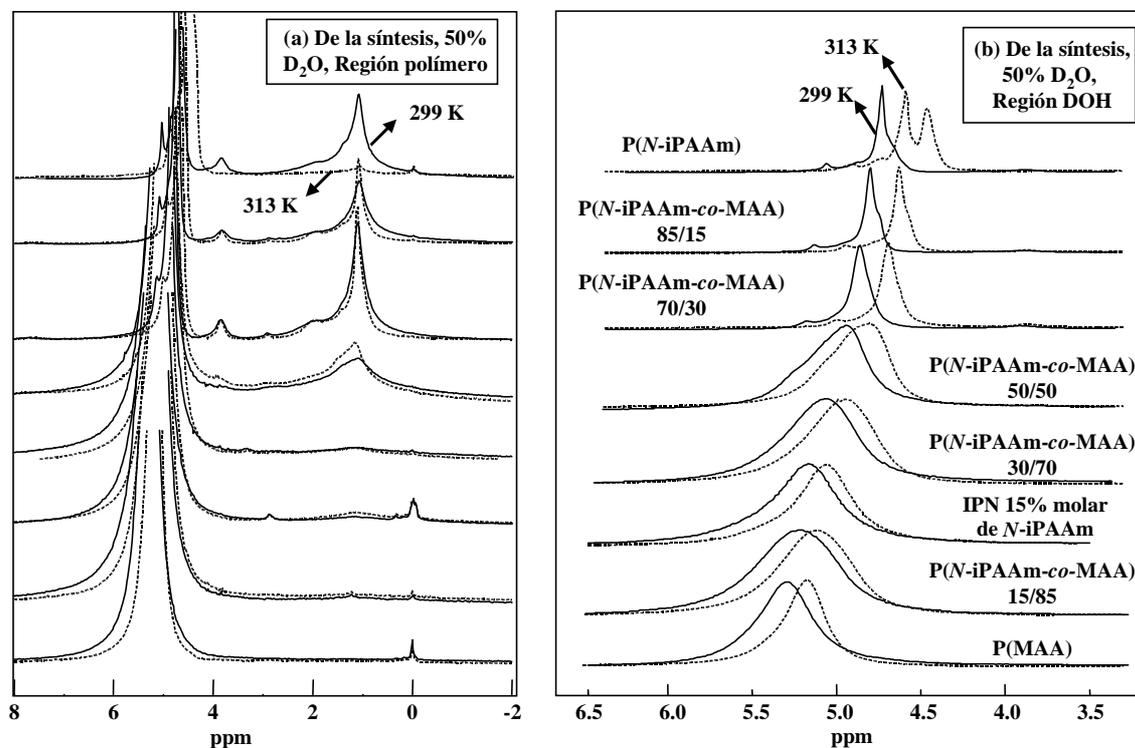
El ensanchamiento de las líneas de protón en los sólidos rígidos es debido fundamentalmente a los acoplamientos dipolares homonucleares. La movilidad molecular promedia estos acoplamientos y de

esta forma reduce la anchura de las líneas. Movimientos cuya velocidad sea superior al acoplamiento dipolar de los protones (50 kHz) pueden ser detectados a través de la reducción del ensanchamiento dipolar estático de las líneas. Este fenómeno ha sido empleado desde hace tiempo para obtener información acerca de los procesos dinámicos en polímeros y otros materiales orgánicos.<sup>[3, 23]</sup> Por ejemplo, ha sido explotado en la espectroscopía de anchura de líneas en protón (Proton Wideline Spectroscopy) para revelar información acerca de la movilidad de los distintos componentes de una mezcla o copolímero.<sup>[24]</sup> En algunos casos, este simple experimento puede proveernos de valiosa información.

En este experimento de  $^1\text{H}$  MAS RMN se estudiaron tanto muestras tal y como se obtuvieron de la síntesis como muestras previamente tratadas a pH 1.2 y a pH 10, hinchadas al 50 % (p/p) en  $\text{D}_2\text{O}$ . En la Fig. 7 se muestran los espectros de  $^1\text{H}$  MAS RMN de las muestras tal y como se obtuvieron de la síntesis, en función de la composición, a una velocidad de rotación de MAS de 5 kHz, a 26°C (299 K) y a 40°C (313 K), por debajo y por encima de la LCST de la P(*N*-iPAAm) respectivamente. Como se puede apreciar en la Fig. 7 (a), al aumentar el contenido de MAA en el copolímero, las líneas tienden a ensancharse, resultando en una pérdida de resolución. Para los geles con un contenido en MAA superior al 50 % molar, la movilidad se encuentra completamente restringida y prácticamente la única línea que se puede detectar en los espectros es la correspondiente al DOH. En la Fig. 7 (b) se muestra una ampliación de la región del agua de estos espectros. En ella se demuestran las diferencias en la movilidad de los hidrogeles examinando la movilidad del agua que contienen mediante la señal de los protones residuales del  $\text{D}_2\text{O}$ . Los hidrogeles de mayor contenido en MAA muestran una señal para el agua muy ancha y homogénea, mientras que en los de mayor contenido en *N*-iPAAm la señal del agua es mucho más estrecha. El máximo del pico del DOH se desplaza de manera continua a campo más bajo al aumentar el contenido en MAA, y el desplazamiento es prácticamente lineal en función de la temperatura. La dependencia del desplazamiento químico con la composición se puede explicar a causa de las diferentes interacciones entre los protones del agua y los grupos de la *N*-iPAAm y el MAA, respectivamente. Se ha propuesto, que la fuerte interacción con el grupo carboxílico del MAA da lugar a un mayor desapantallamiento que la interacción con el grupo amida. También es importante resaltar que el desplazamiento de la resonancia del agua en la IPN con un 15 % molar de *N*-iPAAm es similar a la del copolímero de la misma composición, lo cual indica que la posición del agua depende de forma predominante de la relación *N*-iPAAm/MAA. La aparición de una única señal para la IPN nos indica que no tiene lugar separación de fases para esta muestra.

La  $^1\text{H}$  RMN, se puede emplear para estudiar la transición termorreversible en la P(*N*-iPAAm).<sup>[25-27]</sup> Por regla general, por encima de la LCST se observa un ensanchamiento de todas las señales de RMN.<sup>[20]</sup> Si observamos el espectro de la *N*-iPAAm en la Fig. 7 (a), a 313 K se aprecia una pérdida de resolución en la región correspondiente al polímero, a causa de una mayor restricción en la movilidad. Al observar la zona del agua en la Fig. 7 (b) se aprecia una división de la señal en dos picos. Este proceso

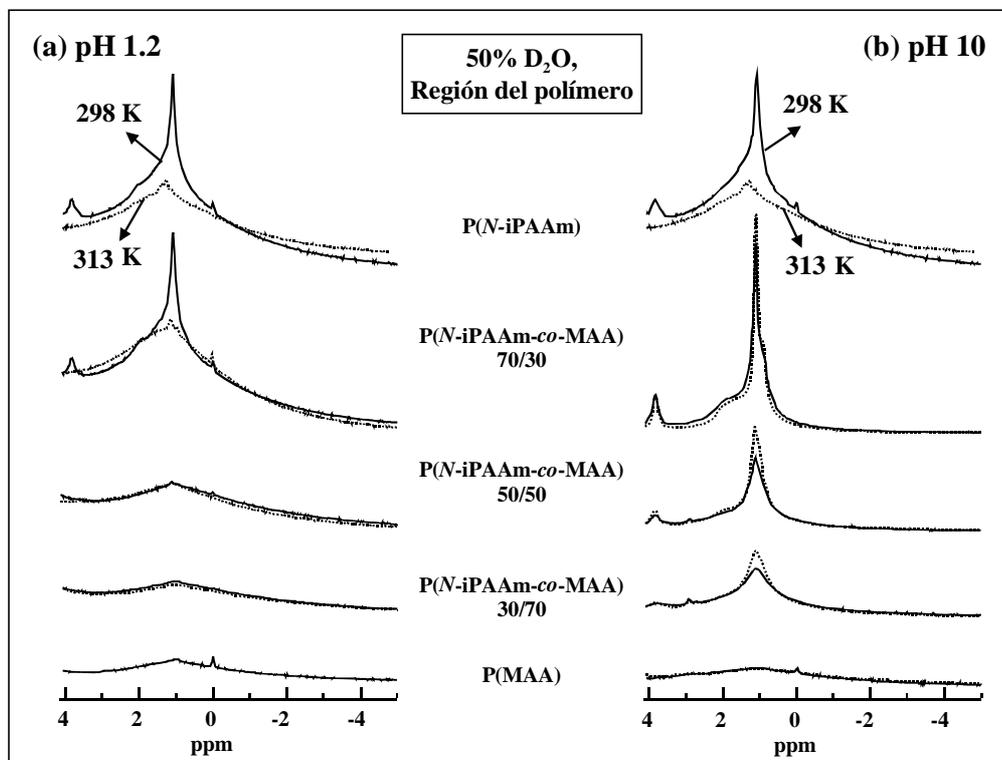
será estudiado en mayor detalle más adelante. Ni en los copolímeros ni en la IPN aparece ningún signo de la LCST en estas condiciones.



**Figura 7.** Espectros de  $^1\text{H}$  MAS NMR de muestras de geles  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$ ,  $P(\text{MAA})$ , sus copolímeros y la IPN con un 15 % molar de  $N\text{-}i\text{PAAm}$ , hinchadas al 50 % (p/p) en  $\text{D}_2\text{O}$  a 299 y 313 K con una velocidad de MAS de 5 kHz. (a) Región del polímero; (b) Región del DOH.

Debido a que estas muestras contienen grupos carboxílicos cuyo grado de ionización varía en función del pH del medio se decidió ensayar las muestras totalmente protonadas o totalmente ionizadas. En la Fig. 8 se compara la región del polímero de los espectros de  $^1\text{H}$  MAS obtenidos en muestras que habían sido previamente sometidas a pH 1.2 y a pH 10 y secadas, hinchadas en  $\text{D}_2\text{O}$  y medidas a 298 K y a 313 K, para las muestras rotadas a 10 kHz. Como se observó en el caso anterior, a 25°C (298 K), tanto en las muestras colapsadas a pH 1.2 como en las muestras expandidas a pH 10, al aumentar el contenido en MAA del copolímero las señales se ensanchan dando lugar a la pérdida de resolución. En las muestras a pH 1.2, con un contenido en MAA por encima del 50 % molar, la movilidad del polímero se encuentra completamente restringida. La resolución mejora en gran medida el caso de los copolímeros a pH 10 y se puede detectar la señal alquílica ( $\sim 1$  ppm) y la señal de CH del grupo isopropilo de la  $N\text{-}i\text{PAAm}$  ( $\sim 3.8$  ppm) en todos ellos. En el caso del copolímero con un 70 % molar de  $N\text{-}i\text{PAAm}$ , que es el que presenta mejor resolución, hasta es posible detectar un hombro correspondiente a las señales de la cadena principal ( $\sim 2$  ppm). Todo ello demuestra un marcado incremento en la movilidad de los copolímeros al aumentar el grado de ionización. Por el contrario, este cambio en la movilidad con el pH no es tan evidente al estudiar el homopolímero de PMAA. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos por

Muroga et al.<sup>[28]</sup> que encontraron que la forma colapsada del P(MAA) pasaba a un ovillo al azar expandido al aumentar el pH de la muestra, sin que hubiera un cambio significativo en la flexibilidad de la cadena.



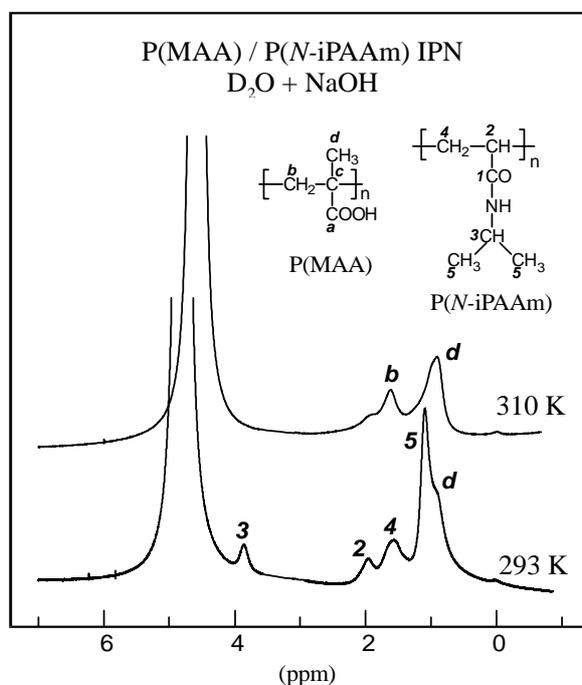
**Figura 8.** Región del polímero de los espectros de  $^1\text{H}$  MAS NMR de geles  $P(N\text{-iPAAm})$ ,  $P(\text{MAA})$ , y sus copolímeros hinchados al 50% (p/p) en  $\text{D}_2\text{O}$  a 298 y 313 K con una velocidad de MAS de 10 kHz. Muestras previamente tratadas a (a) pH 1.2. (b) pH 10.

Al aumentar la temperatura a  $40^\circ\text{C}$  (313 K) en las muestras previamente tratadas a pH 10 tan sólo se detecta la LCST en el caso del homopolímero de  $P(N\text{-iPAAm})$ . Como ya se vio anteriormente, se aprecia una marcada pérdida de resolución por el ensanchamiento de la señal debido a restricciones en la movilidad de la muestra. En cambio, en los copolímeros tiene lugar un incremento en la resolución para todas las composiciones. A pH 1.2 la baja resolución de las muestras de mayor contenido molar de MAA no permite apreciar cambios significativos al aumentar la temperatura. Sin embargo para el copolímero con un 70 % molar de  $N\text{-iPAAm}$ , si que se observa una pérdida de resolución al aumentar la temperatura, al igual que sucede en el homopolímero de  $N\text{-iPAAm}$ , lo que indica que para esta composición y en estas condiciones si tiene lugar la transición de fase.

En general, en el caso de los copolímeros, la adición de monómeros hidrofílicos a un gel de  $P(N\text{-iPAAm})$  aumenta su LCST ya que estos monómeros impiden la deshidratación de las cadenas poliméricas y tienden a expandir la estructura colapsada.<sup>[29]</sup> Además, la introducción de monómeros iónicos en la estructura acomoda una contribución osmótica adicional al hinchamiento.<sup>[30]</sup> El balance entre las

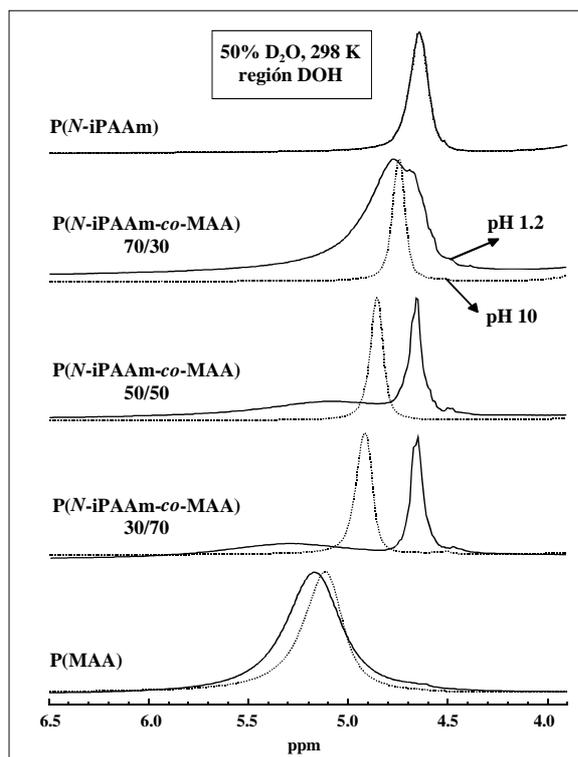
interacciones contrapuestas (atractiva hidrofóbica y repulsiva electrostática) puede ser controlado a través del pH, la fuerza iónica y la temperatura, por lo que las variaciones en estos parámetros dan lugar al complejo comportamiento macroscópico de los hidrogeles. En el caso de los geles de mayor contenido en *N*-iPAAm en estado ionizado, su mayor hidrofilia junto con las fuertes fuerzas de repulsión electrostática impiden el colapso del gel.<sup>[30]</sup> Por el contrario, cuando los comonómeros de MAA se encuentran protonados, disminuye la hidrofilia y es posible observar la LCST en estos hidrogeles.

En la Fig. 9 se presenta un espectro de <sup>1</sup>H-RMN de líquidos de una muestra de la IPN con un 30 % molar de *N*-iPAAm hinchada en una disolución de D<sub>2</sub>O y NaOH a pH 11 a 293 (20) y 310 K (37°C) respectivamente. La termosensibilidad tiene una interpretación más sencilla en el caso de las redes interpenetradas. Esta muestra no se hinchaba prácticamente nada en agua destilada, pero en medio muy básico se observa como a 293 K las señales de protón correspondientes a ambos homopolímeros pueden ser apreciadas con claridad. Esto indica un aumento en la movilidad de las cadenas que da lugar a una mejora en la resolución, igual que sucedía en el caso de los copolímeros. Cuando la temperatura aumenta por encima de la LCST, las señales correspondientes al homopolímero de P(*N*-iPAAm) desaparecen debido a una gran pérdida de movilidad mientras que las señales del P(MAA) no se ven afectadas por la transición. Todos estos hechos podrían ser interpretados como una rotura en medio muy básico de los complejos interpoliméricos que forman ambas redes por interacciones entre ambos monómeros. Al quedar libre de su interacción, la red independiente de P(*N*-iPAAm) recupera su termosensibilidad original, mientras que la red independiente de P(MAA) no se ve afectada por la temperatura.



**Figura 9.** Espectros de <sup>1</sup>H NMR de líquidos de la IPN 30 con un 30 % molar de *N*-iPAAm hinchada en una disolución de D<sub>2</sub>O a pH 11 a 293 y 313°C respectivamente.

En la Fig. 10 se comparan los espectros en la región de la resonancia de los protones residuales del D<sub>2</sub>O a 298 K (25°C) para las muestras a pH 1.2 y a pH 10 en función de la composición del gel. En el caso del homopolímero de *N*-iPAAm no se aprecia ninguna diferencia ya que no se ve afectado por el pH del medio. El P(MAA) muestra tan sólo un ligero desplazamiento a campo más bajo y un pequeño ensanchamiento de la señal al pasar los grupos carboxílicos del estado ionizado (pH 10) al estado protonado (pH 1.2). En cambio en los copolímeros se producen cambios significativos para todas las composiciones.

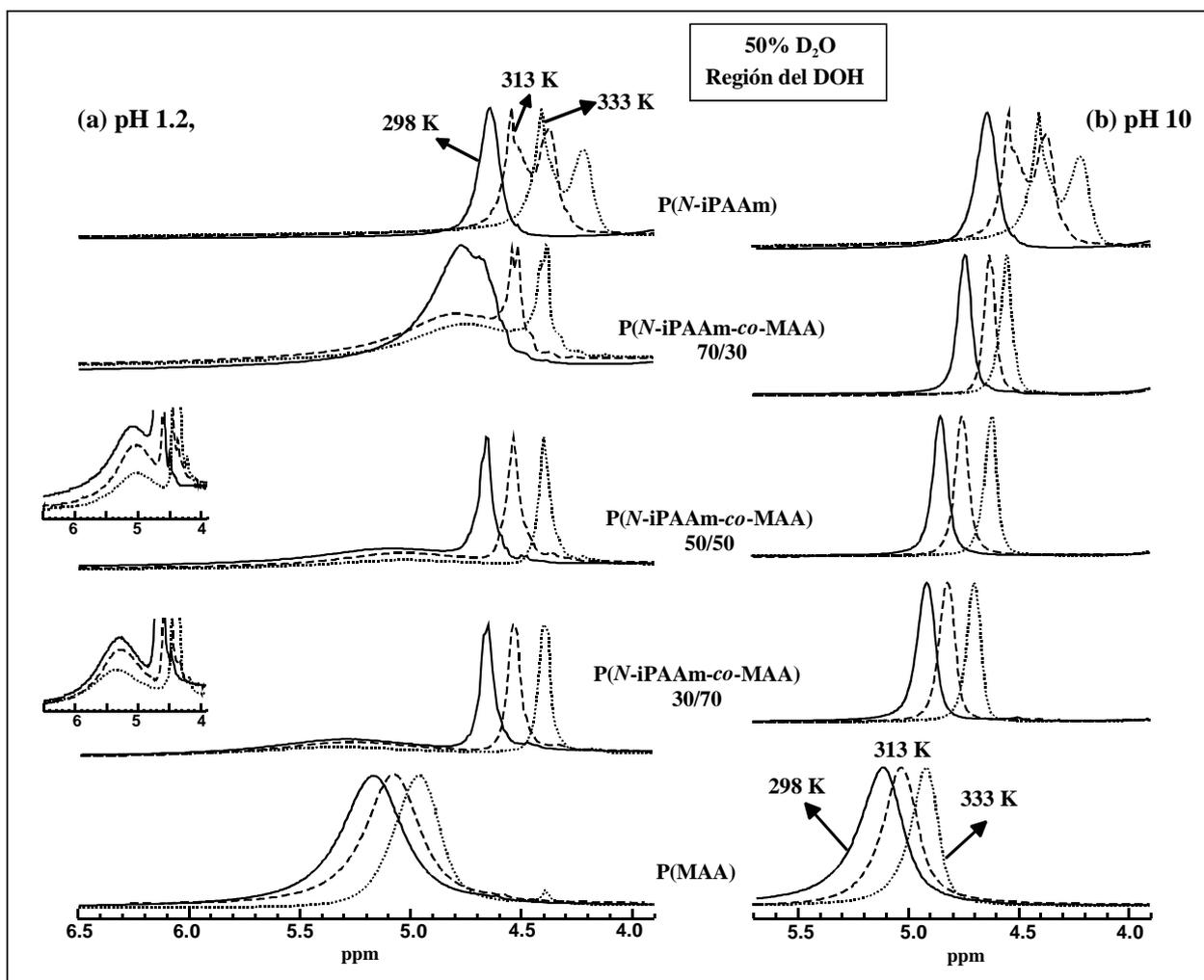


**Figura 10.** Región del agua de los espectros de <sup>1</sup>H MAS NMR de geles P(*N*-iPAAm), P(MAA), y sus copolímeros previamente tratadas a pH 1.2 y a pH 10 y secadas, hinchadas en al 50 % en D<sub>2</sub>O a 298 K, con una velocidad de MAS de 10 kHz.

Igual que en las muestras parcialmente ionizadas (Fig. 7(b)), a pH 10 la señal del agua se va desplazando a campo más bajo a medida que aumenta la concentración molar de MAA. Por el contrario, en este caso no se aprecian diferencias significativas en la anchura de las señales que en cualquier caso son más estrechas que para el P(MAA) lo que también indica mayor movilidad. En los espectros de los copolímeros a pH 1.2 se pueden observar dos señales diferentes en la región del DOH, una de ellas estrecha y otra mucho más ancha a campo más bajo. El desplazamiento químico de la señal estrecha a campo más alto no se ve afectado por la composición y corresponde, aproximadamente, al  $\delta$  de la señal del agua pura (4.65 ppm a 25°C) que se emplea como referencia. Por el contrario, la señal a campo más bajo se ve afectada en gran medida por la composición, e igual que en el caso de las muestras a pH 10 se desplaza a campo más bajo a medida que aumenta el contenido de MAA en la muestra, sin embargo este

efecto es mucho más marcado en el caso de las muestras a pH 1.2. La señal del agua para las muestras a pH 10 se sitúa en todos los casos de manera intermedia a los desplazamientos químicos de las dos señales obtenidas para las muestras a pH 1.2.

En la Fig. 11 (a) y (b) se muestra el efecto de la temperatura en estos espectros. En la Fig. 11 (b) se muestra la región del agua de los espectros de muestras ionizadas a pH 10. Igual que sucedía en las muestras parcialmente ionizadas (de la síntesis, Fig. 7(b)), se aprecia un desplazamiento prácticamente lineal a campo más alto de la señal del agua al aumentar la temperatura. Este aumento en la temperatura no parece afectar demasiado a la anchura de la señal de los copolímeros pero sí en el caso de los homopolímeros. En la P(*N*-iPAAm) la señal se desdobra claramente en dos picos al pasar la LCST. En el homopolímero de P(MAA) tiene lugar un ligero estrechamiento de la señal al aumentar la temperatura, probablemente debido a un aumento en la movilidad de las cadenas poliméricas que se refleja en el estado del agua. Este efecto no se observa tan claramente para ninguna de las muestras de los copolímeros.



**Figura 11.** Región del DOH de los espectros de  $^1\text{H}$  MAS NMR en función de la temperatura de geles P(*N*-iPAAm), P(MAA), y sus copolímeros previamente sometidos (a) pH 1.2, (b) pH 10 y secados, hinchados al 50 % en  $\text{D}_2\text{O}$  con una velocidad de MAS de 10 kHz.

En la Fig. 11 (a) se muestra la misma región de los espectros y a las mismas temperaturas para las muestras previamente tratadas a pH 1.2. En ambos homopolímeros, el efecto de la temperatura es similar al de las muestras ionizadas. Por el contrario, las dos señales para el agua que aparecen en el espectro de los copolímeros se comportan de forma diferente. La señal más estrecha independiente de la composición y a campo más alto, se va desplazando progresivamente a la derecha al ir aumentando la temperatura. Se puede comprobar que este pico aparece aproximadamente al mismo desplazamiento químico en los tres copolímeros a cada temperatura. Por el contrario, la temperatura no parece tener ningún efecto en el pico ancho dependiente de la composición a campo más bajo, ya que su máximo aparece al mismo desplazamiento químico para todas las temperaturas estudiadas. Las únicas diferencias en la forma e intensidad del pico al aumentar la temperatura son debidas al desplazamiento del pico estrecho que hace que las dos señales no se solapen. En el caso del copolímero con un 70 % molar de *N*-iPAAm se comprueba que la ancha señal que aparece a 298 K corresponde al solapamiento de ambos picos, que se van separando a medida que el pico estrecho se desplaza a campo más alto. En esta muestra, al estudiar la región del polímero (Fig. 8) se observó que se producía una pérdida de resolución al aumentar la temperatura indicativa de la LCST. Al estudiar la región del agua sólo se puede apreciar la división del pico más estrecho en dos picos solapados como ocurre en la P(*N*-iPAAm) pero con una diferencia en el desplazamiento químico mucho menor.

El desplazamiento de la señal del agua a campos más altos al aumentar la temperatura se encuentra descrito anteriormente en la literatura,<sup>[27, 31]</sup> y se ha atribuido la variación de los puentes de hidrógeno del agua. La aparición de más de un pico para la señal de <sup>1</sup>H del agua puede ser interpretada como la presencia de diferentes poblaciones de agua en el gel. Así ha sido interpretado anteriormente por Calderara et al.,<sup>[32]</sup> que observaron dos grupos de señales en la región de resonancia del agua en el espectro <sup>1</sup>H MAS de un hidrogel copolímero de metilmetacrilato (MMA) y *N*-vinil-2-pirrolidona (NVP). Un grupo de señales estrechas y bien resueltas a campo más bajo, se atribuyó al agua libre, mientras que otro grupo de señales con valores de  $T_2$  más cortos, fue asignado a moléculas de agua interactuando fuertemente con la estructura polimérica.<sup>[32]</sup> La interacción entre el agua y las unidades comonoméricas de NVP se interpretó como una interrupción de la red del agua a través de la ruptura de puentes de hidrógeno.<sup>[32]</sup> En nuestro caso, para las muestras a pH 1.2 se puede apreciar un efecto similar. La fuerte interacción con el MAA tiene un efecto muy desapantallante en la resonancia del agua, que correspondería a la señal ancha a campo más bajo, como demuestra el efecto de la composición en el desplazamiento químico de esta señal. La resonancia estrecha a campo más bajo correspondería al agua libre, con una interacción mucho menor con la estructura polimérica. Según esta posible interpretación, el agua de interacción con el polímero se encuentra de alguna forma aislada del agua libre en las muestras a pH 1.2, o bien el intercambio con el agua libre es muy lento porque los puentes de hidrógeno son muy estables, como demuestra el hecho de que esta señal no se vea afectada por la temperatura. Pero no es sólo el efecto del MAA, porque en el homopolímero el agua no se comporta como en los copolímeros. En el caso de las muestras ionizadas, estas señales no parecen estar aisladas, esto explicaría la aparición de

una única señal, que sí se ve afectada tanto por la composición como por la temperatura. Y en las muestras parcialmente ionizadas, podría interpretarse una coexistencia de los dos tipos de señales (agua de interacción en contacto con el agua libre y agua libre) que se solapan, lo que podría explicar las diferencias encontradas en la anchura de los picos. Continuando con esta posible interpretación, la interacción con la unidad comonomérica de *N*-iPAAm tendría un efecto más apantallante en la señal del agua.

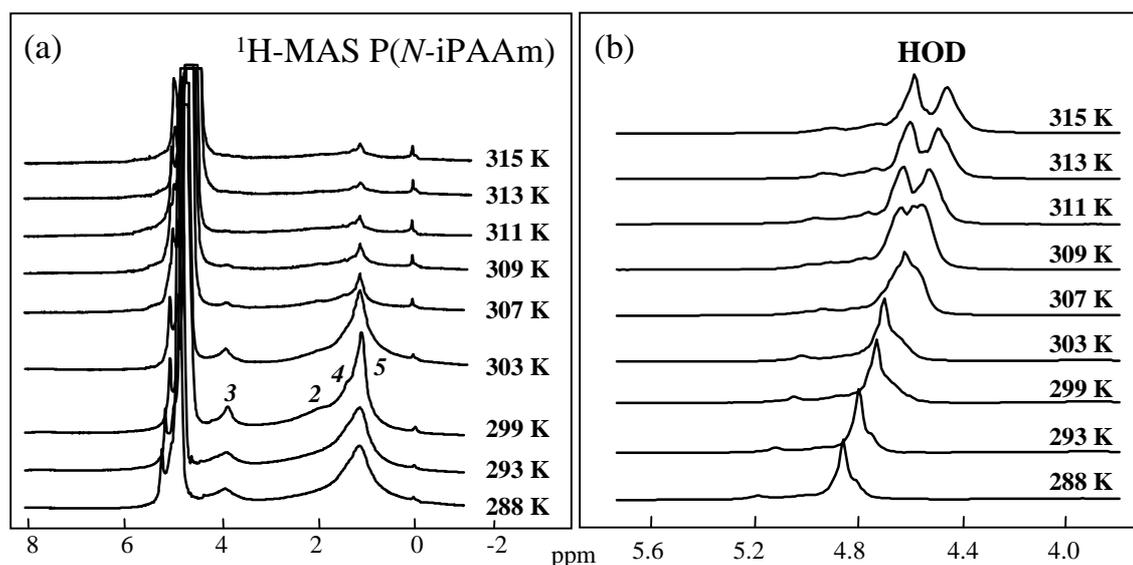
#### 4.3.3. *N*-ISOPROPILACRILAMIDA: ESTRUCTURA Y LCST

El hecho de presentar grupos amida hidrofílicos e isopropilo hidrofóbicos en su cadena lateral hace que la P(*N*-iPAAm) sea un polímero soluble tanto en agua, a temperatura ambiente, como en disolventes orgánicos de baja polaridad. Además la transición de fase que sufren los geles en respuesta a ligeros cambios en la temperatura o en la composición del disolvente, hacen de él un material muy interesante.<sup>[33]</sup> Se sabe que los geles de P(*N*-iPAAm) hinchados en agua sufren una transición de fase inducida por la temperatura con una temperatura inferior crítica de hinchamiento (LCST) de aproximadamente 34°C. Se considera que es un fenómeno controlado por el balance de grupos laterales hidrofóbicos e hidrofílicos en la cadena polimérica, dirigido por una entropía negativa de mezclado. Además la dependencia con la temperatura de ciertas interacciones moleculares, como los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas, contribuye a esta separación de fase.<sup>[29]</sup> A la LCST los puentes de hidrógeno entre el polímero y el agua se vuelven desfavorables con respecto a las interacciones polímero-polímero y agua-agua por lo que el gel hidratado, hidrofílico y transparente expulsa gran cantidad de agua y cambia a una estructura más hidrofóbica, dura y opaca.<sup>[29]</sup> A pesar de la gran cantidad de estudios dedicados a este tema, los factores que controlan y explican este comportamiento, no están aún del todo claros.<sup>[20, 21, 26, 33]</sup> Intentar explicar la naturaleza de los cambios que tienen lugar en la estructura de la *N*-iPAAm responsables de la transición, puede ayudar a explicar las propiedades que confiere a los copolímeros o IPNs en los que se encuentra implicado. Por ello se llevó a cabo un estudio exhaustivo del homopolímero de *N*-iPAAm empleando las distintas técnicas de RMN descritas.

En la Fig. 12 se muestra la dependencia con la temperatura de la resonancia de protón del homopolímero entrecruzado de *N*-iPAAm de 15 a 42°C (288-315 K). En la Fig. 12 (a) se muestra la región de las señales de resonancia del polímero. El espectro mejor resuelto se obtiene a 26°C (299 K). A la temperatura de 34°C (307 K) se observa un marcado descenso en intensidad de las líneas de resonancia de <sup>1</sup>H, debido a un gran descenso en la movilidad del gel al pasar la temperatura de transición. Este valor de LCST es similar a los valores encontrados en la literatura,<sup>[33]</sup> y a los obtenidos en los experimentos de hinchamiento y de DSC.

Como se vio anteriormente, el comportamiento del agua en el hidrogel puede ser estudiado observando el desplazamiento químico de la señal del pico de los protones residuales del D<sub>2</sub>O, así como su anchura. En la Fig. 12 (b) se aprecia como la señal de resonancia del agua (~5 ppm) se desplaza a

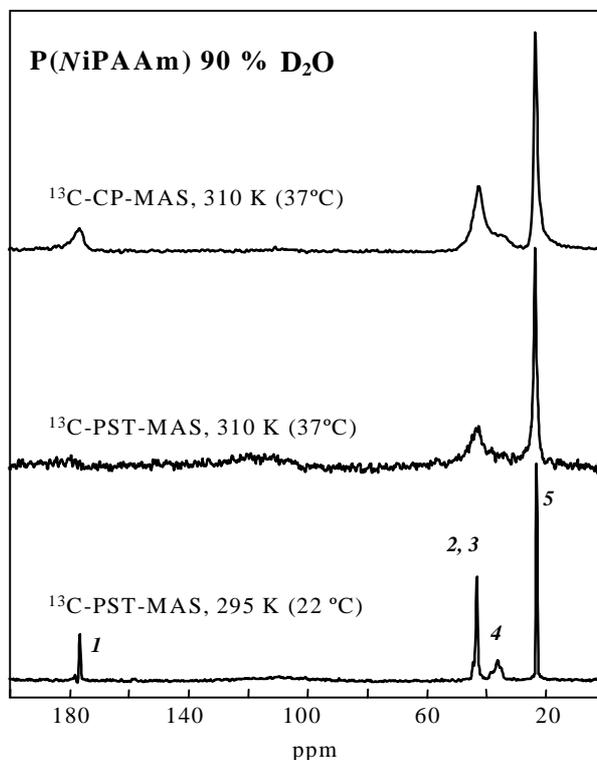
campo más alto a medida que aumenta la temperatura. Al estudiar en detalle esta señal, se aprecia la existencia de distintos picos solapados. En el apartado anterior la aparición de varios picos para la señal del agua se atribuyó a la existencia de distintas poblaciones de agua en el gel,<sup>[32]</sup> y la forma y el desplazamiento químico de las señales que generan depende del tipo de interacción entre ambos. En la Fig. 12 (b) se observa como el pico del agua se divide en dos, al aumentar la temperatura por encima de la LCST, lo que indica que no sólo las cadenas del polímero se ven afectadas durante la LCST, sino que también el comportamiento del agua se modifica de manera significativa. Todo ello demuestra el importante papel que la interacción agua-polímero presenta en la transición de fase.<sup>[33]</sup> Al contrario de lo que sucedía con los dos picos que se detectaban en los copolímeros colapsados, ambos picos presentan un desplazamiento similar a campo más alto a medida que aumenta la temperatura. El desplazamiento químico de todas las señales aparecidas para el agua en la P(*N*-iPAAm) se encuentra en un campo más alto cuando se compara con el del P(MAA) y los copolímeros, lo que podría interpretarse como un efecto más apantallante de la interacción de la *N*-iPAAm con el agua. Se realizaron experimentos de doble cuanto (DQ) en las muestras hinchadas en D<sub>2</sub>O anterior y posteriormente a la LCST pero no aportaron información adicional, aparte de un aumento en la sensibilidad de la técnica por encima de la LCST, debido a las restricciones en la movilidad molecular, que aumentan los acoplamientos dipolares.



**Figura 12.** Espectros de <sup>1</sup>H RMN MAS en función de la temperatura de un gel de P(*N*-iPAAm) hinchado al 50 % en D<sub>2</sub>O (a) Región del polímero. (b) Región del agua.

Esto se puede comprobar también en la Fig. 13 que muestra el efecto de la temperatura en los espectros de <sup>13</sup>C RMN MAS de una muestra de *N*-iPAAm hinchada al 90 % en D<sub>2</sub>O a 295 y 310 K (22 y 37°C). La resolución del espectro a 295 K es muy buena mediante la técnica de PST, mientras que la movilidad molecular no permite la obtención de espectros por CP para esta muestra en estas condiciones. Cuando la temperatura se eleva por encima de la LCST el espectro PST pierde resolución e intensidad. El pico correspondiente al carbonilo de la amida desaparece, y los picos del CH<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub> se ensanchan,

aunque este efecto es menos pronunciado de lo que habían descrito anteriormente Zeng et al.<sup>[20]</sup> por RMN de líquidos. El ensanchamiento de esta señal se ve reducido en nuestro caso debido al empleo de MAS. La desaparición de algunos picos puede ser debida a la gran reducción en la movilidad molecular, que da lugar a una reducción del efecto NOE. A esta temperatura la rigidez de la muestra colapsada da lugar a una excelente resolución en el espectro CP MAS.

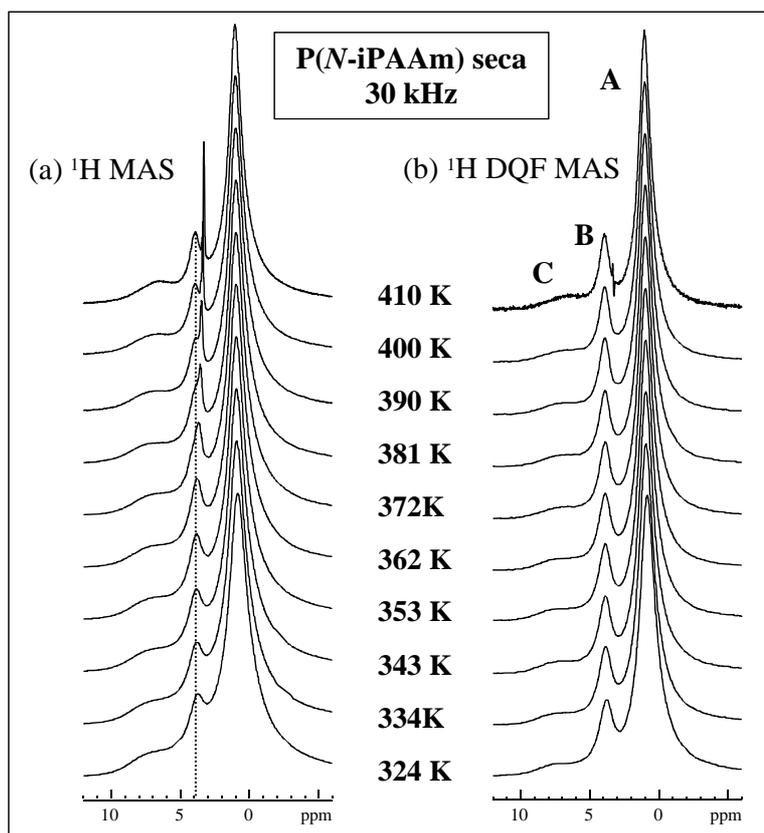


**Figura 13.** Efecto de la temperatura en los espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN MAS de un gel de  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$  hinchada al 90 % (p/p) en  $\text{D}_2\text{O}$  (a)  $^{13}\text{C}$  PST MAS a 295 K, (b)  $^{13}\text{C}$  PST MAS a 310 K, (c)  $^{13}\text{C}$  CP MAS a 310 K.

En la Fig. 14 se muestran los espectros  $^1\text{H}$  MAS y  $^1\text{H}$  DQF MAS obtenidos para una muestra de  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$  seca en función de la temperatura. En los espectros DQF se aplicó la secuencia BABA de reacoplamiento durante dos periodos de rotación para excitar y recuperar las coherencias  $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$  de doble cuanto. El pico a campo más alto ( $\sim 1$  ppm, A) corresponde al solapamiento de las señales de los metilos del grupo isopropilo lateral y el metino y el metileno de la cadena principal. El pico a  $\sim 3.8$  ppm (B) corresponde al metino del grupo isopropilo, y la ancha señal a 7 ppm (C) se asignó al protón del grupo amida. En los espectros  $^1\text{H}$  MAS, se observa como de forma gradual a partir de 372 K aparece una señal muy fina a 3.3 ppm, que va aumentando su intensidad al aumentar la temperatura. Los desplazamientos químicos de todos los grupos permanecen inalterados medida que aumenta la temperatura, excepto el de este fino pico a 3.3 ppm que se va desplazando a campo más alto. La anchura de la señal a 7 ppm nos permite sugerir una muy baja movilidad para el protón de la amida, mientras que la señal a 3.3 ppm sea tan estrecha es indicativo de una gran movilidad. Esto también se demuestra en los espectros  $^1\text{H}$  DQF MAS donde la señal a 3.3 ppm se filtra. La movilidad molecular promedia los acoplamiento dipolares

homonucleares, y por ello reduce la anchura de la señal en el espectro  $^1\text{H}$  MAS y filtra señales muy móviles en el espectro  $^1\text{H}$  DQF MAS.

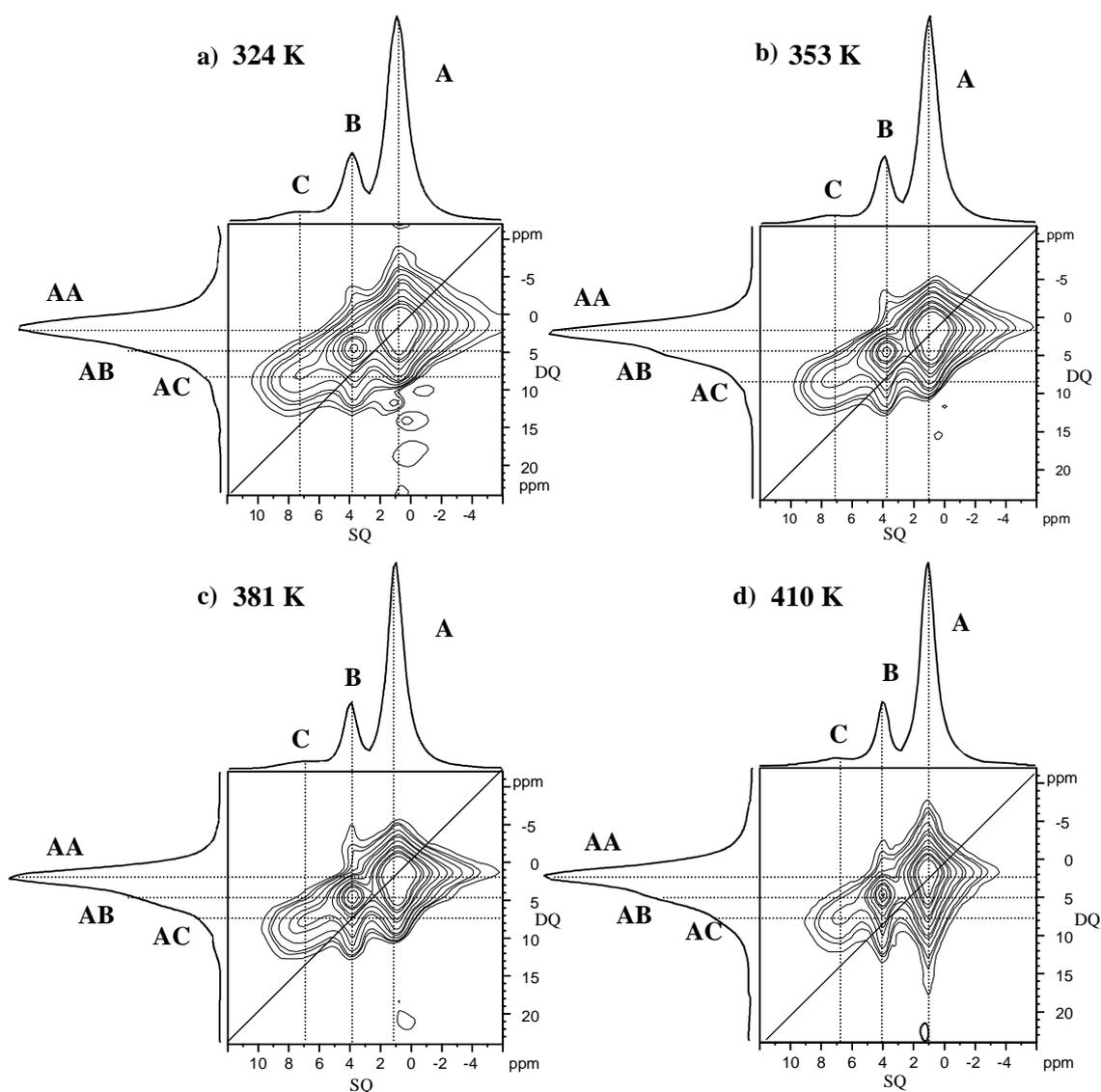
En la Fig. 15 se muestra la dependencia con la temperatura de los espectros 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS para una muestra seca. Se puede observar un amplio pico en la diagonal para la señal alquílica a  $\sim 1$  ppm (AA) y picos de correlación para una coherencia de doble cuanto entre esta señal y las otras dos señales del grupo isopropilo lateral (AB metino  $\sim 3.8$  ppm y AC amida  $\sim 7$  ppm). Los picos de correlación debidos a una coherencia DQ metino-amida (BC) se encuentran probablemente solapados con la intensa señal alquílica. Al aumentar la temperatura se mejora la resolución del espectro por el aumento en la movilidad de las cadenas al acercarse a la  $T_g$ . Aparte de esto no se aprecian otros efectos significativos de la temperatura en los espectros. Estos mismos experimentos fueron llevados a cabo en una muestra de P(*N*-iPAAm) colapsada por encima de la LCST y secada a esta temperatura, pero no pudieron apreciarse diferencias significativas con los espectros mostrados en la Fig. 15.



**Figura 14.** Espectros (a)  $^1\text{H}$  MAS RMN y (b)  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto, en función de la temperatura para una muestra de P(*N*-iPAAm) seca, con una velocidad de MAS de 30 kHz.

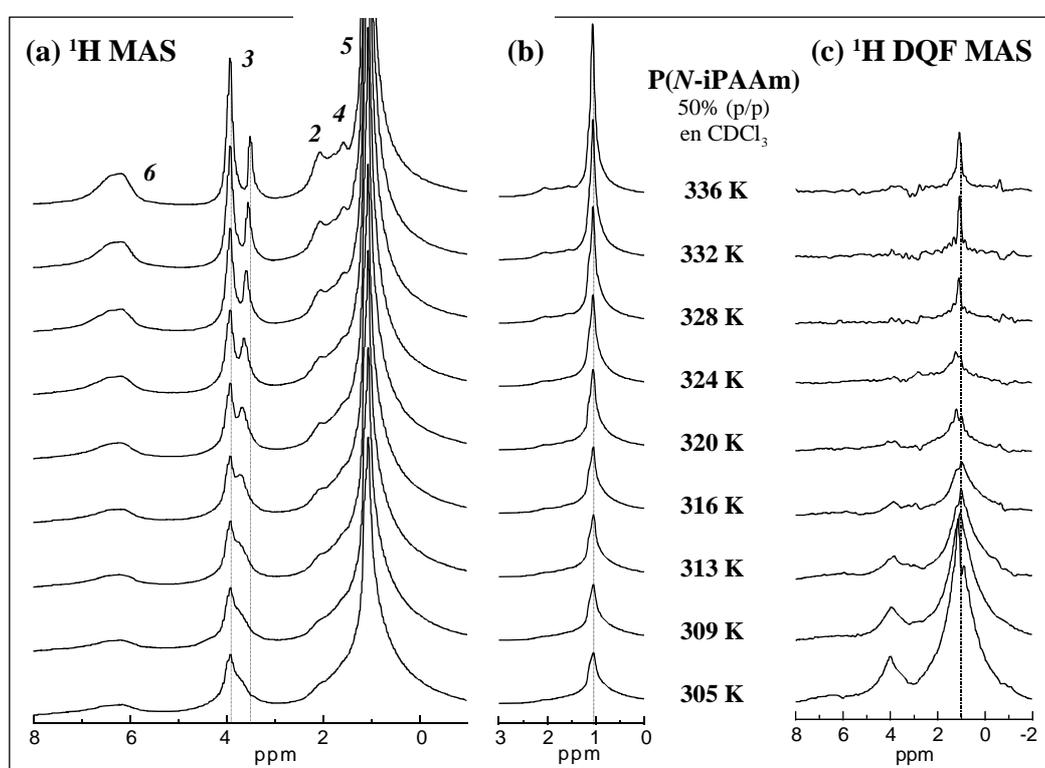
En la Fig. 16 (a) y (b) se muestra la dependencia con la temperatura de una serie de espectros de  $^1\text{H}$  MAS y en la 16 (c) la de los espectros de  $^1\text{H}$  DQF MAS en los que se aplicó la secuencia de reacoplamiento BABA durante un periodo de rotación, para una muestra de P(*N*-iPAAm) hinchada al 50 % en peso en  $\text{CDCl}_3$ . La LCST de la P(*N*-iPAAm) sólo tiene lugar en presencia de agua por lo que

empleando otro disolvente se puede estudiar el efecto de la temperatura en las muestras, sin que tenga lugar el colapso del gel, y la pérdida de resolución. Lo primero que se aprecia en la Fig. 16 (a) es un estrechamiento de todas las señales al aumentar la temperatura. De acuerdo con Zeng et al.<sup>[20]</sup> el pico intenso a campo más alto (~1 ppm) corresponde a los grupos metilo del isopropilo de la cadena lateral. Este pico presenta un hombro ancho a un desplazamiento químico ligeramente superior debido a los grupos CH<sub>2</sub> y CH de la cadena principal. El pico a ~3.8 ppm corresponde al metino de la cadena isopropilo lateral. Al aumentar la temperatura se evidencia la existencia de dos picos solapados que se hace patente a 316 K donde la señal se divide en dos. Como ya se apreció en los espectros realizados en las muestras secas (Fig. 14), uno de estos picos permanece al mismo desplazamiento químico al aumentar la temperatura, mientras que el otro se va desplazando progresivamente a campo más alto a medida que aumenta la temperatura.



**Figura 15.** Espectros de  $2D^1H$  DQ MAS RMN y sus respectivas proyecciones para una muestra de P(N-iPAAm) seca, medidos a (a) 324 K, (b) 353 K, (c) 381 K y (d) 410 K con una velocidad de MAS de 30 kHz

Este hecho ha sido previamente observado por Zeng et al.<sup>[20]</sup> que lo han atribuido a aumentos en la movilidad para los protones de la amida al aumentar la temperatura. Para una muestra de P(*N*-iPAAm) lineal hinchada en CDCl<sub>3</sub>, estos autores<sup>[20]</sup> describieron la aparición de un pico a 3.28 ppm al calentar, que fue asignado al protón de la amida mediante un espectro <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HETCOR. Propusieron que esta señal se encontraba solapada con la señal del metino de grupo isopropilo a bajas temperaturas, atribuyendo su desplazamiento químico a campo más alto al aumentar la temperatura a la rotura de algunos de los puentes de hidrógeno.<sup>[20]</sup> A pesar de que en los espectros de Zeng et al.<sup>[20]</sup> se puede apreciar el pico ancho a 7 ppm, estos autores no hacen mención del mismo en su discusión. Puesto que no aparece ningún pico de correlación para esta señal en el espectro <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HETCOR,<sup>[20]</sup> debe estar relacionado con el protón de la amida.



**Figura 16.** (a) Espectros <sup>1</sup>H MAS, (b) zona de los grupos metilo del espectro <sup>1</sup>H MAS y (c) espectros <sup>1</sup>H MAS con filtro de doble cuanto en función de la temperatura, de un gel de P(*N*-iPAAm) hinchado al 50 % (p/p) en cloroformo-*d*, con una velocidad de MAS de 30 kHz.

En la Fig. 16 (b) puede apreciarse la evolución de la intensidad y la anchura de la señal alquímica de forma que al aumentar la temperatura la señal se estrecha notablemente y aumenta en intensidad. En la Fig. 16 (c) se observa como la intensidad de todas las señales del espectro <sup>1</sup>H DQF MAS disminuye acusadamente con un aumento de la temperatura, lo que demuestra el gran aumento en la movilidad de la muestra. La aparición de la señal fina a 3.3 ppm, así como el aumento de movilidad, podrían interpretarse como una ruptura de los puentes de hidrógeno entre los grupos amida al aumentar la temperatura. En estudios realizados en la P(*N*-iPAAm) en disolución acuosa, Scarpa et al.<sup>[34]</sup> estimaron que sólo un tercio

de los grupos NH no estaban unidos a carbonilos. Mas recientemente se ha estudiado por IR la influencia de la formación y rotura de puentes de hidrógeno intramoleculares en la transición de fase de la *N*-iPAAM.<sup>[35]</sup> Según estos autores,<sup>[35]</sup> el agua es tan buen disolvente por debajo de la LCST, que da lugar a la rotura de la mayor parte de este tipo de interacciones reemplazando al grupo NH en los puentes de hidrógeno con el carbonilo. Si aceptamos esta suposición, el hecho de que la estrecha señal a 3.3 ppm no aparezca en los espectros de las muestras hinchadas en D<sub>2</sub>O podría ser únicamente debido al intercambio con el deuterio del protón de la amida. Esto explicaría el hecho experimentalmente observado por Henskins et al.<sup>[36]</sup> que la P(*N*-iPAAM) en disolución acuosa por debajo de la LCST se encuentra en forma de un ovillo estadístico más extendido con respecto al cloroformo a la misma temperatura. Por el contrario, por encima de la LCST, las interacciones hidrofóbicas entre los grupos isopropilo podrían dar lugar a la estabilización de estos puentes de hidrógeno intramoleculares. Al contrario de lo que sucede con los ácidos carboxílicos, la flexibilidad del grupo amida hace que los enlaces por puentes de hidrógeno no tengan por qué ser debidos a la dimerización de los grupos, lo que explicaría que no aparezcan señales en la diagonal en ninguno de los espectros bidimensionales obtenidos para estas muestras. Desafortunadamente no se han podido obtener más resultados experimentales que corroboren estas hipótesis.

#### 4.3.4. ESTUDIO DE LOS PUENTES DE HIDRÓGENO EN LOS SISTEMAS DEPENDIENTES DEL pH

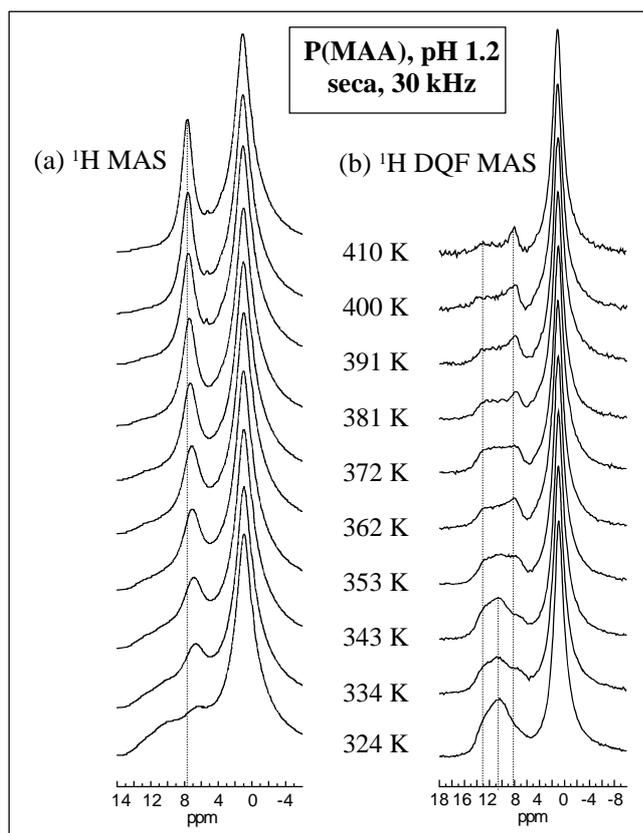
Los resultados obtenidos mediante la caracterización estructural de las muestras y así como el estado del agua en los hidrogeles, indican que los puentes de hidrógeno tienen gran importancia en el comportamiento de los copolímeros e IPNs sintetizados. Con el fin de llevar a cabo una investigación más profunda de la naturaleza del colapso dependiente del pH y de la implicación de los puentes de hidrógeno en el comportamiento de hinchamiento, se emplearon técnicas avanzadas de RMN en estado sólido.

##### 4.3.4.1. HOMOPOLÍMERO DE ACIDO METACRÍLICO P(MAA)

El grupo lateral carboxílico tiene un carácter determinante en el hinchamiento dependiente del pH de los sistemas estudiados. En el régimen de pH básico, por encima del pK<sub>a</sub> de su ácido carboxílico (4.65) el P(MAA) se encuentra ionizado y por tanto cargado negativamente. Estas cargas fijas en la molécula atraen contra-iones hidratados, que tienden a expandir el gel, mientras que la elasticidad de entropía conformacional de las cadenas poliméricas entrecruzadas se opone a esta expansión.<sup>[37]</sup> En medio ácido, los grupos carboxílicos no están ionizados, y además puede que tenga lugar un entrecruzamiento físico adicional como consecuencia de la dimerización de los grupos carboxílicos por puentes de hidrógeno. Todo ello da lugar al colapso del MAA. Debido a su papel principal, un conocimiento más profundo de los puentes de hidrógeno “acídicos” en el homopolímero de MAA será muy útil para entender el proceso de colapso en los copolímeros y las IPNs.

En la Fig. 17 (a) se muestran los espectros de <sup>1</sup>H MAS RMN de una muestra de P(MAA) colapsado a pH 1.2 y seco en función de la temperatura, medidos a una velocidad de MAS de 30 kHz. A la

temperatura más baja, la mejora en la resolución, que proporciona la rotación a altas velocidades, permite separar de la intensa señal alquílica a 1 ppm, un hombro que va de 6 a 14 ppm. En este hombro se pueden identificar tres señales solapadas a aproximadamente 6, 10 y 12 ppm. Al aumentar la temperatura, estas señales evolucionan gradualmente a un pico bien definido a 8 ppm. Teniendo en cuenta la estructura del P(MAA) las señales que aparecen en esta región espectral sólo pueden atribuirse a los protones del ácido carboxílico. En la Fig. 17 (b) se muestran los espectros de  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto (DQF) medidos en el mismo intervalo de temperaturas. Se aplicó una secuencia BABA de reacoplamiento homonuclear durante dos periodos de rotación para excitar y recuperar las coherencias  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de doble cuanto. La presencia de señales  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  DQF indica que un acoplamiento dipolo-dipolo lo suficientemente fuerte se mantiene entre los dos protones implicados en la coherencia durante un tiempo superior al de excitación y reconversión<sup>[6]</sup> (en este caso, 133 $\mu\text{s}$ ). El espectro medido a la temperatura más baja, muestra un pico asimétrico muy ancho entre 8 y 14 ppm asignado a los protones del ácido carboxílico. Con un ligero incremento de temperatura, se produce un marcado descenso en la intensidad de este pico, y a temperaturas más altas, es un pico a 8 ppm el que domina el espectro en esta región.



**Figura 17.** Espectros (a)  $^1\text{H}$  MAS RMN, (b)  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto, en función de la temperatura, de una muestra de P(MAA) colapsada a pH 1.2 y seca, medidos con una velocidad de MAS de 30 kHz.

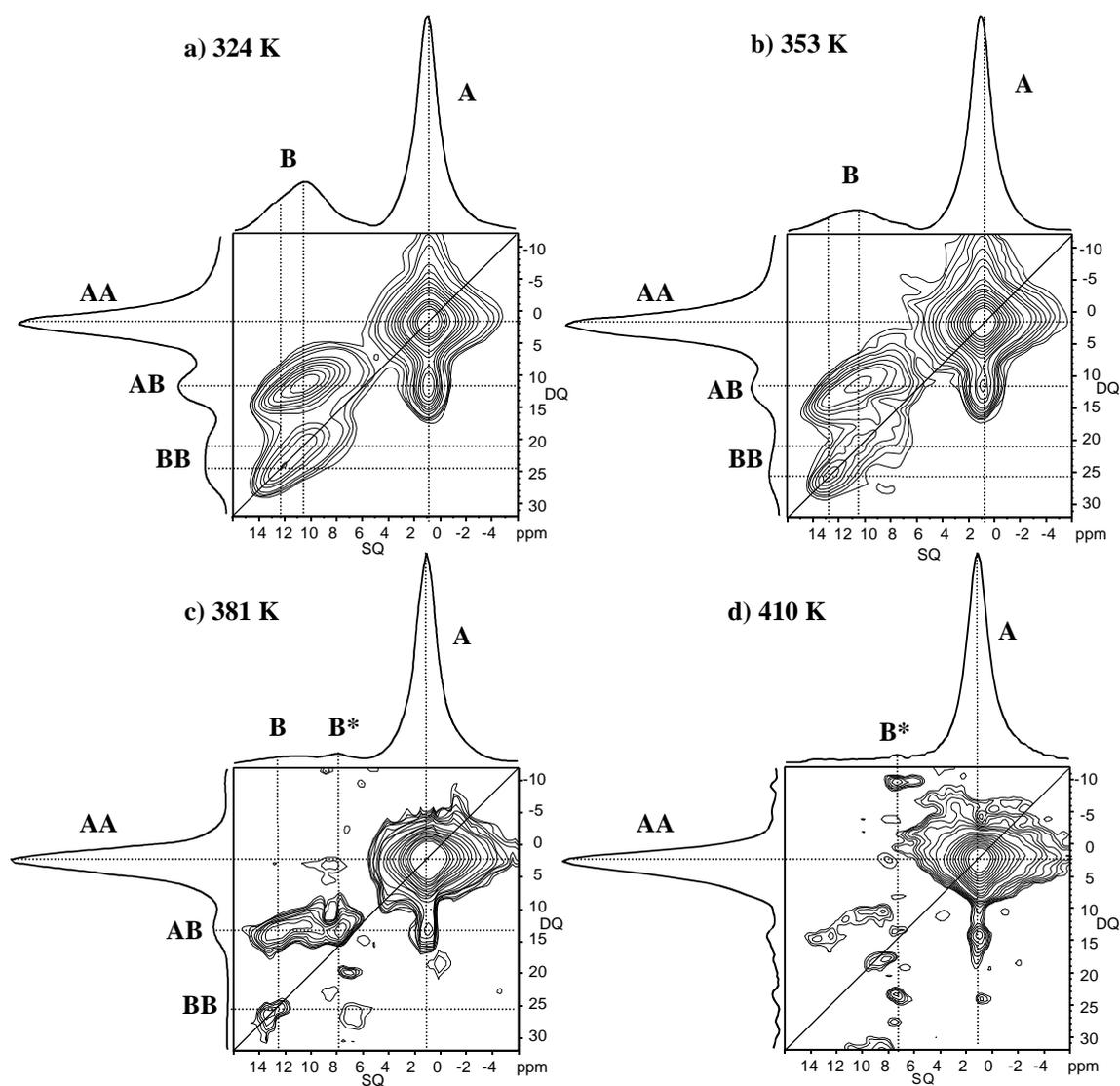
Para determinar qué protones están implicados en las coherencias DQ se requiere un espectro  $^1\text{H}$  DQ MAS bidimensional en el que una dimensión  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  DQ se relaciona con la dimensión  $^1\text{H}$  SQ

convencional. En la Fig. 18 se muestran los espectros 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS del P(MAA) colapsado a pH 1.2 y seco, registrados a 324, 353, 381 y 410 K. A 324 K (Fig. 18 (a)) se puede apreciar la presencia de intensos picos en la diagonal y un par de picos de correlación. El pico de la diagonal que aparece a campo más alto (AA,  $\sim 1$  ppm) es consecuencia de los acoplamientos  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  entre los grupos alifáticos de la molécula ( $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ ) por lo que no presenta gran interés. Por el contrario, el estudio del amplio pico que aparece en la diagonal en la zona de los protones carboxílicos (BB), puede proporcionarnos gran cantidad de información. En él se pueden distinguir dos señales solapadas a  $\sim 10.5$  ppm y a  $\sim 12.5$  ppm respectivamente. Es ampliamente conocido que las señales correspondientes a los protones implicados en puentes de hidrógeno muestran un desplazamiento de sus resonancias a campo más bajo. En el caso de los ácidos carboxílicos, la formación de puentes de hidrógeno normalmente implica la dimerización de los grupos  $\text{COOH}$ , donde los protones implicados en los puentes de hidrógeno se encuentran en parejas con una separación espacial típica de 0.25 a 0.28 nm, lo que corresponde a acoplamientos dipolo-dipolo de  $D_{ij}/2\pi = 5 - 8$  kHz.<sup>[6]</sup> En consecuencia, la aparición de un “pico carboxílico” (BB) en la diagonal del espectro 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS, es clara prueba de la existencia de dímeros de  $\text{COOH}$  unidos por puentes de hidrógeno. La detección de dos de estos picos, con desplazamiento químicos ligeramente diferentes, puede ser interpretado como dos tipos distintos de puentes de hidrógeno que difieren en su estabilidad, ya que la mayor estabilidad origina un mayor desplazamiento químico del protón implicado en el enlace.

Con respecto a las otras señales del espectro, la pareja de picos de correlación se asignó a una coherencia entre los protones del ácido carboxílico y los alifáticos (AB, la frecuencia de doble cuanto a 11.5 ppm corresponde a la suma de las frecuencias de  $^1\text{H}$  acídicas y alifáticas, 10.5 ppm y 1 ppm, respectivamente). El protón implicado en enlace más estable (12.5 ppm) parece mostrar una menor intensidad en el pico de correlación. Esto podría indicar dos cosas, que las distancias  $^1\text{H}$  ácido- $^1\text{H}$  alifático son mayores en este caso y/o que hay menor cantidad de puentes de hidrógeno fuertes que de los débiles. Puesto que la primera suposición parece poco probable, la segunda podría ser la razón real. Dado que la intensidad de los espectros DQ depende, no sólo de la cantidad sino también, de la fuerza del acoplamiento, el hecho de que los dos picos de la diagonal, correspondientes a los dos tipos de puentes de hidrógeno distintos, tengan aproximadamente la misma intensidad, podría querer decir que la menor intensidad debida a un menor número de enlaces está compensada por un acoplamiento más fuerte.

En la Fig. 17 (b) se observaba un marcado descenso en la intensidad del pico carboxílico en el espectro  $^1\text{H}$  DQF al calentar la muestra, pero los espectros 2D  $^1\text{H}$  DQ resultan más útiles para aclarar la naturaleza de los procesos implicados. A 353 K (Fig. 18 (b)), la intensidad del pico de correlación a 11.5 ppm sufre un marcado descenso, y el pico de la diagonal a 21 ppm prácticamente ha desaparecido (estando ambos picos relacionados con el puente de hidrógeno menos estable a 10.5 ppm). Aumentando aun más la temperatura (Fig.18(c)), aun se detectan dos pequeñas señales a 13.5 y 25 ppm, ambas correspondientes al puente de hidrógeno más fuerte a 12.5 ppm, y no se detecta ningún signo del puente de hidrógeno más débil. Aparece una nueva señal a 8 ppm ( $\text{B}^*$ ) en la dimensión de coherencia simple, y extendida por toda la dimensión de doble cuanto, que se interpretó como el ácido libre, con mayor

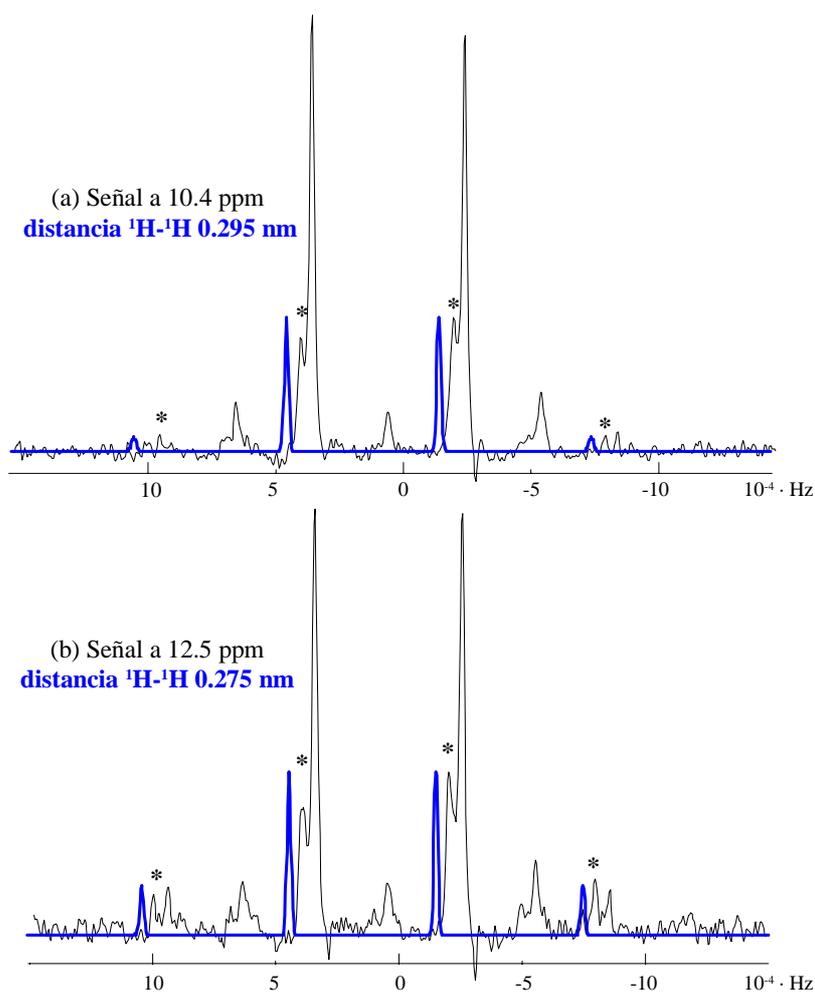
movilidad. Esta hipótesis se sustenta por la señal a 8 ppm para el ácido carboxílico que se detecta en el espectro de  $^1\text{H}$  MAS a altas temperaturas (Fig. 17 (a)). A 410 K (Fig. 18(d)) no hay ningún signo de los puentes de hidrógeno y tan sólo se ve la señal a 8 ppm ( $\text{B}^*$ ) para el ácido libre, al igual que se observó en el espectro  $^1\text{H}$  DQF MAS.



**Figura 18.** Espectros de 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS RMN y sus respectivas proyecciones para una muestra de P(MAA) previamente tratada a pH 1.2 y seca, medidos a (a) 324 K, (b) 353 K, (c) 381 K y (d) 410 K, con una velocidad de MAS de 30 kHz.

Con el fin de obtener una información cuantitativa acerca de las distancias protón-protón, se llevo a cabo la medida del patrón de ecos de rotación (spinning sideband-pattern). Para ello se redujo el incremento en  $t_1$  lo que dio lugar a un aumento en la anchura espectral DQ. Este patrón de ecos de rotación depende de la intensidad del acoplamiento dipolar y nos permite estimar el valor de la constante de acoplamiento dipolar entre los protones implicados en el dímero de ácido carboxílico, y con ello la distancia entre ellos. En la Fig. 19 se muestran las columnas extraídas del espectro 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS a

324 K aplicando 4 periodos de rotación de la secuencia de reacoplamiento BABA para la excitación y reconversión de las coherencias DQ, que representan los patrones de ecos de rotación para los dos tipos de protones carboxílicos implicados en los puentes de hidrógeno. Para la señal a 12.5 ppm, un acoplamiento dipolar más fuerte da lugar a ecos de rotación de tercer orden ligeramente superiores. En la Fig. 19 también se muestran los espectros de mejor ajuste generados asumiendo un par de espines aislados y que corresponden a distancias protón-protón de  $0.295 \pm 0.01$  nm y  $0.275 \pm 0.005$  nm para las señales a 10.5 ppm y a 12.5 ppm, respectivamente. La mayor intensidad del acoplamiento dipolar para los protones a 12.5 ppm corrobora también la hipótesis de que forman puentes de hidrógeno más estables.



**Figura 19.** Columnas extraídas del espectro de  $2D^1H$  DQ MAS RMN ( $t_1 < \tau_R$ ) de una muestra de P(MAA) previamente tratada a pH 1.2 y seca medido a 324 K y 30 kHz. Representan los patrones de ecos de rotación para los protones carboxílicos a (a) 10.5 ppm y a (b) 12.5 ppm respectivamente (línea negra). Con el asterisco se señalan los picos de interés, mientras que el resto de picos experimentales corresponden a acoplamientos con otros protones de la muestra. El espectro resultante del mejor ajuste generado asumiendo un par de espines aislados (línea azul) se encuentra desplazado a la izquierda.

#### 4.3.4.2. COPOLÍMEROS Y REDES INTERPENETRADAS

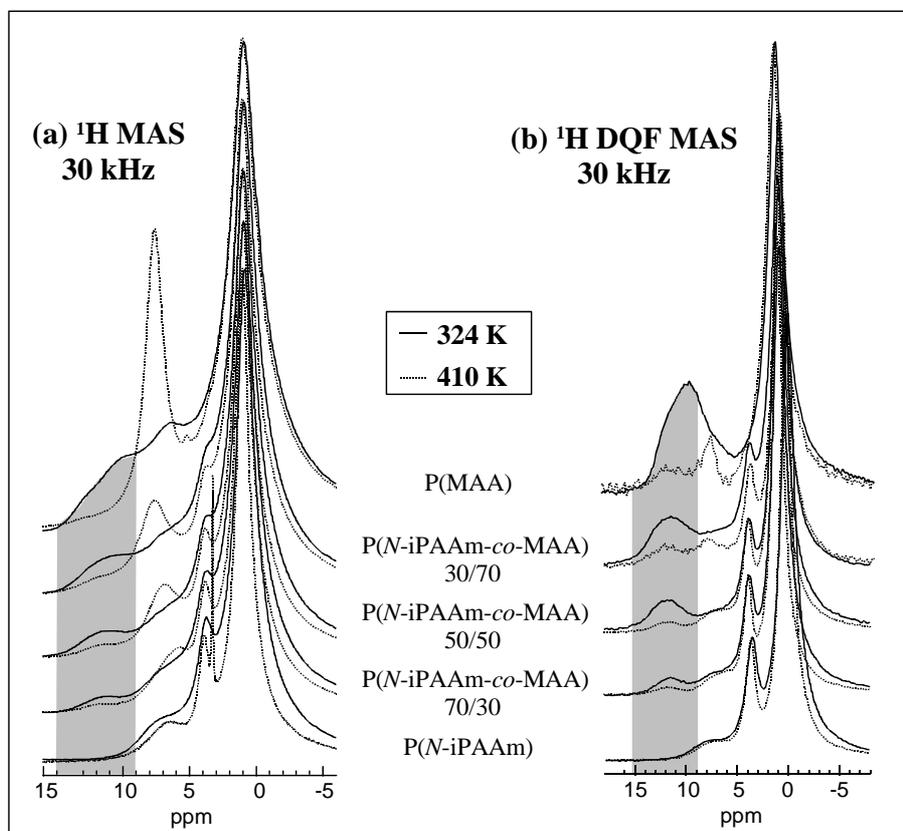
La combinación de los monómeros de *N*-iPAAm y MAA afecta muy acusadamente al comportamiento de hinchamiento de las redes. Ambos copolímeros e IPNs muestran una marcada

sensibilidad al pH del medio en todo el intervalo de composiciones estudiado. El grado de colapso dependiente del pH es mucho mayor, en el caso de los copolímeros y redes interpenetradas que para el P(MAA). En los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las IPNs se detectó la aparición de una nueva señal en la región carbonílica del MAA. Se ha propuesto la hipótesis de la formación de complejos interpoliméricos muy fuertes debidos a puentes de hidrógeno entre ambos monómeros,<sup>[38, 39]</sup> que sólo pueden existir en cuando el grupo lateral carboxílico se encuentra en forma no ionizada.<sup>[30]</sup> Chen et al.<sup>[40]</sup> mostraron que la  $T_g$  de una IPN de ácido poliacrílico (PAA) y polietiloxazolina aumentaba de manera significativa después de que el material era introducido en agua para ser extraído. Para explicarlo proponían que el hinchamiento en agua favorece la reorientación de los grupos amida y carboxílico a la posiciones necesarias para la formación de puentes de hidrógeno.

En la Fig. 20 se muestran los espectros  $^1\text{H}$  MAS y  $^1\text{H}$  DQF MAS (dos periodos de rotación de la secuencia de reacoplamiento BABA para la excitación de las DQCs) de muestras colapsadas a pH 1.2 y secadas, en función de la composición, y medidos a 324 K y a 410 K. A la temperatura de 324 K los espectros de  $^1\text{H}$  MAS de todos los copolímeros presentan un hombro en la región de los protones que participan en puentes de hidrógeno (por encima de 10 ppm), mientras que para el homopolímero de N-iPAAm no aparece ninguna señal en esta región. El descenso aparente en la intensidad de estos picos, no debe interpretarse como un menor número de puentes de hidrógeno en los copolímeros. Los espectros están normalizados por la intensidad del pico más alto (alifático  $\sim 1$  ppm) y se deben tener en cuenta dos hechos: la diferente relación de protones alifáticos y protones con posibilidad de formación de puentes de hidrógeno, que en el P(MAA) es 5:1 y en la P(N-iPAAm) es 10:1, y también que el pico alifático es mucho más ancho en el caso del MAA. No es posible llevar a cabo un análisis cuantitativo por deconvolución, debido al gran solapamiento de los picos. Este solapamiento se evita gracias a la mayor resolución de los espectros con filtro de doble cuanto, lo que nos permite apreciar claramente un pico a  $\sim 12.5$  ppm para todos los copolímeros. No obstante, la cuantificación no es posible en este caso, ya que en este tipo de experimentos, la intensidad de las señales depende no sólo de la cantidad de protones, sino también de la fuerza del acoplamiento dipolar. A la temperatura de 410 K se pueden apreciar grandes cambios en la región por encima de 5 ppm para todos los copolímeros, igual que sucedía en el P(MAA). Estos cambios son tanto más marcados, cuanto mayor es el contenido de MAA de la muestra. Se produce un descenso en la intensidad tanto del hombro por encima de 10 ppm de los espectros  $^1\text{H}$  MAS, como del pico a 12.5 ppm en los espectros  $^1\text{H}$  DQF MAS. También en el espectro de  $^1\text{H}$  MAS se detecta un aumento de la intensidad en la región de los protones carboxílicos libres al aumentar la temperatura, que no puede ser detectado en el espectro  $^1\text{H}$  DQF MAS. Esto puede ser interpretado como la desaparición de DQCs entre estos protones al aumentar la temperatura. A esta temperatura también puede apreciarse que el estrecho pico a 3.3 ppm, que aparece en el homopolímero de N-iPAAm está ausente para todos los copolímeros, lo que puede interpretarse como una ausencia de la amida libre.

La asignación de las proximidades protón-protón en los copolímeros e IPNs es bastante complicada al estar involucradas tantas señales. Por ello en la Fig. 21 se estudia como ejemplo representativo el

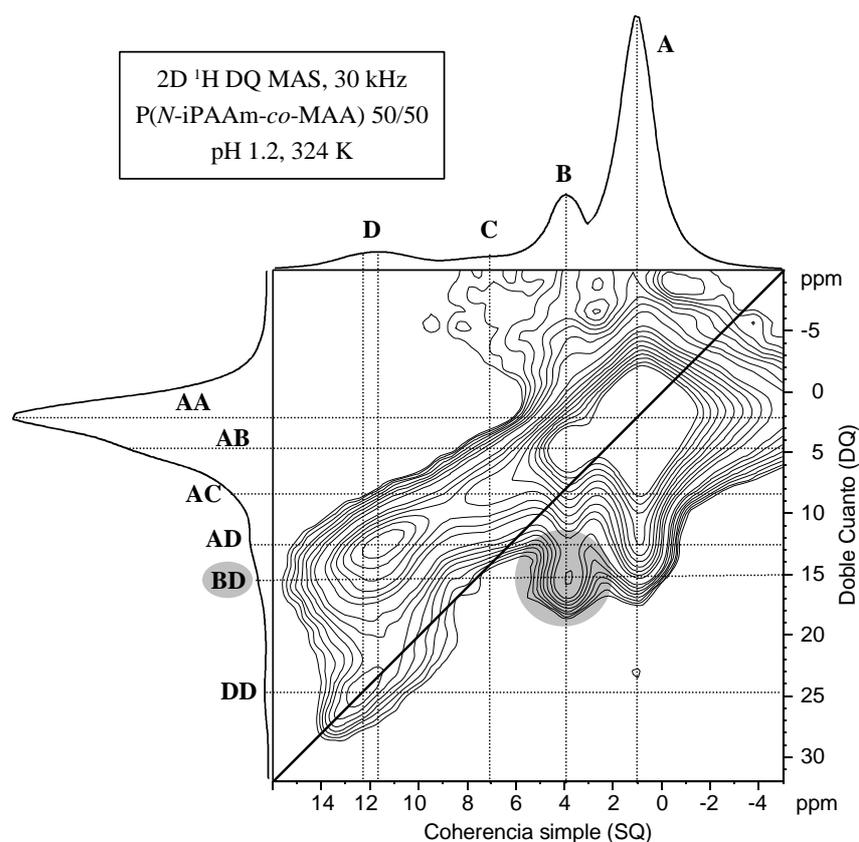
espectro 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS del copolímero con un 50 % molar de *N*-iPAAm colapsado a pH 1.2 y secado, medido con 2 periodos de rotación de la secuencia de reacoplamiento BABA para la excitación y reconversión de las DQCs a 324.3 K con 30 kHz de velocidad de MAS.



**Figura 20.** Espectros (a)  $^1\text{H}$  MAS RMN, (b)  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto en función de la composición, de muestras de P(MAA), P(N-iPAAm) y sus copolímeros tratadas a pH 1.2 y secas, medidos a 324.3 K (línea continua) y 409.8 K (línea de puntos) con una velocidad de MAS de 30 kHz.

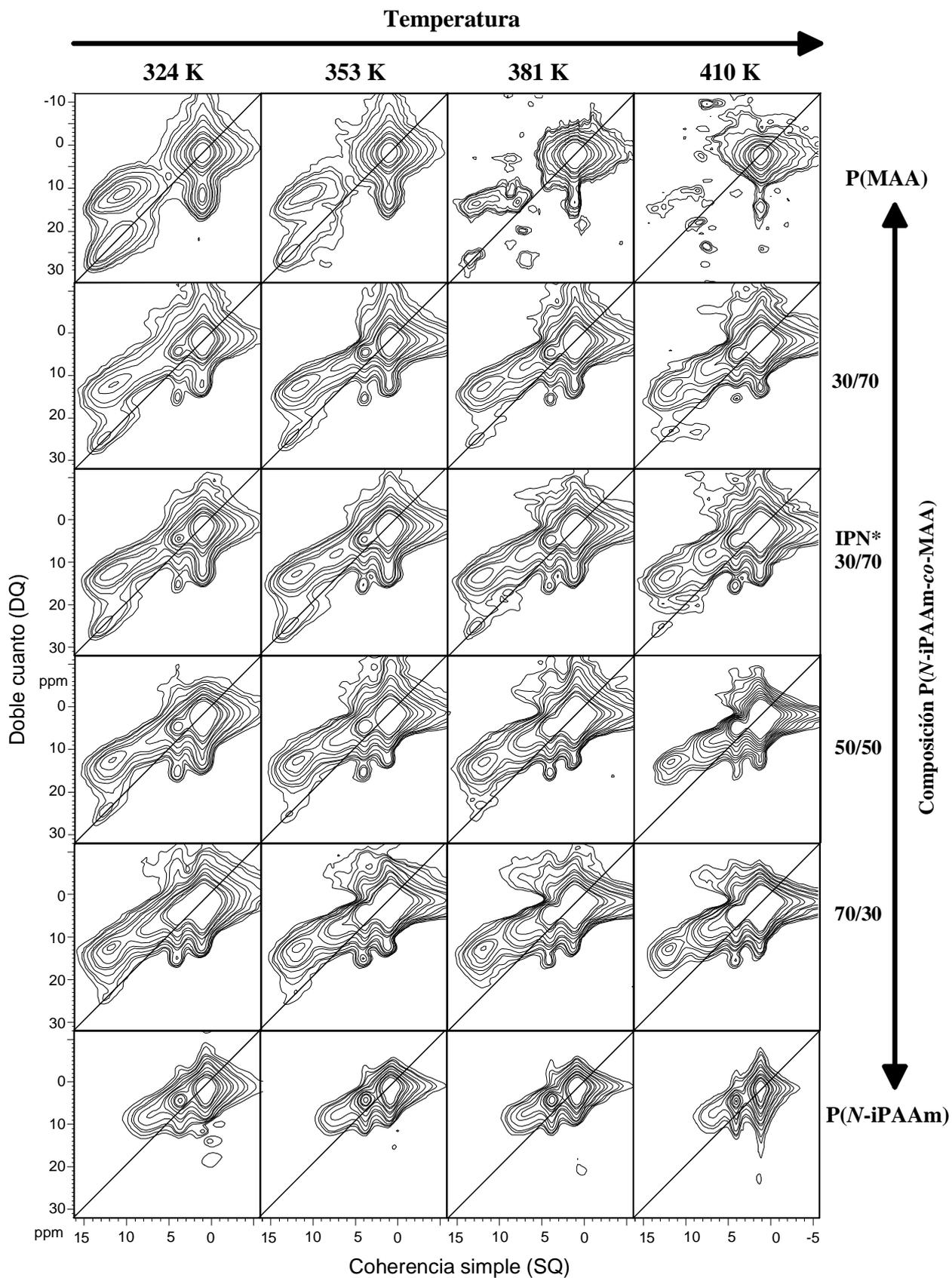
Como sucedía en los espectros de ambos homopolímeros, la señal más importante de la Fig. 21 es el gran pico de la diagonal (AA) a  $\sim 1$  ppm SQ que representa los acoplamiento dipolares  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de los grupos alifáticos (los grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  del MAA, los CH y  $\text{CH}_2$  en la cadena principal y los  $\text{CH}_3$  en el grupo isopropilo lateral de la *N*-iPAAm no pueden ser resueltos). A campo más bajo aparece otro pico de la diagonal (DD) entre 10 y 14 ppm SQ, que se ha atribuido a los dímeros unidos por puentes de hidrógeno, donde los protones se encuentran en parejas, tal y como se mostró para el homopolímero de P(MAA). Aunque la longitud de la señal que aparece en la diagonal permite asumir que hay más de un tipo de puentes de hidrógeno implicado en la estructura, la baja intensidad y resolución de esta señal impide extraer más información. Podría sugerirse la presencia de dos señales diferentes a 12.3 y 11.7 ppm, pero la cercanía de su desplazamiento químico no permite confirmar esta suposición. Fuera de la diagonal se pueden identificar al menos cuatro picos de correlación. La frecuencia SQ de los grupos alifáticos a  $\sim 1$  ppm parece estar implicada en tres de estas coherencias DQ:

- La frecuencia DQ a 4.8 ppm corresponde a las frecuencias de  $^1\text{H}$  a 1 ppm (A) y 3.8 ppm (B) (CH del grupo lateral isopropilo).
- El ancho pico de correlación a la frecuencia DQ de 8 ppm relaciona los grupos alifáticos(A) con las frecuencias SQ del grupo ácido carboxílico libre del MAA y amida de la *N*-iPAAm, (C) que desafortunadamente muestran un desplazamiento químico muy similar.
- Otro ancho pico de correlación a  $\sim 12.5$  ppm se asigna a una coherencia DQ entre los protones desapantallados de los puentes de hidrógeno a  $\sim 11.5$  ppm (D) y los protones alifáticos (A).



**Figura 21.** Espectro de 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS RMN y sus respectivas proyecciones para una muestra del copolímero P(*N*-iPAAm-co-MAA) 50/50 tratado a pH 1.2 y seco, medido a 324 K con una velocidad de MAS de 30 kHz.

Además de éstos, se aprecia un cuarto pico a  $\sim 15.3$  ppm DQ (sombreado en la Fig. 21). Este pico aparece muy claramente tanto en todos los espectros tanto de los copolímeros como en los de la IPN y corresponde a una coherencia DQ entre el metino del grupo lateral isopropilo de la *N*-iPAAm ( $\sim 3.8$  ppm, B) y alguno de los protones implicados en los puentes de hidrógeno ( $\sim 11.5$  ppm, D). La aparición de este pico que relaciona el grupo isopropilo de la *N*-iPAAm con los protones implicados en los puentes de hidrógeno, es una prueba definitiva de la interacción por puentes de hidrógeno entre ambos monómeros. El hecho de que el pico aparezca también en las IPNs, en las que ambos monómeros se encuentran formando redes independientes corrobora la hipótesis de complejos interpoliméricos por puentes de hidrógeno entre ambas redes.



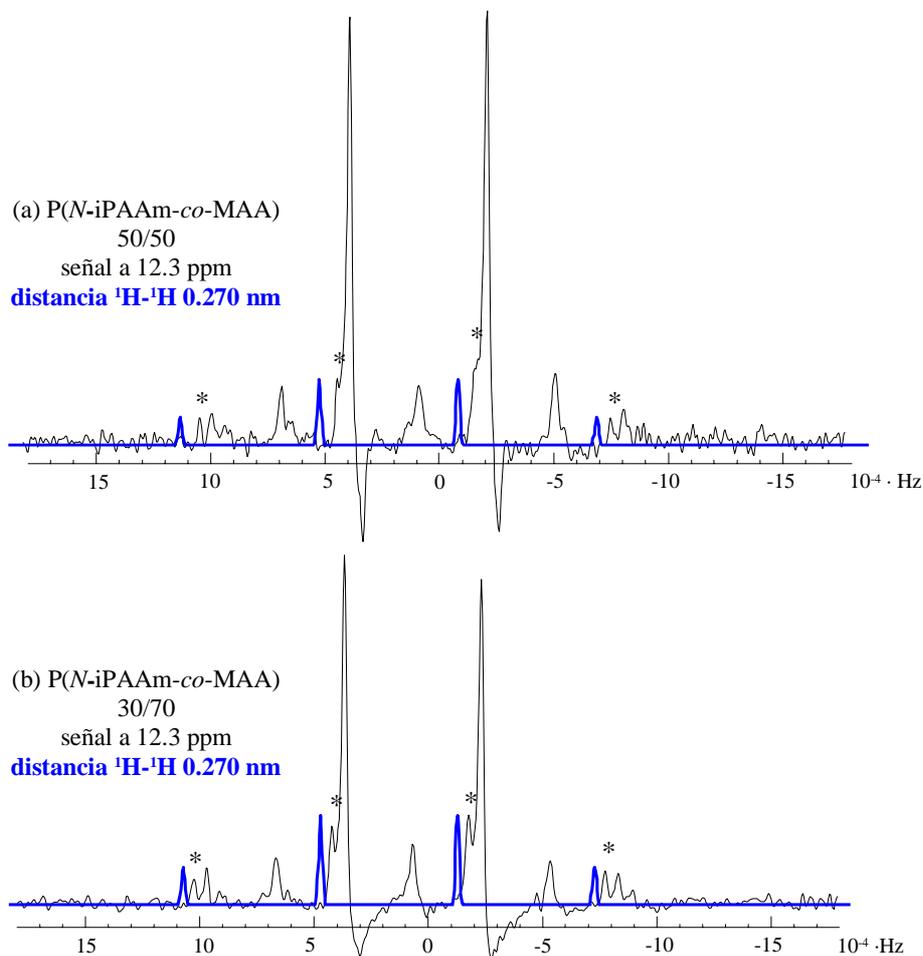
**Figura 22.** Espectros 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS RMN en función de la temperatura y de la composición de la muestra, para muestras de P(MAA), P(N-iPAAm) y sus copolímeros tratadas a pH 1.2 y secas, medidos con una velocidad de MAS de 30 kHz. También se representan señalados \* los espectros de la IPN30 con un 30% molar de N-iPAAm.

En la Fig. 22 se compara la dependencia de la temperatura de los espectros 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS en función de la composición de la muestra, para los copolímeros y una IPN. Como ya se mostró en detalle, en el P(MAA) tanto los picos de la diagonal como los de correlación debidos a coherencias DQ en las que se encuentran implicados los protones carboxílicos desaparecen a temperaturas elevadas. En el caso de los copolímeros, los picos de la diagonal debidos a frecuencias  $^1\text{H}$  SQ por encima de 10 ppm muestran un descenso en su intensidad con la temperatura, pero todos los picos de correlación en los que se encuentran implicadas estas frecuencias permanecen incluso a la mayor temperatura estudiada. Todo ello puede ser indicativo de la mayor estabilidad de los puentes de hidrógeno en la estructura de los copolímeros e IPNs con respecto al P(MAA). Resulta especialmente interesante el hecho de que el pico de correlación a  $\sim 15.3$  ppm, debido a una coherencia DQ de los protones implicados en los puentes de hidrógeno y el metino del grupo isopropilo lateral de la *N*-iPAAm permanezca para todos los copolímeros a temperaturas elevadas.

En la Fig. 23 se muestran las columnas extraídas de los espectros  $^1\text{H}$  DQ MAS (medidos a 324 K aplicando 4 periodos de la secuencia de reacoplamiento BABA). Representan los patrones de ecos de rotación para el pico de la diagonal correspondiente al dímero de los puentes de hidrógeno en los copolímeros con un 50 % y 30 % molar de *N*-iPAAm. En la Fig. 23 se muestra también el espectro de mejor ajuste generado asumiendo una pareja de espines aislados, y corresponden a una distancia protón-protón de  $0.270 \pm 0.005$  nm, menor que la distancia obtenida para los puentes de hidrógeno más estables a 12.5 ppm en el P(MAA) de  $0.275 \pm 0.005$  nm. Para el copolímero con un 70 % de *N*-iPAAm, la baja intensidad del pico de la diagonal para los puentes de hidrógeno, comparado con los otros picos presentes en el espectro, no nos permite cuantificar exactamente la distancia internuclear. Esta menor distancia protón-protón entre los protones implicados en el pico de la diagonal para los copolímeros en comparación con el P(MAA) determinada mediante el análisis del patrón de ecos de rotación, también corrobora la hipótesis de puentes de hidrógeno más estables.

La existencia de picos de correlación que indican que hay grupos alifáticos y protones implicados en los puentes de hidrógeno, así como la estabilidad térmica y la menor distancia  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  podrían ser interpretados como la existencia de alguna clase de interacciones de otro tipo que contribuyen a la estabilización del complejo por puentes de hidrógeno entre ambos monómeros. Se ha propuesto que la presencia de los grupos laterales isopropilo en la *N*-iPAAm estabiliza estos complejos,<sup>[41]</sup> debido a la formación de agregados hidrofóbicos,<sup>[42]</sup> que son destruidos durante la ionización del gel.<sup>[43]</sup> Kousathana et al.<sup>[42]</sup> estudiaron una serie de sistemas complejos y llegaron a la conclusión de que las interacciones hidrofóbicas tenían lugar tan sólo cuando uno de los polímeros implicados presentaba una LCST, y que la hidrofobicidad del complejo dependía también de la estructura. Según esto autores,<sup>[42]</sup> en el caso de los complejos de P(AA)/P(*N*-iPAAm) el carácter hidrofóbico es muy fuerte debido a los grupos isopropilo. Por otra parte, Bekturov y Bimendina<sup>[44]</sup> propusieron que la estabilización de los puentes de hidrógeno al aumentar la temperatura, en el caso del sistema P(MAA)/PEG indica el papel esencial de las interacciones

hidrofóbicas en la estabilización del complejo. Esto parece indicar que los grupos metilos del MAA son también responsables de estas interacciones.



**Figura 23.** Columnas extraídas de los espectros de 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS RMN ( $t_1 < \tau_R$ ) de muestras de copolímeros con un (a) 50 % y (b) 30 % molar de N-iPAAm tratados a pH 1.2 y secos, medidos a 324 K con una velocidad de MAS de 30 kHz. Representan los patrones de ecos de rotación para el pico de la diagonal de los protones a 12.3 ppm (línea negra). Con el asterisco se señalan los picos de interés, mientras que el resto de picos experimentales corresponden a acoplamiento con otros protones de la muestra. El espectro de mejor ajuste generado asumiendo un par de espines aislados (línea azul) se encuentra desplazado a la izquierda.

#### 4.3.4.3. DEPENDENCIA CON EL pH DEL MEDIO

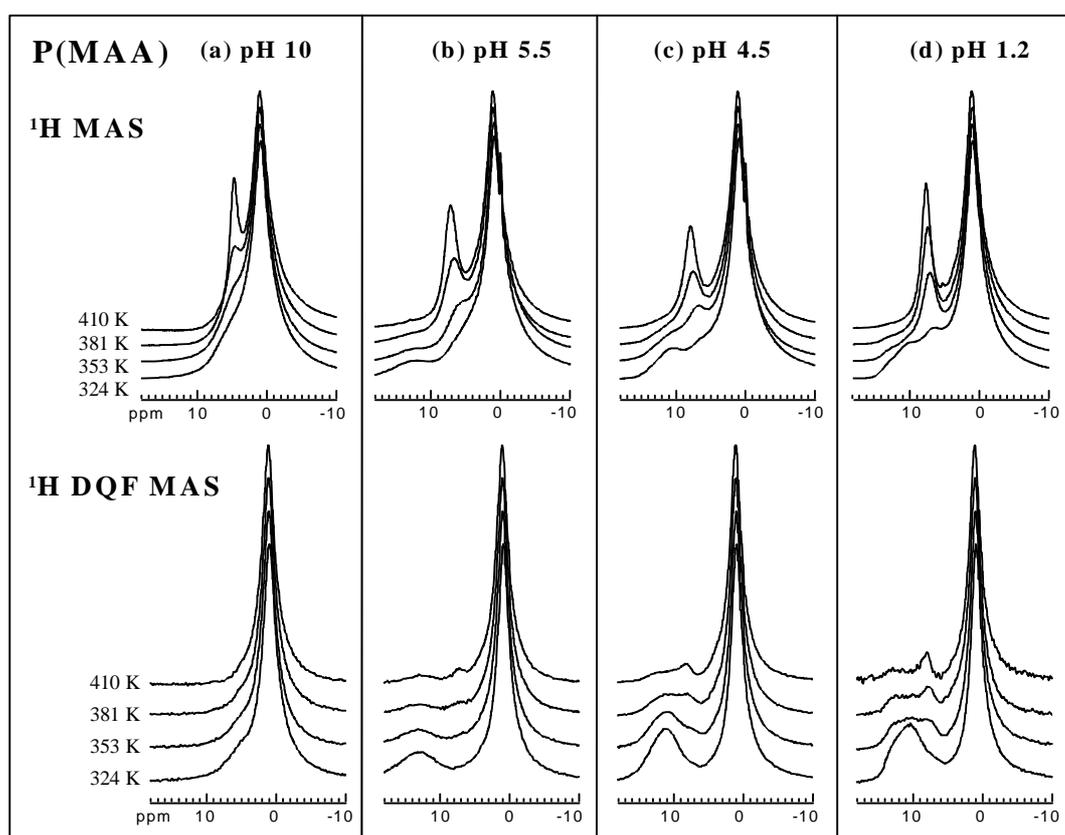
En el apartado anterior se ha discutido la estructura de la muestra en un régimen de pH muy bajo, en el que se encuentra totalmente colapsada. Sin embargo resulta interesante estudiar el efecto del pH en un régimen intermedio de valores, para ver la evolución de la estructura. Como se mostrará más adelante, pH 5.5 disminuye el grado de hinchamiento para todos los copolímeros, especialmente para aquellos de mayor contenido en MAA, pero sin embargo mantienen un aspecto transparente. A pH 4 el hinchamiento disminuye aun más y se aprecia un cambio en la apariencia de los copolímeros que se vuelven más rígidos y opacos. Esto podría relacionarse con la formación de los complejos descritos anteriormente. El

P(MAA), aparte del cambio de volumen no presenta ningún cambio en su apariencia. Los resultados de RMN en estado sólido pueden ayudarnos a aclarar este comportamiento.

Para ello las muestras fueron estudiadas en tres regiones de pH: (i) en medio muy alcalino pH 10, donde se considera que las muestras están completamente ionizadas, (ii) a pH 5.5 y a pH 4.5, ambos valores muy cercanos al  $pK_a$  del MAA y a (iii) en un medio muy ácido, pH 1.2 donde las muestras están completamente protonadas. En las Figs. 24-26 se muestra la dependencia con la temperatura de los espectros  $^1H$  MAS y  $^1H$  DQF MAS RMN de las muestras estudiadas a distintos pHs. La Fig. 24 muestra los espectros de una muestra de P(MAA). Como era de esperar, pH 10 (Fig. 24 (a)), a la temperatura más baja no se detecta ningún signo de los protones carboxílicos, y tan sólo se ve un hombro alrededor de 5 ppm para el espectro de  $^1H$  MAS. En la Fig. 24 (a) también se aprecia que la única señal que se puede detectar claramente en el espectro  $^1H$  DQF MAS a este pH es el pico alifático. El hombro de 5 ppm del espectro de  $^1H$  MAS evoluciona de manera gradual al aumentar la temperatura a un pico bien definido alrededor de 5 ppm que se ha relacionado con agua libre, que tiene un desplazamiento químico similar. A este valor de pH tan alto, el ácido carboxílico está en su forma ionizada (carboxilato) y sus protones han sido intercambiados por iones sodios. Los contraiones  $Na^+$  no se unen al grupo carboxílico tan fuertemente como los protones, y como resultado tienen más agua asociada a ellos, y por ello generan una mayor presión osmótica de hinchamiento.<sup>[37]</sup> Esto también aumenta la higroscopicidad de la muestra, lo que hace que las moléculas de agua permanezcan fuertemente unidas a la muestra a pesar del alto vacío empleado en su secado.

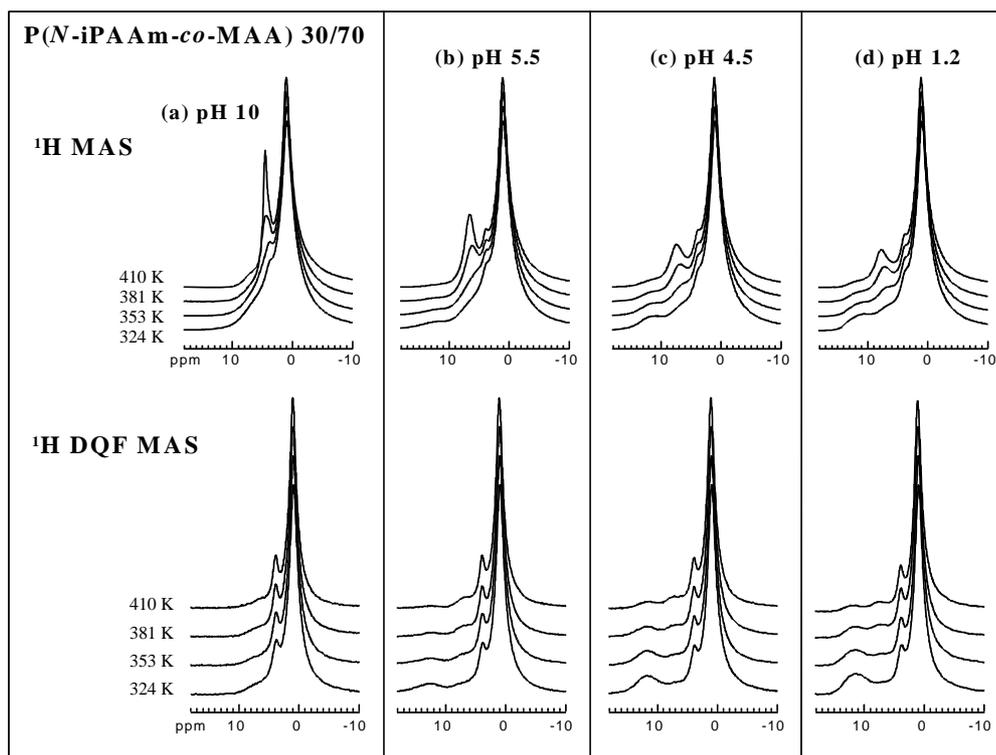
A pH 5.5 se observa un pico alrededor de 12.5 ppm tanto en los espectros  $^1H$  MAS como  $^1H$  DQF MAS. Como se describió anteriormente, este pico corresponde a los protones carboxílicos y evoluciona a un pico mucho más estrecho a  $\sim 8$  ppm al aumentar la temperatura. Al valor de pH de 4.5, el pico carboxílico aumenta en ambos espectros, y el máximo se desplaza a campo más alto ( $\sim 10.5$  ppm) en el espectro  $^1H$  MAS y de manera más clara por su mayor resolución, en el espectro  $^1H$  DQF MAS. Como se comprobó anteriormente, la señal a 12.5 ppm corresponde a protones implicados en puentes de hidrógeno más estables, comparado con la señal de 10.5 ppm. El hecho de que la señal de los puentes de hidrógeno a campo más bajo (12.5 ppm) aparezca a mayores valores de pH, nos permite sugerir una diferencia entre la acidez de los distintos grupos carboxilato, que está relacionada con la estabilidad de los puentes de hidrógeno a los que dan lugar cuando se protonan. Los grupos menos ácidos se relacionan con los puentes de hidrógeno más estables, y la estabilidad de los puentes de hidrógeno a los que dan lugar va disminuyendo al aumentar la acidez del grupo, siendo la forma de ácido libre la más ácida. Esto se confirma por el hecho de que al pH más bajo (1.2) haya un aumento en la intensidad del hombro a 10.5 ppm, y especialmente del hombro por debajo de 10 ppm. Este último no aparece en el espectro  $^1H$  DQF MAS, por lo que le podemos relacionar con los protones carboxílicos en forma libre, que deben tener una gran acidez ya que su intensidad aumenta en gran medida al disminuir el pH.

Tanto la estabilidad de los puentes de hidrógeno como la acidez podrían estar relacionados con la estereoquímica y conformación del P(MAA). Medidas potenciométricas indican que la forma isotáctica del P(MAA) se comporta como un ácido más débil que la forma sindiotáctica.<sup>[45]</sup> Este hecho indicaría que probablemente son los grupos más ácidos correspondientes a secuencias isotácticas los que se protonarían a pH más alto y a su vez formarían los puentes de hidrógeno más estables. Por otra parte, es conocido y hay muchos estudios en la literatura al respecto,<sup>[28, 45-52]</sup> el comportamiento anómalo dependiente del pH del P(MAA). Se ha sugerido que éste pasa de una estructura extendida a pHs alcalinos, a una estructura muy compacta a pH ácido, en la que las interacciones hidrofóbicas juegan un papel primordial. Nagasawa et al.<sup>[53]</sup> en base a datos potenciométricos, sugirieron que la forma sindiotáctica del P(MAA) se podría encontrar en una conformación extendida en zig-zag, mientras que la forma isotáctica tendría una conformación más densa probablemente helicoidal. Todas estas diferencias sugieren una mayor estabilidad para los puentes de hidrógeno en secuencias isotácticas.

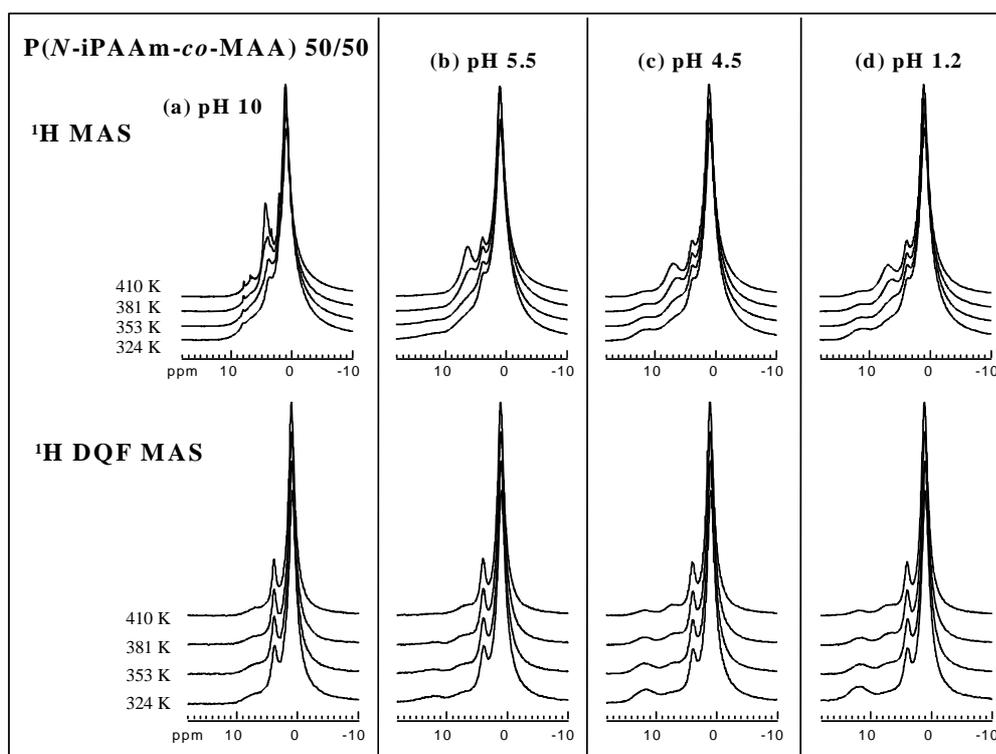


**Figura 24.** Espectros <sup>1</sup>H MAS RMN, <sup>1</sup>H MAS RMN con filtro de doble cuanto en función de la temperatura de muestras de P(MAA) tratadas a (a) pH 10, (b) pH 5.5, (c) pH 4.5 y (d) pH 1.2 y secas, medidos con una velocidad de MAS de 30 kHz.

En las Figs. 25 y 26 se muestran los espectros <sup>1</sup>H MAS y <sup>1</sup>H DQF MAS RMN obtenidos para los copolímeros con un 30 y un 50 % molar de *N*-iPAAm respectivamente, en el intervalo de pHs que se muestra. Para los espectros de <sup>1</sup>H MAS a pH 10 de ambos copolímeros puede apreciarse la aparición de la señal a ~ 5 ppm, correspondiente al agua que no ha sido eliminada, y que, en este caso, se solapa con la señal del CH del grupo isopropilo lateral de la *N*-iPAAm.



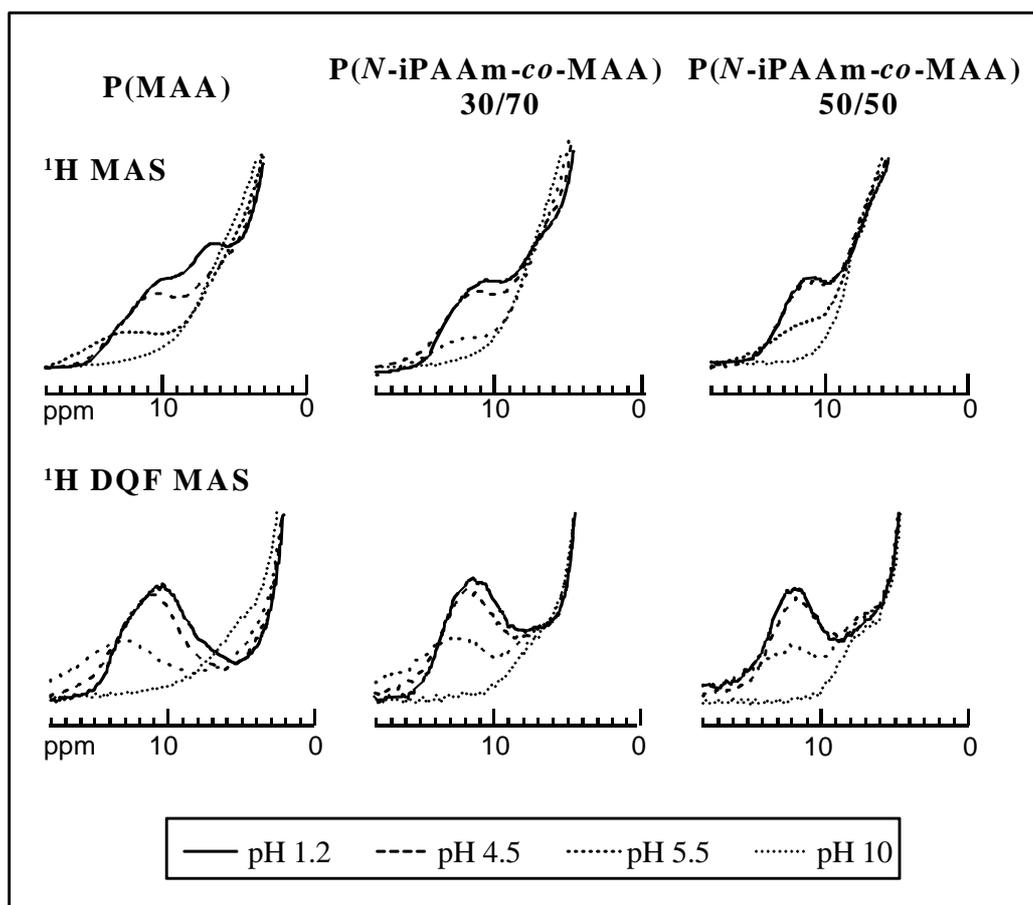
**Figura 25.** Espectros  $^1\text{H}$  MAS RMN,  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto en función de la temperatura de muestras de  $\text{P}(\text{N-iPAAm-co-MAA})$  30/70, tratadas a (a) pH 10, (b) pH 5.5, (c) pH 4.5 y (d) pH 1.2 y secas, medidos con una velocidad de MAS de 30 kHz.



**Figura 26.** Espectros  $^1\text{H}$  MAS RMN,  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto en función de la temperatura de muestras de  $\text{P}(\text{N-iPAAm-co-MAA})$  50/50, tratadas a (a) pH 10, (b) pH 5.5, (c) pH 4.5 y (d) pH 1.2 y secas, medidos con una velocidad de MAS de 30 kHz.

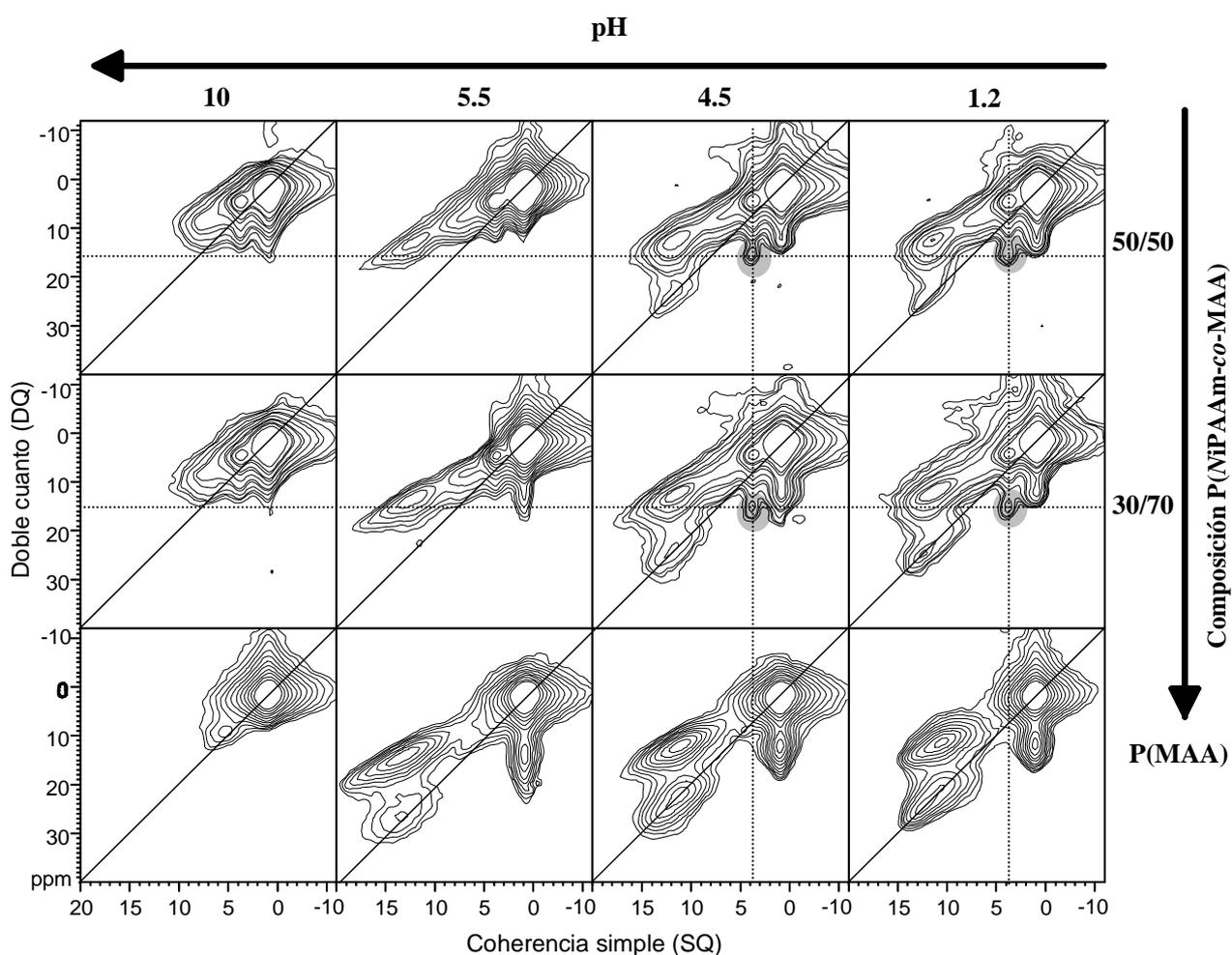
En las Figs. 25 y 26 también se aprecia claramente como esta señal, debido a su gran movilidad, se filtra en los espectros  $^1\text{H}$  DQF MAS. En la región por encima de 6 ppm se detecta un hombro correspondiente a los NH de la *N*-iPAAm, que ni a temperaturas muy elevadas se filtra en los espectros  $^1\text{H}$  DQF MAS. A pH 5.5 en ambas muestras aparece un pequeño pico a 12.5 ppm, que, igual que sucedía en el MAA, prácticamente desaparece al aumentar la temperatura. Los espectros a pHs 1.2 y 4.5, son muy similares, y en ellos se aprecia un gran aumento en la intensidad de este pico, que se mantiene incluso a temperaturas muy altas.

En la Fig. 27 se comparan los espectros  $^1\text{H}$  MAS y  $^1\text{H}$  DQF MAS obtenidos a 324 K para las tres muestras estudiadas a distintos pHs, normalizados por la intensidad de las señales por encima de 10 ppm. Tanto en el espectro del P(MAA) como en el del P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) 30/70, se aprecia un desplazamiento de este pico a campo más alto al aumentar el pH de la muestra, mientras que en el espectro del P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) 50/50 parece que el desplazamiento químico de máximo de esta señal permanece constante con el pH.



**Figura 27.** Espectros  $^1\text{H}$  MAS RMN,  $^1\text{H}$  MAS RMN con filtro de doble cuanto en función del pH de tratamiento previo de muestras secas de (a) P(MAA), (b) P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) 30/70, (c) P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) 50/50 medidos a 324 K y con una velocidad de MAS de 30 kHz.

Como en los casos anteriores, los experimentos  $^1\text{H}$  2D DQ MAS nos permiten obtener más información. Los espectros medidos mediante esta técnica se comparan en función de la composición y del pH de la muestra en la Fig. 28. Para todas las composiciones se aprecia claramente la evolución de la zona por encima de 10 ppm en la dimensión de coherencia simple. Como ya se comprobó en los espectros monodimensionales, a pH 10 no aparece ninguna señal en esa región. En la muestra de P(MAA), aparece un pequeño pico en la diagonal aproximadamente a 5 ppm, correspondiente al hombro del agua libre. A pH 5.5 se detecta el pico de correlación con los protones alifáticos de la señal a 12.5 ppm, pero probablemente por su baja intensidad, casi no se aprecia el pico de la diagonal. En cambio a pH 4.5 y 1.2 ambas señales de correlación y de la diagonal aparecen claramente en todos los casos. Parecen estar ligeramente desplazadas a campo más alto, especialmente en el caso P(MAA) y del copolímero con el 30 % molar de *N*-iPAAm.



**Figura 28.** Espectros 2D  $^1\text{H}$  DQ MAS RMN en función de la composición y del pH de tratamiento previo para muestras de P(MAA) y sus copolímeros medidos a 324.3 K con una velocidad de MAS de 30 kHz.

Resulta interesante estudiar la evolución del pico de correlación a 15.5 ppm debido a una coherencia DQ entre los protones de los puentes de hidrógeno y el metino del grupo isopropilo lateral de la *N*-iPAAm. Como se mencionó anteriormente, este pico es el principal indicativo de la interacción entre

ambos monómeros, y no está presente a pH 5.5 para ninguno de los copolímeros. Sin embargo este pico aparece claramente cuando se disminuye el pH a 4.5. Esto relaciona de manera directa la interacción entre ambos monómeros con el colapso pH dependiente de los copolímeros a pH 4 y con los cambios en el aspecto de la muestra.

#### 4.4. BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] I. Ando, M. Kobayashi, S. Kanekiyo, S. Kuroki, S. Ando, H. Matsukawa, H. Kurosu, H. Yasunaga, S. Amiya, "NMR spectroscopy in polymer science", en: "Experimental methods in polymer science.- Modern methods in polymer research and technology". Editor T. Tanaka. Polymers, Interfaces and Biomaterials Academic Press. San Diego. 2000
- [2] F. J. Blanco. "Espectroscopia de sólidos de alta resolución", en "Curso Avanzado de Resonancia Magnética Nuclear". Editor J. Santoro. Sociedad Española de Óptica, comité de Espectroscopia. Escuela de verano Jaca 2001.
- [3] K. Schmidt-Rohr, H.W. Spiess, "Multidimensional solid state NMR and polymers", Academic Press. London. 1994.
- [4] S. P. Brown, H. W. Spiess, *Chem. Rev.*, **2001**, *101*, 4125.
- [5] I. Schnell, H. W. Spiess, *J. Magn. Reson.*, **2001**, *151*, 153.
- [6] S.P. Brown, I. Schnell, J.D. Brand, K. Müllen, H.W. Spiess, *Phys.Chem.Chem. Phys.*, **2000**, *2*, 1735.
- [7] I. Schnell, S. P. Brown, H. Y. Low, H. Ishida, H. W. Spiess, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 11784.
- [8] I. Schnell, B. Langer, S.H.M. Söntjens, M. H.P. van Genderen, R.P. Sijbesma, H.W. Spiess, *J. Magn. Reson.* **2001**, *150*, 57.
- [9] E. R. Andrew, A. Bradbury, R. G. Eades, *Nature*, **1958**, *182*, 1659.
- [10] I. Lowe, *Phys. Rev. Lett.*, **1959**, *2*, 285.
- [11] D. W. Crick, S. D. Alexandratos, *Macromolecules*, **1993**, *26*, 3267.
- [12] D. Doskocilova, B. Schneider, J. Jakes, *J. Mag. Reson.*, **1978**, *29*, 79.
- [13] H. D. H. Stöver, J. M. J. Fréchet, *Macromolecules*, **1989**, *22*, 1574.
- [14] H. Ohta, I. Ando, S. Fujishige, K. Kubota, *J. Mol. Struct.*, **1991**, *245*, 391.
- [15] K. Hoon Min, H. Kurosu, I. Ando, T. Yamamoto, T. Kanbara, *Macromolecules*, **1991**, *24*, 2011.
- [16] U. Friedrich, I. Schnell, S. P. Brown, A. Lupulescu, D. E. Demco, H. W. Spiess, *Mol. Phys.*, **1998**, *95*, 1209.
- [17] J. Gottwald, D. E. Demco, R. Graf, H. W. Spiess, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, *243*, 314.
- [18] S. M. De Paul, K. Saalwächter, R. Graf, H. W. Spiess, *J. Magn. Reson.*, **2000**, *146*, 140.
- [19] W. Sommer, J. Gottwald, D.E. Demco, H.W. Spiess, *J.Magn.Reson.A.*, **1995**, *113*, 131.
- [20] F. Zeng, Z. Tong, H. Feng, *Polymer*, **1997**, *38*, 5539.

- [21] H. Yasunaga, I. Ando, *J. Mol. Struct.*, **1993**, *301*, 129.
- [22] M. Wilhelm, M. Neidhöfer, S. Spiegel, H. W. Spiess, *Macromol. Chem. Phys.*, **1999**, *200*, 2205.
- [23] V. J. McBrierty, K. J. Packer, "Nuclear magnetic resonance in solid polymers", Editores E. A. Davis, I. M. Ward. Cambridge University Press. 1993.
- [24] F. A. Bovey, P.A. Mirau. "NMR of Polymers", Academic Press. London. 1996.
- [25] M. V. Badiger, P. R. Rajamojanan, M. G. Kulkarni, S. Ganapathy, R. A. Mashelkar, *Macromolecules*, **1991**, *24*, 106.
- [26] T. Takuhiro, T. Amiya, A. Mamada, T. Tanaka, *Macromolecules*, **1991**, *24*, 2936.
- [27] M. V. Deshmukh, A.A. Vaidya, M.G. Kulkarni, P.R. Rajamohanan, S. Ganapathy, *Polymer*, **2000**, *41*, 7951.
- [28] Y. Muroga, T. Yosida, S. Kawaguchi, *Biophys. Chem.*, **1999**, *81*, 45.
- [29] R. A. Stile, W. R. Burghardt, K. E. Healy, *Macromolecules*, **1999**, *32*, 7370.
- [30] K. Kratz, T. Hellwg, W. Eimer, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **2000**, *170*, 137.
- [31] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7512.
- [32] I. Calderara, R. Gougeon, L. Delmotte, V. Lemeë, D. J. Lougnot, *J. Polym. Sci.: Polym.Chem.*, **1997**, *35*, 3619.
- [33] H.G. Schild, *Prog. Polym.Sci.*, **1992**, *17*, 163.
- [34] J. S. Scarpa, D. D. Mueller, I. M. Klotz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 6024.
- [35] Y. Maeda, T. Higuchi, I. Ikeda, *Langmuir*, **2000**, *16*, 7503.
- [36] M. Heskins, J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci.-Chem.*, **1968**, *A2(8)*, 1441.
- [37] G. M: Eichenbaum, P. F. Kiser, S.A. Simon, D. Needham, *Macromolecules*, **1998**, *31*, 5084.
- [38] G. Staikos, G. Boikas, K. Karayanni, *Polym. Int.*, **1996**, *41*, 345.
- [39] D. Dhara, C.K. Nisha, P.R. Chattherji, *Macromol.Chem.Phys.*, **2001**, *202*, 3617
- [40] F. L. Chen, E. M. Pearce, T. K. Kwei, *Polymer*, **1988**, *29*, 2285.
- [41] M. T. Garay, C. Alava, M. Rodriguez, *Polymer*, **2000**, *41*, 5799.
- [42] M. Koussathana, P. Lianos, G. Staikos, *Macromolecules*, **1997**, *30*, 7798.
- [43] O. E. Philipova, D. Hourdet, R. Audebert, A. R. Khokhlov, *Macromolecules*, **1997**, *30*, 8278.
- [44] E. A. Bekturov, L. A. Bimendina, *Adv. Polym. Sci.*, **1981**, *41*, 99.
- [45] V. Crescenzi, *Adv. Polym. Sci.*, **1968**, *5*, 358.
- [46] J. C. Leyte, M. Mandel, *J. Polym. Sci.*, **1964**, *A(2)*, 1879.
- [47] I. Soutar, L. Swanson, *Macromolecules*, **1994**, *27*, 4301.
- [48] F. Olea, H. Rosenbluth, J. K. Thomas, *Macromolecules*, **1999**, *32*, 8077.
- [49] P. J. Kay, D. P. Kelly, G. I. Milgate, F. E. Treolar, **1976**, *177*, 885.

- [50] S. R. Tonge, B.J. Tighe, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2001**, *53*, 109.
- [51] D. E. Joyce, T. Kurucsev, *Polymer*, **1981**, *22*, 415.
- [52] C. Heitz, M. Rawiso, J. François, *Polymer*, **1999**, *40*, 1637.
- [53] M. Nagasawa, T. Murase, K. Kondo, *J. Phys. Chem.*, **1965**, *69*, 4005.

## 5. EQUILIBRIO Y DINÁMICA DE HINCHAMIENTO

### 5.1. INTRODUCCIÓN

---

La propiedad más característica de los hidrogeles y que los hace adecuados para cualquiera de sus aplicaciones es su capacidad de hinchamiento. Por ello, tanto el estudio del grado de hinchamiento en el equilibrio, así como el de su cinética, son de fundamental importancia. El estudio de estos parámetros resulta especialmente interesante en los sistemas empleado en nuestro trabajo debido a sus características de hinchamiento “inteligente”, capaz de responder a estímulos del medio externo.

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, como indica su estructura parcialmente ordenada. Al introducir el gel en un medio acuoso, las interacciones agua-polímero compiten con las de agua-agua. El balance de estas interacciones está condicionado por cambios infinitesimales del entorno, como pH, temperatura, fuerza iónica, radiación, adición de un segundo componente al medio... Esta acusada influencia es debida a que las interacciones que se establecen son de tipo no covalente. De forma similar a un fluido de van der Waals, los geles poliméricos puedan sufrir una transición volumétrica de fase. En el caso de los geles, la fase gas-líquido corresponde al estado hinchado y colapsado, respectivamente. La transición de fase en un gel ha sido contemplada análogamente a la transición de ovillo estadístico a glóbulo que ocurre en disoluciones poliméricas y la temperatura de transición como una temperatura  $\theta$ . La causa fundamental que determina el hinchamiento de un gel es el volumen excluido. A la temperatura  $\theta$ , el  $V_{ex} = 0$ , y las cadenas se comportan como cadenas ideales gaussianas sin perturbar. Cuando  $V_{ex} > 0$  las cadenas se expanden por efectos repulsivos, a  $V_{ex} < 0$ , la atracción predomina y se produce el colapso.

En la literatura pueden encontrarse diversas teorías que explican la transición de fase de los geles.<sup>[1-8]</sup> 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. Algunos modelos incluyen también interacciones específicas del gel en medio acuoso. La interpretación de los efectos osmóticos debido a los iones, es muy parecida en todas las teorías que hacen uso de la potencial de Donnan. Sin embargo, son las expresiones de las otras tres contribuciones para las que existe un mayor desacuerdo. Muchos de estos modelos utilizan la teoría de Flory-Huggins<sup>[9]</sup> para describir la energía libre de mezcla y la contribución debida a la elasticidad. A pesar de gran interés que presenta este problema, no ha sido la intención de este trabajo entrar en estas discusiones.

De una forma general diremos que cuando un gel se pone en contacto con un disolvente, se hincha o deshincha hasta que se alcanza el equilibrio termodinámico. Según las teorías termodinámicas clásicas,<sup>[9]</sup> 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. En el caso de los geles cargados, además de la contribución de estas dos interacciones a la presión osmótica, hay que tener en cuenta la contribución de los grupos iónicos de estructura polimérica. Estos atraen iones hidratados de signo contrario que tienden a expandir el gel. De aquí derivan las propiedades superabsorbentes de los polielectrolitos. Debido a que las cargas están fijas a la cadena polimérica, es necesaria también la presencia de contra-iones para que se cumpla el principio de electroneutralidad del sistema. Para estos contra-iones sería favorable termodinámicamente abandonar el gel, porque de esta forma aumentaría su entropía al tener más posibilidad de movimientos, pero esto violaría la electroneutralidad, por lo que se ven forzados a permanecer dentro en su interior. Esto genera una significativa presión osmótica que induce el hinchamiento de forma que los contra-iones tienen más espacio para moverse. De manera similar, aumentando la fuerza iónica y de esta forma la concentración de iones en el medio externo, se reduce la diferencia de concentración de iones móviles entre el interior y el exterior del gel, lo que disminuye el grado de hinchamiento.<sup>[10]</sup>

El comportamiento de los copolímeros y las redes interpenetradas no puede describirse simplemente considerando las características aisladas de los homopolímeros. La combinación de ambos monómeros da lugar a nuevos efectos que deben afectar tanto al equilibrio como a la dinámica de hinchamiento de los geles. En general, la introducción de cargas en el gel neutro de *N*-iPAAm debe incrementar su grado de hinchamiento en el equilibrio debido a la nueva contribución de los iones a la presión osmótica. Esta presión adicional compite con las fuerzas hidrofóbicas atractivas de las unidades de *N*-iPAAm, y modifica de manera significativa el balance hidrofílico/hidrofóbico del sistema. La adición de comonómeros tiende a aumentar la LSCT y disminuye la termosensibilidad.<sup>[11]</sup> El balance entre las fuerzas hidrofóbicas atractivas y las interacciones electrostáticas repulsivas puede modificarse mediante factores como el pH y la fuerza iónica del medio. Por otra parte, en el caso del sistema formado por *N*-iPAAm y MAA, también se ha demostrado la existencia de complejos y fuertes interacciones mediante puentes de hidrógeno en medio acuoso, que sólo pueden tener lugar con la forma neutra del ácido carboxílico. A pHs ácidos este tipo de interacciones puede dar lugar a comportamientos complejos, como por ejemplo en el caso de *P(N*-iPAAm-*co*-AA), a una transición volumétrica de fase en dos etapas.<sup>[12]</sup> La mayor estabilidad térmica de los puentes de hidrógeno en los copolímeros e IPNs que en el *P*(MAA), encontrada en los experimentos de DQ NMR, ha sido interpretada considerando la existencia de interacciones hidrofóbicas. El papel de estas interacciones hidrofóbicas en la estabilización de los puentes de hidrógeno es ya conocido<sup>[13]</sup> y puede dar lugar a comportamientos aun más complejos.

Aunque en la literatura se pueden encontrar numerosos estudios del comportamiento en el hinchamiento de polímeros hidrofílicos, la mayoría de ellos se refieren a los valores de hinchamiento en el equilibrio y sus cambios con el pH, la temperatura y la composición y son menos los que estudian aspectos cinéticos del hinchamiento/deshinchamiento.<sup>[14-23]</sup> Esto puede ser debido a la influencia de gran número de factores que dan lugar a cambios dinámicos y como consecuencia a características anómalas en sus cinéticas de hinchamiento. 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. En el caso de fármacos incorporados en un polímero en estado vítreo, depende de la difusión de agua para mejorar su movilidad en la matriz. Un adecuado diseño de la matriz polimérica, nos permitirá desarrollar sistemas muy específicos de control. Para ello resulta fundamental un conocimiento profundo de los parámetros que determinan el equilibrio y la dinámica de hinchamiento de los hidrogeles.

## 5.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

---

En los ensayos de hinchamiento se emplearon hidrogeles en forma de disco. Las muestras secas son muy rígidas, por lo que fue necesario cortar los discos en estado hinchado. Debido a que las diferencias en la morfología de los discos podrían dar lugar a problemas en la interpretación de los resultados, se empleó el siguiente procedimiento para obtener muestras con dimensiones y peso muy similares. Las láminas de gel sintetizadas y purificadas se sumergieron en un pequeño volumen de agua destilada (1:6 polímero/agua, p/p) y se dejaron equilibrar. Posteriormente, se troquelaron en discos de 15 mm de diámetro, dejándose secar en condiciones ambientales, previamente a ser sometidas a vacío ( $10^{-3}$  mm de Hg) durante aproximadamente 24 horas. Este procedimiento nos permitió establecer unas condiciones iniciales muy precisas y reproducibles.

El análisis del hinchamiento tanto dinámico como en el equilibrio se llevo en un baño termostático. Para el control del pH y la fuerza iónica del medio, se emplearon tampones fosfato (pH 2-9, fuerza iónica 0.1M). Las muestras se introdujeron en un volumen apropiado de medio y se dejaron hinchar hasta alcanzar el equilibrio. Con el fin de estudiar la cinética del hinchamiento, a intervalos de tiempo determinados las muestras eran extraídas del medio de hinchamiento, secando cuidadosamente su superficie con papel de filtro, pesadas en una balanza Mettler-Toledo® AB104-S, para ser finalmente devueltas al mismo medio. El grado de hinchamiento normalizado a un tiempo  $t$  ( $Q_t$ ), se calculó en términos de peso de agua por peso de polímero seco empleando la siguiente expresión:

$$Q_t = \frac{m_t - m_0}{m_0} = \frac{W_t}{m_0} \quad (1)$$

donde  $m_0$  es el peso inicial del disco de polímero seco, es decir, el peso a tiempo  $t = 0$ ,  $m_t$  es el peso al cabo de un tiempo  $t$  y  $W_t$  es el peso del agua absorbida por el gel a tiempo  $t$ . Por lo que el hinchamiento en el equilibrio normalizado ( $Q_\infty$ ), viene dado por la expresión,

$$Q_\infty = \frac{m_\infty - m_0}{m_0} = \frac{W_\infty}{m_0} \quad (2)$$

Para estudiar la sensibilidad térmica, una vez equilibradas las muestras eran sometidas a un salto de temperatura y se dejaban re-equilibrar al menos un día, determinando su nuevo grado de hinchamiento en el equilibrio ( $Q_\infty$ ).

Con el fin de estudiar el efecto que la historia previa de hinchamiento tenía en las cinéticas de absorción posteriores, se emplearon tres protocolos experimentales para los que se adoptó la siguiente nomenclatura:

(i).- *Muestras control*. Muestras secas tal y como se obtuvieron de la síntesis de los geles (pH  $\approx$  5). Estas muestras se sometieron a hinchamiento sin ningún tratamiento previo. Se encuentran tan sólo parcialmente ionizadas debido a las trazas de hidróxido sódico empleado para neutralizar la mezcla de reacción. Cuando se comparen con muestras a las que se haya dado algún tratamiento se denominarán “pH 7 (pH de la síntesis)”. Donde el primer pH se refiere al del medio en el que se lleva a cabo el ensayo y entre paréntesis el tratamiento previo.

(ii).- *Muestras sin secar después del tratamiento*. Otra serie de muestras se sometió a la siguiente historia: Las muestras de la síntesis fueron hinchadas y equilibradas a pH 2. Sin secar las muestras se procedió a cambiar el pH del medio de ensayo. Estas muestras se denominarán “pH 7(pH 2 hinchadas)” donde el primer pH se refiere al medio en el que se lleva a cabo el ensayo y entre paréntesis el pH del medio en el que se llevó a cabo el tratamiento previo de la muestra. Es necesario mencionar que el valor de hinchamiento en el equilibrio  $Q_{\infty}$  en el tratamiento previo a pH 2, es muy pequeño cuando se compara con el obtenido en el ensayo a pH 7, y por tanto despreciable. A tiempo  $t=0$ , la relación  $Q_t/Q_{\infty}$  es inferior al 0.03% para las muestras objeto de estudio.

(ii).- *Muestras secas después del tratamiento*. Una tercera serie de muestras se trató, en medios de distintos pHs (pH 2, 4 y 7) hasta que se alcanzó el equilibrio y posteriormente se procedió a su secado en condiciones ambientales y se sometieron a vacío durante aproximadamente 24 h para eliminar totalmente los restos de disolvente. En el paso siguiente, estas muestras se hincharon en medios tamponados de distintos pHs con el fin de llevar a cabo los experimentos cinéticos. La nomenclatura para estas muestras será, por ejemplo “pH 7 (pH 2)”, donde el primer pH se refiere al medio en el que lleva a cabo el ensayo y entre paréntesis el pH del medio en el que se llevó a cabo el tratamiento previo de la muestra.

### 5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

#### 5.3.1. EQUILIBRIO DE HINCHAMIENTO

##### 5.3.1.1. INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN Y EL pH A 25°C.

De forma general se puede decir que el hinchamiento de todas las muestras estudiadas, con excepción de la P(N-iPAAm), muestra una marcada dependencia con el pH, que se debe a la introducción de grupos ionizables en la estructura del polímero. La densidad de carga efectiva depende de la composición del polímero y del pH del medio. En las Figs. 1(a) y 1(b) se muestra el valor de hinchamiento en el equilibrio ( $Q_{\infty}$ ) para las series de copolímeros con un 0.25 y un 0.50% de entrecruzante, en función de la composición a 25°C. Por encima del  $pK_a$  del MAA, es decir a pHs

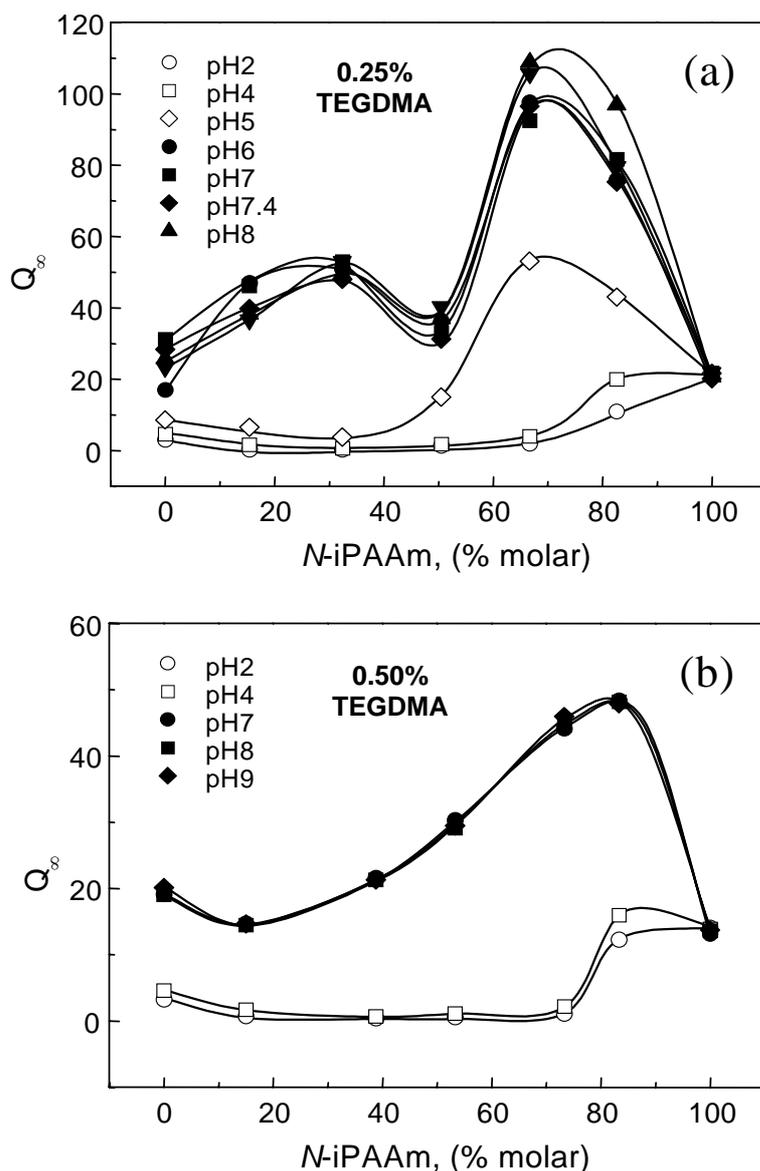
superiores a 4.65, todas las muestras presentan una tendencia muy similar que no depende del pH sino tan sólo de la composición del polímero.

Puede apreciarse claramente la influencia del entrecruzamiento químico en las muestras, siendo el grado de hinchamiento mucho menor en todos los casos para los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante, Fig. 1(b), cuando se comparan con los del 0.25 %, Fig. 1(a). Para los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante, los valores de  $Q_\infty$  a los tres pHs básicos (pH 7, 8 y 9) coinciden. Las ligeras diferencias encontradas para la otra serie de copolímeros dependiendo del pH pueden ser atribuidas al mayor grado de hinchamiento que alcanzan, lo que hace más difícil su manejo, aumentando por tanto el error experimental. En este intervalo de pH básico, para ambas series, los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm se hinchan mucho más que sus correspondientes homopolímeros P(*N*-iPAAm) y P(MAA), y en ambas figuras se aprecia un claro máximo en la zona de esta composición. Sin embargo, el entrecruzamiento químico también parece afectar a la forma en la que  $Q_\infty$  depende de la composición. En el caso de los copolímeros con un 0.25 % de entrecruzante, se puede apreciar un segundo máximo relativo en la zona de los copolímeros de mayor contenido en MAA y un mínimo en la zona de los copolímeros de contenido equimolecular de ambos monómeros. Este efecto no aparece en los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante y mientras que el máximo de la curva se mantiene en la zona de las muestras de mayor contenido en *N*-iPAAm, no aparece el máximo relativo y por el contrario parece que tiene lugar un desplazamiento del mínimo a zonas de mayor contenido en MAA.

En ambas series de copolímeros, en el intervalo por debajo de pH 5 la tendencia de  $Q_\infty$  es muy diferente a la que tiene a pHs básicos. En el caso de los copolímeros con un 0.25 % de entrecruzante se observa como a pH 5 el hinchamiento disminuye en gran medida para todos los copolímeros, pero muy especialmente para los de mayor contenido en MAA, desapareciendo el máximo relativo para un 30% molar de *N*-iPAAm. Al comparar ambos tipos de muestras en las Figs. 1(a) y 1(b) se observa como la forma de la curva obtenida para los copolímeros con un 0.25 % de entrecruzante a pH 5 es muy similar a la obtenida para los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante a pH más básico. Sin embargo, a pHs más ácidos (pH 4 y pH2) el comportamiento es muy similar en ambas series de copolímeros. Como se ha mencionado anteriormente, la P(*N*-iPAAm) no presenta grupos ionizables, y por tanto su hinchamiento no depende del pH, como se puede apreciar claramente en la Fig. 1. Por el contrario, el  $Q_\infty$  de todos los copolímeros presenta una marcada dependencia con el pH y casi todos ellos presentan unos equilibrios de hinchamiento a pH ácido muy inferiores al P(MAA).

Observando la representación de las superficies de respuesta para el grado de hinchamiento en función de la composición y del pH del medio que se muestra en la Fig. 2 se puede tener una visión muy completa de la influencia simultánea de estas dos variables. Para las dos series de copolímeros, la zona de máximo grado de hinchamiento se encuentra a pH neutro y ligeramente básico en la región de composición más rica en *N*-iPAAm. Por el contrario, los copolímeros de mayor contenido en MAA tienen un menor grado de hinchamiento en ambos casos. El mínimo de las superficies se encuentra en la región

de bajos pHs y entre un 30-70% molar de *N*-iPAAm en el copolímero. Debido al menor grado de hinchamiento alcanzado por las muestras con un 0.50 % de entrecruzante, la zona del mínimo se aprecia más claramente en la Fig. 2(b). En ambos casos se observa como la disminución en el grado de hinchamiento tiene lugar a pHs más bajos en el caso de los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm.



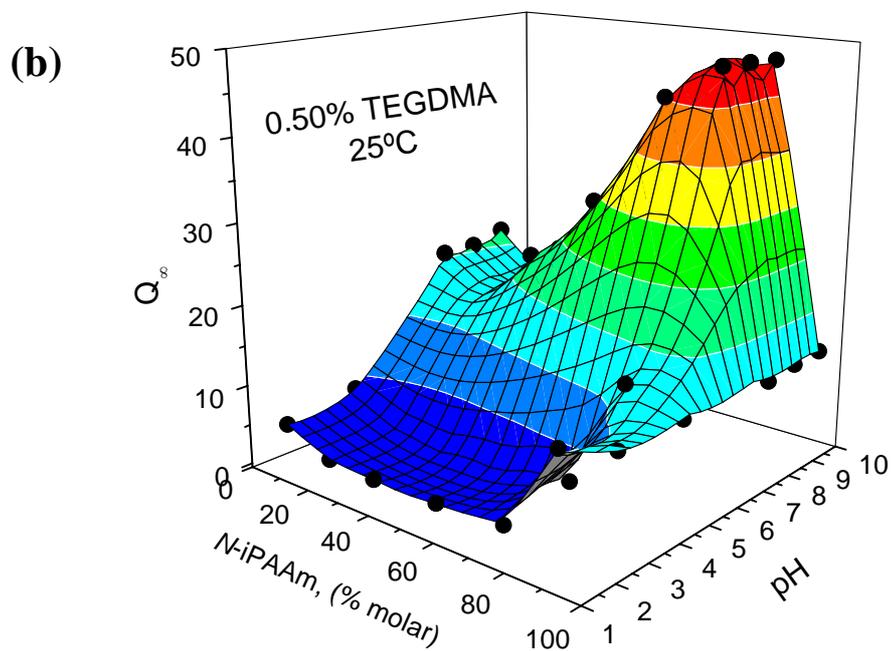
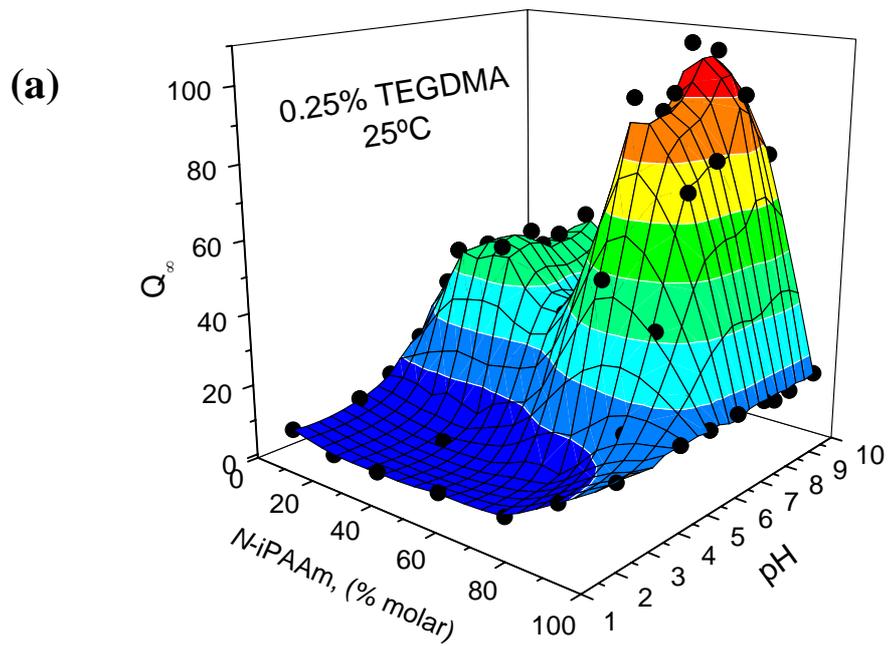
**Figura 1.**  $Q_{\infty}$  a 25 °C en función del pH y la composición molar de la muestra para las dos series de copolímeros *P*(*N*-iPAAm-co-MAA) con un (a) 0.25 % (p/p) y un (b) 0.50 % (p/p) de entrecruzante.

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. En las medidas de  $^1\text{H}$  MAS NMR de muestras ligeramente hinchadas en  $\text{D}_2\text{O}$  se comprobó que las muestras de mayor contenido en *N*-iPAAM presentaban las líneas más finas, lo que indica que su movilidad es también la más alta. Por el contrario, la movilidad de los copolímeros de mayor contenido en MAA por  $^1\text{H}$  MAS NMR era mucho menor.

Al estudiar el grado de hinchamiento en función de la composición de las muestras para valores elevados de pH, se observa como la incorporación de pequeñas cantidades de MAA aumenta muy marcadamente el valor de  $Q_\infty$ . Esto podría interpretarse considerando estas unidades monoméricas hidrofílicas de MAA ionizado, impiden las interacciones hidrofóbicas atractivas que limitan el hinchamiento de la P(*N*-iPAAM) pura, y acomodan una contribución osmótica adicional debida a las cargas. Esto podría explicar el máximo observado para los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAM en ambos tipos de muestras. Por otro lado, la incorporación de *N*-iPAAM a la cadena principal de MAA podría actuar disminuyendo la rigidez de las cadenas poliméricas y aumentando la capacidad de la red a hincharse en agua. Lo que explicaría el máximo relativo que se observa en los copolímeros de mayor contenido en MAA en las muestras con un 0.25 % de entrecruzante. En el caso particular de estas muestras, el copolímero con un contenido del 50 % molar en *N*-iPAAM presenta un comportamiento peculiar tanto en condiciones básicas como ligeramente ácidas. El valor mínimo de  $Q_\infty$  a pH básico aparece para esta composición y puede atribuirse a una mayor interacción entre los bloques de MAA y *N*-iPAAM consigo mismos. El simple balance entre las contribuciones osmóticas e hidrofóbicas da lugar a este equilibrio. Esta interpretación se ve corroborada con los resultados obtenidos en el estudio de las propiedades térmicas. La curva en forma de S obtenida al estudiar el comportamiento de la  $T_g$  frente a la composición se debe a que, mientras los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAM presentan una  $T_g$  baja y similar a la del homopolímero de *N*-iPAAM, y los de mayor contenido en MAA muy similar a la del correspondiente homopolímero, el copolímero de contenido equimolecular presenta una  $T_g$  intermedia a los valores obtenidos para ambos homopolímeros.

A pHs ácidos el grado de hinchamiento disminuye para todos los copolímeros. Este deshinchamiento no puede ser tan sólo atribuido a la desaparición de la contribución osmótica de los grupos ionizados de MAA, ya que como se observa claramente en la Fig. 2(b) el grado de hinchamiento de la mayoría de los copolímeros a pH ácido es menor que el del P(MAA). Por otro lado se observa como el grado entrecruzamiento químico no parece influir los valores de  $Q_\infty$  de los copolímeros a estos pHs. Estos resultados se pueden relacionar con los presentados previamente sobre la formación de complejos en función del pH, y por tanto del grado de ionización del MAA y la composición del copolímero.



**Figura 2.** Superficies de respuesta para  $Q_{\infty}$  en función de la composición molar del copolímero y el pH del medio a 25 °C para las dos series de copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) con (a) un 0.25 % (p/p) y (b) un 0.50 % (p/p) de entrecruzante.

En el intervalo de bajos pHs el hinchamiento está controlado por el entrecruzamiento físico debido a la formación de complejos interpoliméricos y no muestra dependencia con el entrecruzamiento químico. La aparición de los complejos por puentes de hidrógeno, sólo puede tener lugar cuando el grupo carboxílico se encuentra en forma no ionizada.<sup>[12]</sup> En los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm, el deshinchamiento, y por tanto el inicio de las interacciones, tiene lugar a un pH más bajo que para los de mayor contenido en MAA. Por RMN se demostró que la dimerización del ácido carboxílico del MAA comienza a pHs más altos que la formación de complejos interpoliméricos hidrofóbicos debidos a las interacciones por puente de hidrógeno entre el grupo carboxílico de MAA y el grupo amida de la *N*-iPAAm.

Los complejos entre ambas unidades comonoméricas se ven reforzados debido a la existencia de interacciones hidrofóbicas entre el grupo isopropilo de la *N*-iPAAm y el metilo del MAA respectivamente. Koussathana et al.<sup>[24]</sup> demostraron que en los complejos formados por P(AA) y P(*N*-iPAAm), la interacción hidrofóbica tiene un máximo a una fracción en peso del 30% de P(AA). Relacionaron este hecho con la composición particular de los agregados. El grupo isopropilo de la *N*-iPAAm juega un importante papel, no sólo en la hidrofobicidad del complejo, sino también en su estequiometría. En nuestro caso también hemos comprobado como a pH ácido y 25 °C los mínimos del hinchamiento aparecen a composiciones entre el 30 y 70% molar de *N*-iPAAm, como se observa en las representaciones tridimensionales.

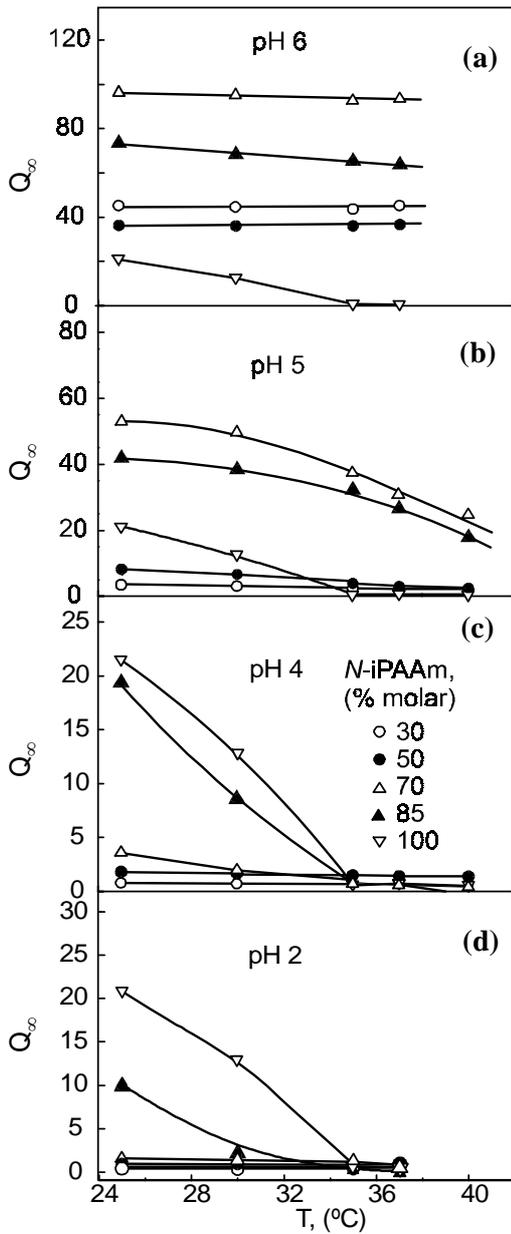
El copolímero con un 85 % molar de *N*-iPAAm aunque sufre una marcada disminución del grado de hinchamiento al descender el pH del medio, permanece relativamente hinchado a pH ácido, con un valor muy similar a la P(*N*-iPAAm). Esto puede ser debido a que al tener el menor porcentaje de MAA en su estructura, la formación de complejos interpoliméricos tiene lugar en menor grado de, forma que la disminución en el  $Q_{\infty}$  es debida a la pérdida de la contribución a la presión osmótica de los grupos carboxílicos ionizados.

#### 5.3.1.2. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

La sensibilidad térmica de los copolímeros no es tan significativa como al pH. Mediante medidas calorimétricas y de RMN se describió como a adición de MAA a la P(*N*-iPAAm) disminuye su sensibilidad térmica, y tan sólo los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm presentan la transición de fase inducida por la temperatura (LCST).

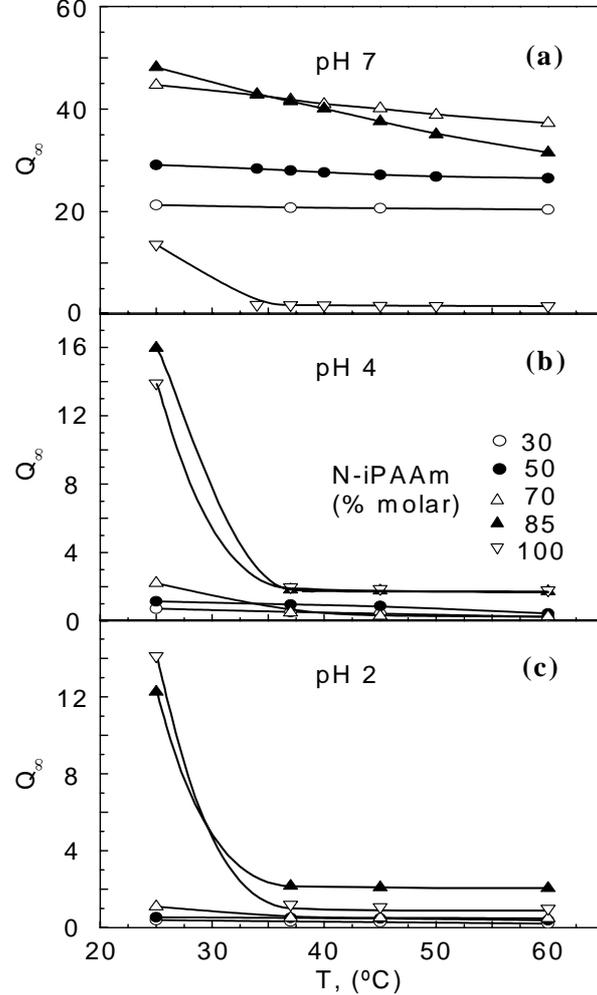
En las Figs. 3. y 4 se muestra la variación de  $Q_{\infty}$  con la temperatura a distintos pHs para las dos series de muestras con un 0.25 % y un 0.50 % de entrecruzante respectivamente. En todas las figuras se aprecia como la LCST del homopolímero de P(*N*-iPAAm) se encuentra alrededor de 33-34 °C, lo que está de acuerdo con los resultados calorimétricos, siendo además independiente del pH. Por el contrario, también se aprecia como la sensibilidad térmica de los copolímeros muestra una gran dependencia con el pH.

P(N-iPAAm-co-MAA), 0.25% TEGDMA



**Figura 3.** Influencia de la temperatura en el grado de hinchamiento en función del pH del medio para copolímeros con un 0.25 % (p/p) de entrecruzante.

P(N-iPAAm-co-MAA), 0.50% TEGDMA



**Figura 4.** Influencia de la temperatura en el grado de hinchamiento en función del pH del medio para copolímeros con un 0.50 % (p/p) de entrecruzante.

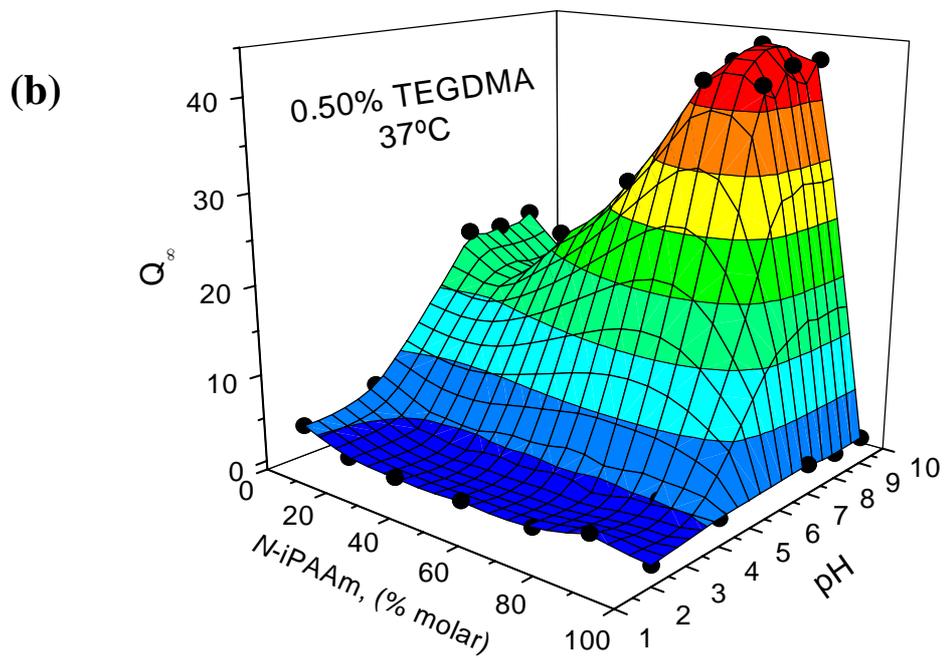
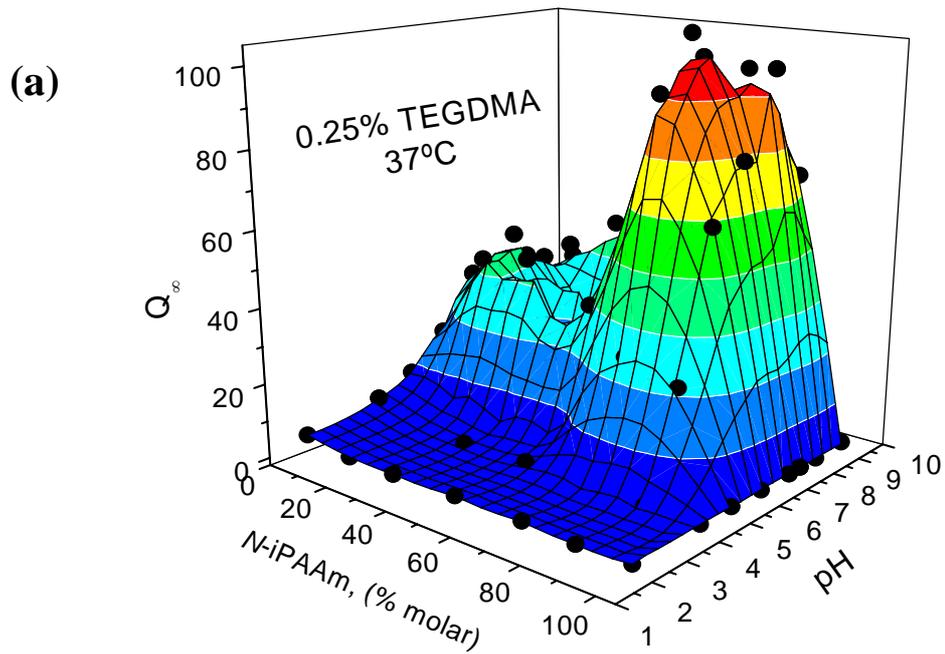
Para pHs por encima del  $pK_a$  del MAA la transición volumétrica que da lugar al estado colapsado en la P(N-iPAAm) desaparece para todos los copolímeros. La introducción de iones fijos en la estructura de la muestra acomoda una contribución osmótica adicional al hinchamiento que compite con las interacciones hidrofóbicas atractivas de las unidades de N-iPAAm. En la Fig. 4(a), que incluye temperaturas más elevadas, se aprecia claramente como también a pH neutro los copolímeros de mayor

contenido en *N*-iPAAm presentan una disminución lenta en el  $Q_{\infty}$  a medida que aumenta la temperatura de la muestra. Estos resultados corroboran los obtenidos mediante RMN y análisis térmico.

En los experimentos de RMN no se observa la LCST en los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm a pH básico, pero sí que se aprecia claramente en estos copolímeros a pH ácido. Por el contrario, por DSC es posible detectar la LCST a la misma temperatura que en la P(*N*-iPAAm) tanto a pH ácido como a pH básico, pero con menor intensidad en este último caso. Estas discrepancias se explicaron de acuerdo con Shibayama et al.<sup>[25-27]</sup> mediante la existencia de macro- y microtransiciones. Según estos autores,<sup>[27]</sup> la LCST determinada por DSC corresponde al inicio de la separación de estas fases, ya que la endoterma se relaciona con el inicio de las interacciones hidrofóbicas entre los residuos de *N*-iPAAm<sup>[27]</sup> que tiene lugar a la misma temperatura que en el homopolímero. Por el contrario los cambios observados en los estudios de hinchamiento, igual que sucedía por RMN, corresponden a la transición de volumen macroscópica que está controlada por el balance de fuerzas hidrofílicas e hidrofóbicas de la cadena principal.<sup>[27]</sup>

A pH básico, a pesar de la gran cantidad de grupos *N*-iPAAm de los copolímeros de mayor contenido en este monómero, la ionización de los residuos de MAA presentes en menor cantidad, es suficiente para contrarrestar las interacciones hidrofóbicas responsables de la transición térmica en la P(*N*-iPAAm). La interacción hidrofóbica va aumentando en intensidad al aumentar la temperatura como demuestra la disminución lenta, pero progresiva de  $Q_{\infty}$  observada en la Fig. 4(a) y debe llegar un punto en que será mayor que la hidrofilia aportada por residuos de MAA, y a esta temperatura tendrá lugar la transición macroscópica. A pH5, Fig. 3(b), disminuye el grado de ionización del ácido carboxílico y por tanto la hidrofilia de la muestra. Esto hace que, a partir de la LCST de la *N*-iPAAm, la temperatura tenga un mayor efecto en el valor de  $Q_{\infty}$  para los copolímeros con mayor contenido en este monómero y tiene lugar una mayor disminución en el volumen de la muestra para un descenso de temperatura menor. A pH más ácido por debajo del  $pK_a$  del MAA (pH2 y pH4) el cambio es más brusco y en el caso del copolímero con un 85 % molar de *N*-iPAAm, es similar al colapso de la P(*N*-iPAAm) pura. En el caso del copolímeros con un 70 % molar de *N*-iPAAm, que se encuentran en estado colapsado a causa de la formación de los complejos interpoliméricos al disminuir el pH, aunque el cambio no es tan marcado como en los del 85 %, si se aprecia una disminución aun mayor en su grado de hinchamiento.

El efecto práctico de todas estas variables se resume claramente en las Figs. 5 (a) y (b) en las que se presentan las superficies de respuesta para el grado de hinchamiento en función de la composición del copolímero y del pH del medio pero a 37 °C. Al comparar esta Fig. 5 con la Fig. 2 se observan las mayores diferencias en la zona de mayor contenido en *N*-iPAAm. El homopolímero de *N*-iPAAm no se ve afectado por el pH del medio, y a 25 °C mantiene un grado de hinchamiento constante para todos los pHs estudiado. Por el contrario, a 37 °C se encuentra colapsado para todo el intervalo de pHs. El homopolímero de MAA tan sólo se ve afectado por el pH y su hinchamiento no se modifica con la temperatura.



**Figura 5.** Superficies de respuesta para  $Q_{\infty}$  en función de la composición molar del copolímero y el pH del medio a 37 °C para las dos series de copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) con (a) un 0.25 % (p/p) y (b) un 0.50 % (p/p) de entrecruzante.

En la zona de los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm se observa un efecto muy interesante. El copolímero con un 85 % molar de *N*-iPAAm es el único de los sistemas sintetizados que presenta un comportamiento dependiente tanto del pH como de la temperatura. A 25 °C los copolímeros con un 85 % molar de *N*-iPAAm presentan un gran deshinchamiento al disminuir el pH del medio, consecuencia de la pérdida de la contribución de los grupos iónicos al hinchamiento. Sin embargo, al contrario de lo que sucede con el resto de los copolímeros, no se colapsan completamente, y mantienen un grado de hinchamiento muy similar al de la P(*N*-iPAAm) pura. Al aumentar la temperatura a 37 °C, el equilibrio de hinchamiento en la zona de pH básico no se ve muy afectado, pero por el contrario, en la zona de pH ácido tiene lugar una segunda transición en estas muestras, que da lugar a un colapso pH y termodependiente. Esto se aprecia claramente en la Fig. 5 (b) si se compara con la 2 (b), con la extensión del mínimo en el grado de hinchamiento a pH ácido para todo el intervalo de composiciones de los copolímeros.

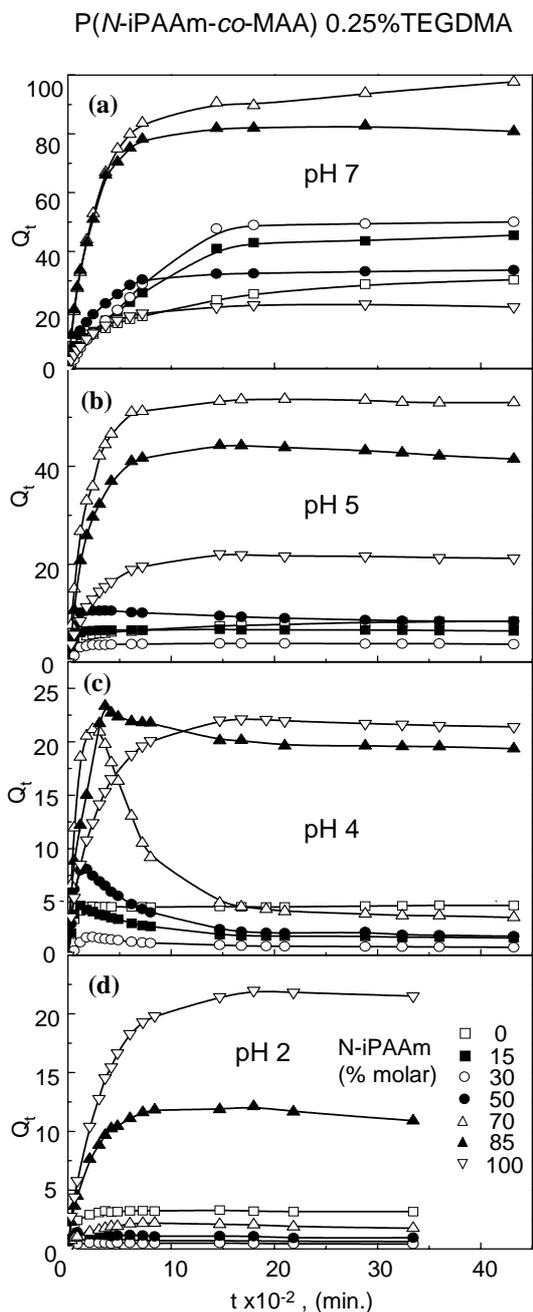
### 5.3.2. CINÉTICA DE HINCHAMIENTO

#### 5.3.2.1. HINCHAMIENTO DINÁMICO

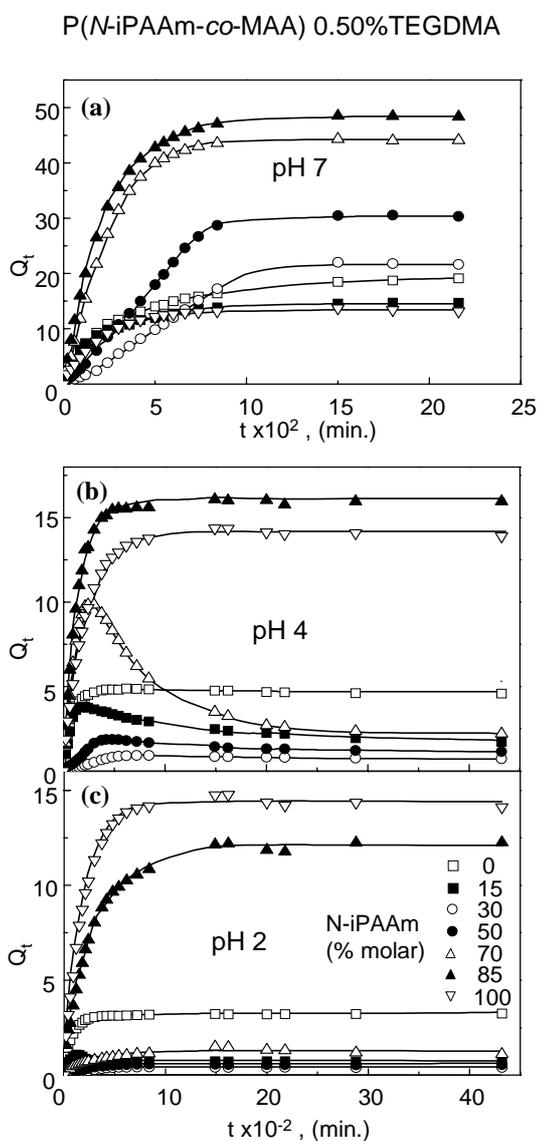
En las Figs. 6 y 7 se presentan los valores de  $Q_t$  en función del tiempo para una serie de hidrogeles tal y como se obtuvieron de la síntesis, a 25 °C. La Fig. 6. corresponde a los copolímeros con un 0.25 % (p/p) de entrecruzante a (a) pH 7, (b) pH 5, (c) pH4 y (d) pH 2; y la Fig. 7 a los copolímeros con un 0.50 % (p/p) de entrecruzante (a) pH 7, (b) pH 4 y (c) pH 2. A pH neutro y ligeramente básico, las curvas de hinchamiento dinámico en función de la composición del copolímero son prácticamente idénticas en ambas muestras, por lo que tan sólo se muestran las curvas de pH 7 como ejemplos representativos. A simple vista no se observa ningún comportamiento anómalo en estas curvas a este pH (Figs. 6 (a) y 7 (a)). Sin embargo puede apreciarse como en ambos casos las curvas con un 30 y un 50% molar de *N*-iPAAm parecen presentar cinéticas de hinchamiento muy lentas a pesar de alcanzar elevados grados de hinchamiento en el equilibrio, especialmente en el caso de los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante. En el intervalo de pHs bajos (por debajo de pH 5) el grado de hinchamiento disminuye de forma significativa, tal y como se describió en el apartado anterior, y a pH 4 se pueden detectar efectos anómalos en la forma de las curvas de hinchamiento de los copolímeros. En un primer paso la muestra se hincha, alcanza un máximo y posteriormente se deshincha hasta alcanzar su valor de hinchamiento en el equilibrio. El mayor nivel de deshinchamiento tiene lugar en el copolímero con un 70 % molar de *N*-iPAAm, que es también el que alcanza un mayor grado de hinchamiento en el equilibrio a pH neutro.

La Fig. 8 muestra el comportamiento de las IPNs, que son ricas en MAA, con un 2, 15 y 30% molar de *N*-iPAAm, respectivamente. El homopolímero de MAA y el copolímero con un 15 % molar de *N*-iPAAm se incluyen en la figura con fines comparativos. Las IPNs sintetizadas están compuestas fundamentalmente de MAA. El carácter hidrofóbico de las IPNs se ha atribuido a los complejos hidrofóbicos por puentes de hidrógeno entre la P(*N*-iPAAm) y el P(MAA) formados durante la síntesis.

Los puentes de hidrógeno son más efectivos en las IPNs que en los copolímeros ya que en estos no todas las cadenas son complementarias y en consecuencia existe menor cooperatividad que en el caso de las IPNs.



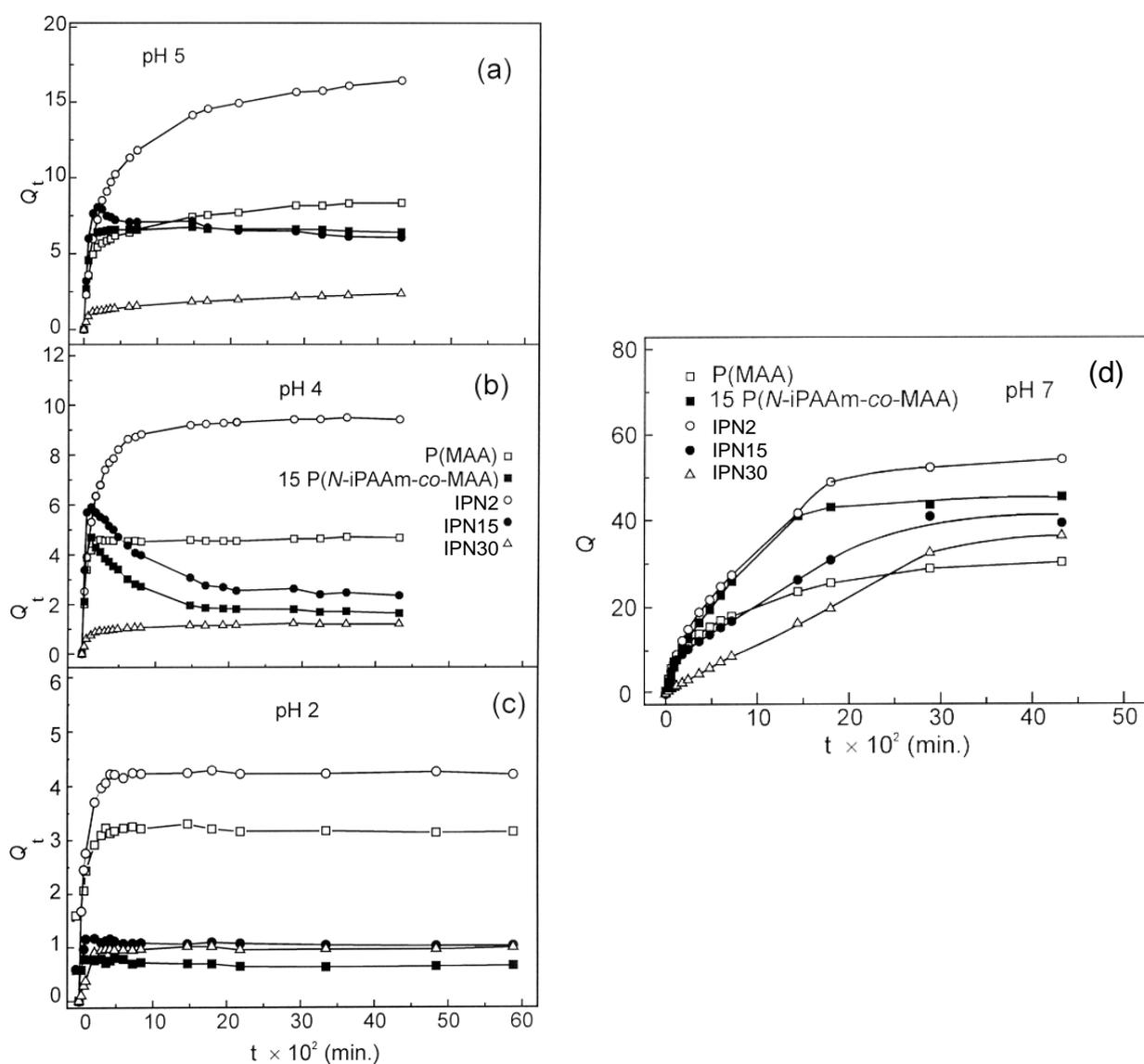
**Figura 6.** Influencia del pH en las curvas de hinchamiento en función del tiempo para los copolímeros con un 0.25 % (p/p) de entrecruzante.



**Figura 7.** Influencia del pH en las curvas de hinchamiento en función del tiempo para los copolímeros con un 0.50 % (p/p) de entrecruzante.

Observando las curvas de hinchamiento a pH 7, las IPNs tienen una mayor capacidad de hinchamiento que el P(MAA) puro, igual que sucedía en el caso de los copolímeros de mayor contenido en MAA. La IPN2 con un 2% molar de N-iPAAm, aumenta su contenido en agua más rápido que las otras

muestras. La IPN30, la mayor contenido en *N*-iPAAm de las estudiadas, se hincha muy despacio en las primeras etapas, pero después de un tiempo la velocidad de hinchamiento aumenta y sus valores de equilibrio son también más altos que los del P(MAA). Para los valores de pH más bajos, la IPN30 muestra un grado de hinchamiento en el equilibrio muy bajo, y similar para los pHs 2, 4 y 5, que puede ser debido a la estabilidad de los complejos interpoliméricos. La IPN15, con un 15 % molar de *N*-iPAAm muestra un comportamiento muy similar al del copolímero de la misma composición y ambos muestran un hinchamiento seguido de un deshinchamiento. La IPN2 muestra un comportamiento muy similar al homopolímero P(MAA), con un ligero incremento en su grado de hinchamiento en el equilibrio. El pequeño intervalo de composiciones estudiadas para las IPNs no nos permite extraer mas conclusiones de estas muestras.



**Figura 8.** Influencia del pH en las curvas de hinchamiento en función del tiempo para las redes interpenetradas con un 2, 15 y 30 % molar de *N*-iPAAm y un 0.25 % (p/p) de entrecruzante. En las figuras se incluyen las curvas del homopolímero P(MAA) y el copolímero con un 15% molar de *N*-iPAAm.

### 5.3.2.2. ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE HINCHAMIENTO A pHs POR ENCIMA DEL pK<sub>a</sub> DEL MAA.

De todo lo anteriormente expuesto se deduce que la interpretación de la cinética de hinchamiento de los geles estudiados no es sencilla. Para ello se deben tener en cuenta los múltiples factores que determinan el comportamiento de los geles sensibles a estímulos; Por un lado las fuerzas intra- e intermoleculares como las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas o los puentes de hidrógeno ejercen una gran influencia. Por otro lado, el agua puede dar lugar a cambios sustanciales en la estructura del gel, como por ejemplo una disminución en las interacciones de la cadena, plastifica el medio, disminuye la  $T_g$ , aumenta la hidrofilia, etc. Todos estos cambios son dinámicos y pueden dar lugar a efectos anómalos en la cinética de hinchamiento. En este apartado se estudiará la influencia de la composición del gel en la cinética de absorción de agua de las muestras a pHs por encima del pK<sub>a</sub> del MAA, a los que los grupos carboxílicos se encuentran ionizados ( $pK_a^{MAA} = 4.65$ ). Se ha explorado la posibilidad de calcular el coeficiente de difusión y se ha intentado determinar el orden cinético y las constantes de velocidad para los distintos hidrogeles.

Las propiedades de hinchamiento dinámico de un gel polimérico se pueden considerar desde dos puntos de vista diferentes, por un lado, el mecanismo de transporte que controla la absorción del disolvente, y por otro lado la velocidad de absorción o respuesta cinética. Ambas aproximaciones nos permiten obtener información acerca del tipo de difusión y valores para los coeficientes de difusión más o menos fiables.

En la literatura se pueden encontrar teorías que intentan predecir la cinética de hinchamiento de los geles. Li y Tanaka <sup>[28]</sup> sugirieron que las cinética de hinchamiento y deshinchamiento de una red polimérica obedece la siguiente relación:

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} B_n \exp(-t / \tau_n) \quad (3)$$

donde  $Q_t$  es el grado de hinchamiento a un tiempo  $t$ ,  $Q_\infty$  es el grado de hinchamiento en el equilibrio,  $B_n$  es una constante relacionada con la relación entre el modulo de cizalla y el módulo osmótico longitudinal.

$\sum_{n=1}^{\infty} B_n$  es igual a 1, por lo que en el límite a  $t$  largos, o si el primer tiempo característico de hinchamiento  $\tau_1$  es mucho mayor que el resto de  $\tau_n$ , todos los términos de orden superior ( $n \geq 2$ ) de la Ec. 3 pueden ser despreciados, y el hinchamiento en el equilibrio puede ser representado mediante una cinética de primer orden. La Ec. 3 puede escribirse como,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - B_1 \exp(-t / \tau_1) \quad (4)$$

Si suponemos que  $B_1=1$ , lo cual no es una mala aproximación puesto que para otros geles poliméricos como la gelatina <sup>[15]</sup>  $B_1 \cong 1$  y si además sustituimos  $K=1/\tau$ , la Ec. 4 queda como,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \exp(-Kt) \quad (5)$$

que es una ecuación de primer orden.

Sin embargo, otros autores <sup>[16, 29, 30]</sup> han propuesto una ecuación cinética de segundo orden para describir el hinchamiento. Esta cinética de segundo orden se ha justificado suponiendo que la velocidad de hinchamiento es proporcional tanto a  $(Q_\infty - Q_t)/Q_\infty$  como a  $S$ , que es la superficie del interior en la que se encuentran las zonas de la red polimérica que aun no han interactuado con el agua a tiempo  $t$ , pero que serán hidratadas y se hincharán a medida que transcurra el tiempo. Por ello el hinchamiento es proporcional al cuadrado  $(Q_\infty - Q_t)/Q_\infty$ , es decir,  $dQ/dt \propto [(Q_\infty - Q_t)/Q_\infty]^2$ . Por tanto la velocidad de hinchamiento a tiempo  $t$  puede expresarse como,

$$dQ/dt = K \cdot [Q_\infty - Q_t]^2 \quad (6)$$

que por integración entre los límites  $Q_t=0$  para  $t=0$  y  $Q_t$  para  $t$  da lugar a,

$$Q_t = \frac{KQ_\infty^2 t}{1 + KQ_\infty t} \quad (7)$$

la cual se reorganiza generando la ecuación de Robinson-Schott, <sup>[16, 29, 30]</sup>

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{KQ_\infty^2} + \frac{t}{Q_\infty} \quad (8)$$

De esta forma representando  $t/Q_t$  frente a  $t$ , se obtiene una recta con *pendiente* =  $1/Q_\infty$  y *ordenada en el origen* =  $1/KQ_\infty^2$ .

Como se describirá mas adelante, tanto la cinética de primer orden como la de segundo orden han sido empleadas para el análisis de los datos experimentales de hinchamiento de hidrogeles, y en algunos casos el empleo de una u otra es discutible.

En cuanto al mecanismo o la naturaleza del proceso de difusión, éste se puede predecir mediante el cálculo del número difusional de Deborah ( $De$ ), que se define como la relación entre el tiempo de relajación característico del polímero y el tiempo de difusión característico del penetrante. <sup>[31, 32]</sup> Dependiendo del valor de  $De$ , la difusión puede ser clasificada como Fickiana o anómala. Los coeficientes de difusión pueden ser determinados resolviendo la forma diferencial de la ley de Fick <sup>[33, 34]</sup> bajo un cierto número de suposiciones; por ejemplo, considerando que el coeficiente de difusión  $D$  del disolvente penetrante y el espesor de la película empleada permanece constante durante todo el proceso de hinchamiento. Para una geometría de película delgada, en la que la difusión en los bordes de la película puede ser despreciada, la cantidad de sustancia absorbida a cada momento puede ser descrita empleando la siguiente ecuación, <sup>[34]</sup>

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 D t}{h^2}\right) \quad (9)$$

donde  $D$  es el coeficiente de difusión en  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $t$  es el tiempo y  $h$  el espesor de la película. Esta ecuación converge rápidamente a tiempos cortos. Pero resulta evidente que para grados de hinchamiento muy altos, el valor de  $h$  no permanece constante. Para tiempos muy largos de hinchamiento los términos en  $n \geq 1$ , así como  $\ln(8/\pi^2)$  pueden ser despreciados en la Ec. 9, que se simplifica a,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} \cong 1 - \exp\left(\frac{-\pi^2 D t}{h^2}\right) \quad (10)$$

siendo idéntica a la Ec. 5 suponiendo que  $\pi^2 D/h^2 = K$ .

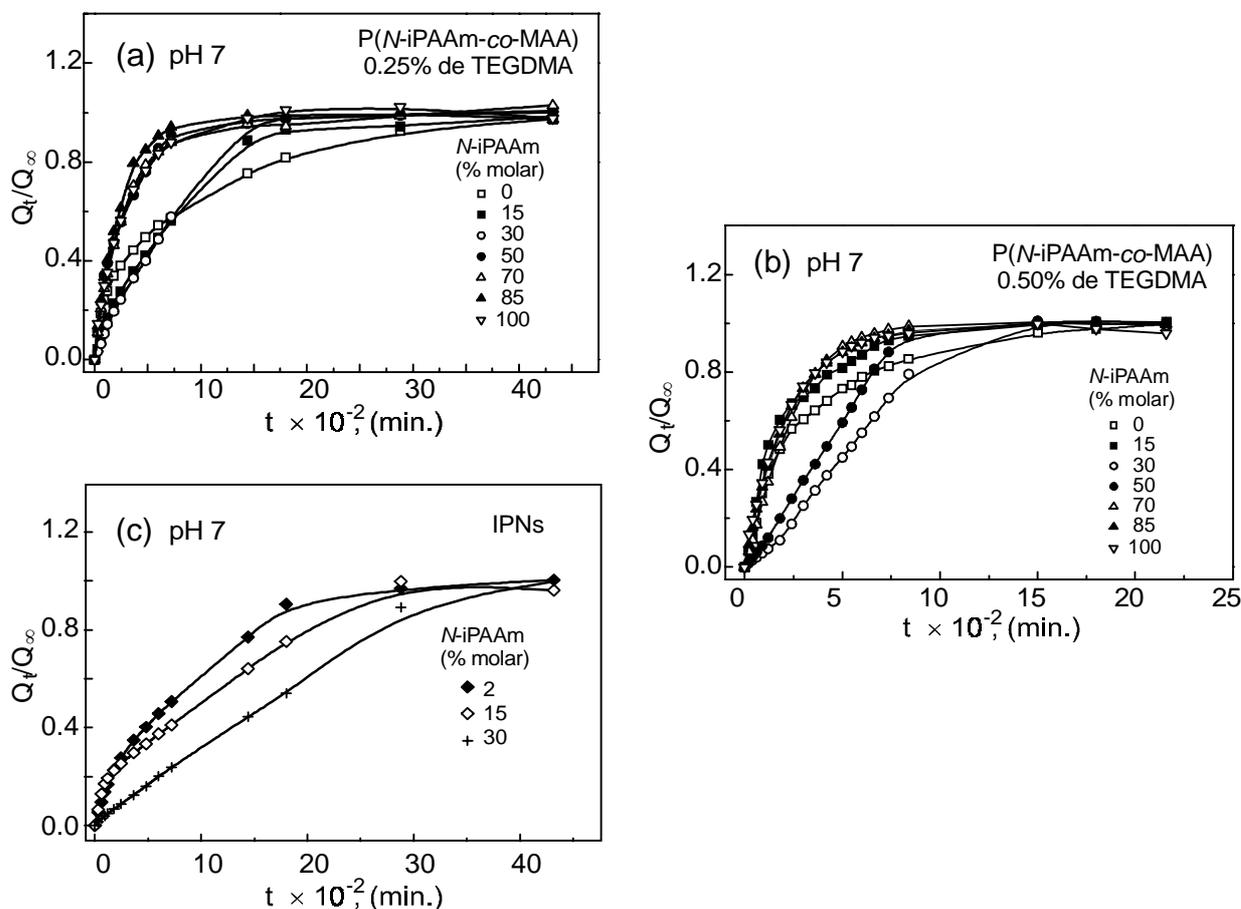
Para determinar la naturaleza del mecanismo de transporte, las curvas pueden ser ajustadas para valores de absorción de agua de hasta  $Q_t/Q_\infty = 0.60$  a la ecuación exponencial heurística,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k \cdot t^n \quad (11)$$

donde  $Q_t/Q_\infty$  es la absorción fraccional de agua por parte del polímero,  $t$  es el tiempo,  $k$  es una constante característica del sistema y  $n$  es un exponente característico del modo de transporte del penetrante. Esta ecuación ha sido propuesta por Ritger y Peppas<sup>[35]</sup> como un método sencillo para diferenciar procesos de transporte no Fickianos.<sup>[36]</sup> La relación entre el tiempo de relajación característico y el tiempo de difusión característico, es decir, el número de Deborah ( $De$ ), determina la forma de la curva de hinchamiento. Cuando la relajación es mucho más rápida que la difusión ( $De \gg 1$ ) el valor de  $n$  es igual a 0.5 indicando un mecanismo de transporte Fickiano. Si  $De \ll 1$  la difusión es más rápida que la relajación, el transporte parece Fickiano, pero con una velocidad más lenta; Sin embargo, cuando  $De \sim 1$ ,  $n$  varía entre 0.5 y 1, el hinchamiento es anómalo y la captación de agua o su liberación son controlados simultáneamente por procesos de relajación y difusión, mientras que  $n=1.0$  indica un transporte de Caso-II<sup>[31]</sup> es decir, un proceso de relajación. Un transporte super Caso-II tiene lugar cuando  $n > 1$ .

En la Fig. 9 se muestran los valores de la relación media  $Q_t/Q_\infty$  en función del tiempo  $t$  para los sistemas estudiados a pH 7 y 25 °C. Los copolímeros así como los correspondientes homopolímeros con un 0.25 % de entrecruzante se presentan en la Fig. 9(a). La Fig. 9(b) muestra los datos de las IPNs con un 0.25 % de entrecruzante y los copolímeros con un 0.50% de entrecruzante se presentan en la Fig. 9(c). La normalización llevada a cabo nos permite apreciar claramente las diferencias en la velocidad de hinchamiento de las muestras. Observando las Figs. se aprecia claramente que en ambas series de copolímeros la velocidad de hinchamiento es de la misma magnitud para los de mayor contenido en  $N$ -iPAAm y ligeramente inferior en los copolímeros con un 15 y un 30 % molar de  $N$ -iPAAm, el P(MAA) y las IPNs. En el caso de los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante se observa como son las

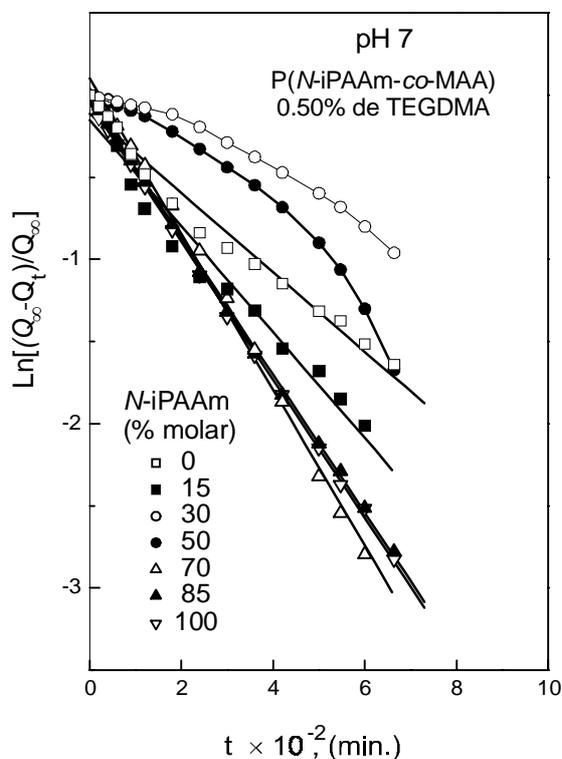
composiciones con un 30 y 50% molar de *N*-iPAAm las que presentan las menores velocidades de hinchamiento. Se examinó la posibilidad de que el proceso siguiera una cinética simple de primer orden.



**Figura 9.**  $Q_t/Q_\infty$  vs  $t$  para los hidrogeles estudiados a pH 7 y 25°C. (a) Copolímeros  $P(N\text{-}i\text{PAAm-co-MAA})$  con un 0.25 % de entrecruzante; (b) Redes Interpenetradas  $P(\text{MAA})/P(N\text{-}i\text{PAAm})$  con un 0.25% de entrecruzante (c) Copolímeros  $P(N\text{-}i\text{PAAm-co-MAA})$  con un 0.50 % de entrecruzante.

En la Fig. 10 se presentan los datos experimentales correspondientes a los gels con un 0.50 % de entrecruzante de acuerdo a la forma logarítmica de la Ec. 5 ( $\ln[(Q_\infty - Q_t)/Q_\infty] = -Kt$ ). Si los datos obedecieran una cinética de primer orden, esta representación debería dar lugar a una línea recta. Los datos correspondientes a la  $P(N\text{-}i\text{PAAm})$  se ajustan bien a una línea recta, así como los correspondientes a los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm, es decir con un 85 y 70 % molar. Al aumentar el contenido en MAA aparecen desviaciones de esta cinética de primer orden. Esto es especialmente significativo en el caso de los copolímeros con un contenido de un 50 y 30% molar de *N*-iPAAm. Los valores de  $Q_\infty$ , la constante de velocidad de hinchamiento de primer orden  $K$ , y el coeficiente de determinación  $R^2$ , obtenidos del mejor ajuste de los datos experimentales a la Ec. 5 se muestran en las Tablas 1, 2 y 3 para los hidrogeles que contienen un 0.25 y un 0.50 % de entrecruzante. En el caso de los hidrogeles con un 0.25 % de entrecruzante (Tablas 1 y 2) los valores de  $R^2$ , que indican la bondad del ajuste, son muy altos, y tan sólo en el caso del  $P(\text{MAA})$  y las redes interpenetradas se aprecian grandes

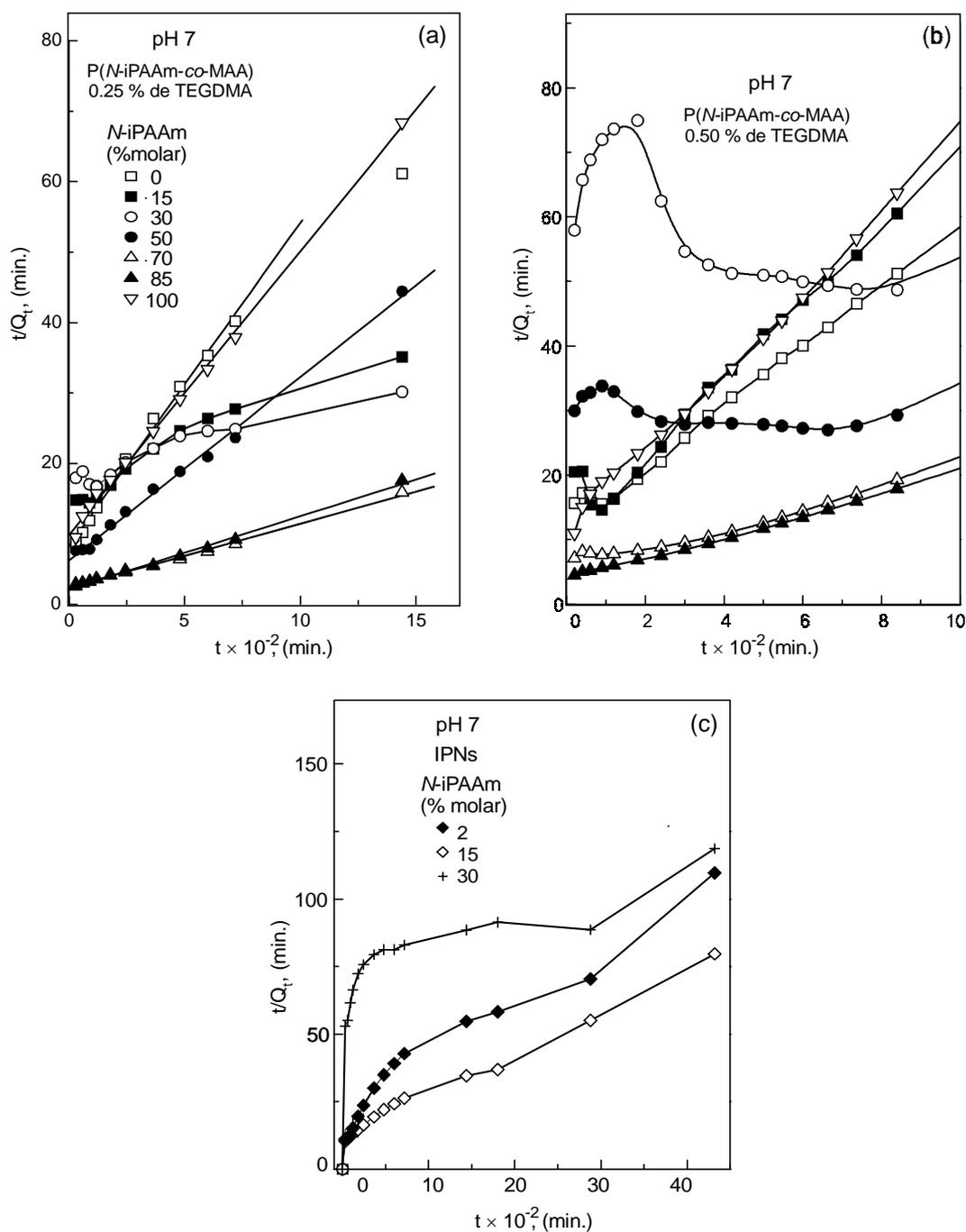
desviaciones de la Ec. 5. Los parámetros del ajuste obtenidos para los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante se presentan en la Tabla 3, excepto para los copolímeros que se desvían significativamente de la cinética de primer orden. Esta Tabla 2 muestra como los valores de  $R^2$  más bajos para el copolímero con un 15 % molar de *N*-iPAAm y para la el P(MAA) que para los copolímeros ricos en *N*-iPAAm.



**Figura10.** Gráfico de la cinética de primer orden representados como  $\ln[(Q_\infty - Q_t)/Q_\infty]$  frente a  $t$ , para los datos de hinchamiento experimentales a pH 7 y 25 °C para una serie de copolímeros de P(N-iPAAm-co-MAA) con un 0.50 % de entrecruzante.

Schott<sup>[16, 29]</sup> investigó el hinchamiento de la gelatina y la celulosa, y comprobó que la cinética de primer orden no se cumplía en ninguno de los dos casos. Este autor<sup>[16]</sup> sugirió que el hinchamiento de los polímeros sigue una cinética de primer orden tan sólo bajo dos condiciones especiales: cuando la velocidad está controlada por la difusión y cuando se cumple las leyes de Fick. También postula<sup>[16]</sup> que estas condiciones tienen poca probabilidad de darse, especialmente cuando el hinchamiento es muy grande y si la difusión se ve reemplazada por relajación de tensiones por el hinchamiento como factor principal en el control. Sin embargo, Wu y Yan<sup>[15]</sup> han estudiado el hinchamiento de películas finas de gelatina por interferometría *in situ* y sus datos experimentales de hinchamiento se ajustan mejor a una cinética de primer orden que a una de segundo orden. Como explican estos autores, las cinéticas de segundo orden observadas anteriormente puede ser debidas al tamaño relativamente grande de las muestras empleadas en los ensayos.<sup>[15]</sup> Otros autores han empleado cinéticas de segundo orden para analizar el comportamiento en el hinchamiento de hidrogeles.<sup>[18, 20, 37]</sup>

De acuerdo con la Ec. 8 en las Fig.11 se representa la dependencia de  $t/Q_t$  vs  $t$  para los hidrogeles. Igual que sucedía en el caso de la cinética de primer orden, los datos de hinchamiento del homopolímero de P(*N*-iPAAm) y de los copolímeros de mayor contenido en este monómero dan lugar a una línea recta. Sin embargo, algunas de las muestras presentan grandes desviaciones de la linealidad.



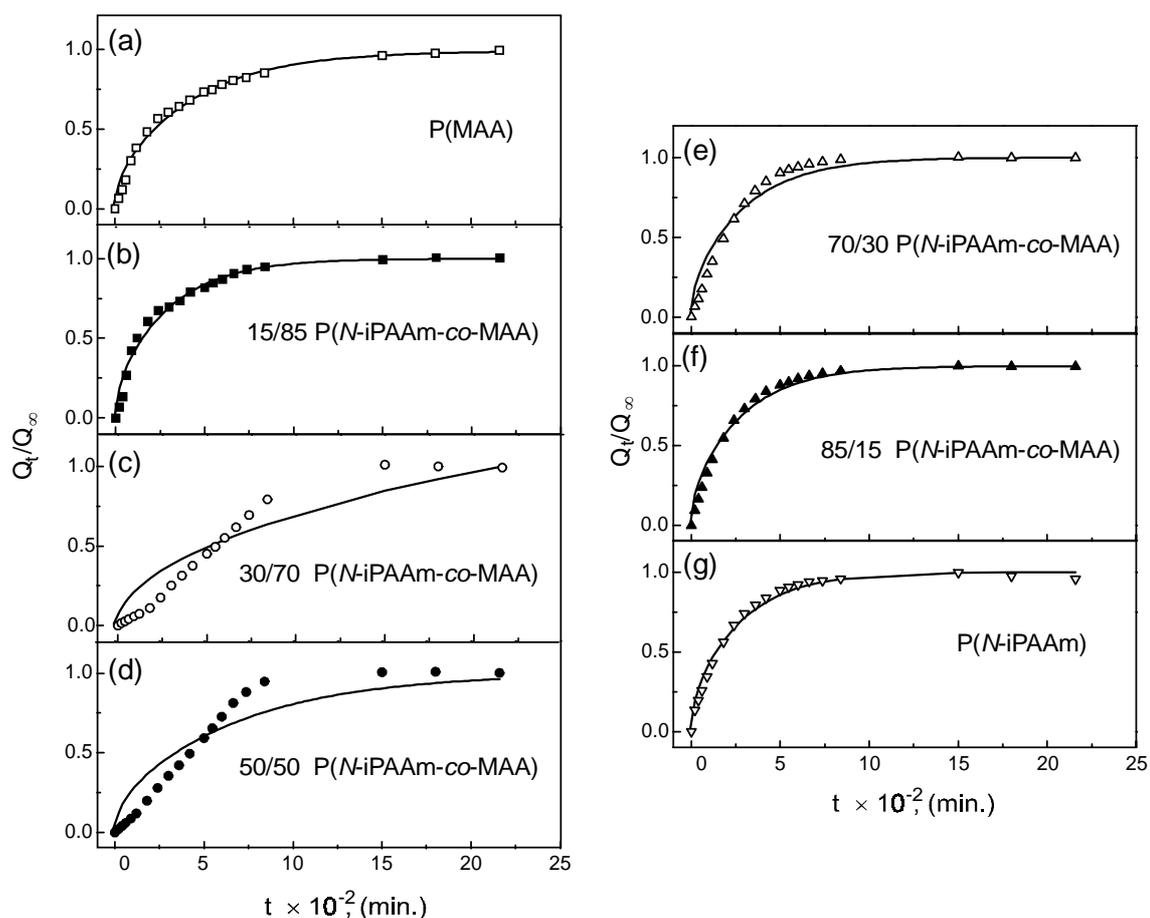
**Figura 11.** Gráfico de segundo orden de los datos experimentales de hinchamiento a pH 7 y 25 °C representados como el recíproco de la velocidad media  $t/Q_t$  en función del tiempo de acuerdo a la Ec. 8, para muestras de hidrogeles copolímeros (a) con un 0.25 % y un (b) con un 0.50 % de entrecruzante y (c) redes interpenetradas con un 0.25 % de entrecruzante.

Los hidrogeles con menor grado de entrecruzamiento se ajustan mejor a la cinética de segundo orden que las IPNs y que los hidrogeles con mayor grado de entrecruzamiento. Sin embargo aunque la ecuación de Robinson-Schott es muy ilustrativa puede dar lugar a errores, porque una vez alcanzado el equilibrio, la representación de  $t/Q_t$  vs  $t$  es obviamente una línea recta, al permanecer el valor de  $Q_t$  constante e igual a  $Q_\infty$ . Por ello se ha empleado la Ec. 7 para el ajuste de los valores experimentales, que da lugar a menos incertidumbre que la Ec. 8. La constante de velocidad de hinchamiento de segundo orden y los valores de hinchamiento en el equilibrio de acuerdo a la Ec. 7 se presentan en las Tablas 1,2 y 3. En general, en todos los casos los hidrogeles que siguen mejor la cinética de segundo orden son los que tienen un mayor contenido en *N*-iPAAm. Sin embargo, se aprecian desviaciones para todas las series de muestras, puesto que los valores de  $Q_\infty$  extraídos del ajuste son siempre superiores a los estimados experimentalmente. Para explicar esto hay que tener en cuenta que, como se aprecia en la Ec. 8, el valor de hinchamiento en el equilibrio se va aproximando de manera cada vez más lenta, de forma que nunca se alcanza. Desde nuestro punto de vista esto se encuentra en contradicción con el hecho experimental de que se observen valores de hinchamiento en el equilibrio después de un cierto tiempo. Los coeficientes de determinación  $R^2$  para la cinética de segundo orden son en general menores que cuando se aplica la de primer orden.

La Ec. 9 describe la absorción de agua suponiendo un comportamiento Fickiano, que tan sólo es aplicable si  $D$  y  $h$  permanecen constantes durante el proceso. Obviamente, este no es el caso para los hidrogeles. El agua ejerce un fuerte efecto de plastificación en el polímero, por lo que en primer lugar, hay un elevado incremento en el valor de  $D$  cuando el valor de la  $T_g$  del polímero desciende por debajo de la temperatura experimental y en segundo lugar, un incremento continuo en su valor porque el medio presenta un contenido de agua progresivamente mayor. A veces, este aumento en  $D$  se compensa por el incremento en  $h$ , por lo que en algunos casos se obedece la Ec. 9.

En las Tablas 1, 2 y 3, se presentan los coeficientes de difusión y los coeficientes de determinación  $R^2$  y en la Fig. 12 se presentan las curvas experimentales de los copolímeros con un 0.50 % en peso del agente de entrecruzamiento. En las tablas se aprecia como la mayoría de las curvas experimentales siguen una cinética Fickiana y tan solo las IPNs y los copolímeros de mayor contenido en MAA no se ajustan a la Ec. 9 como se aprecia por los bajos valores de  $R^2$  obtenidos. La mayor desviación del comportamiento fickiano se detecta para la IPN con un 30% molar de *N*-iPAAm y para los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante que contienen un 30 y 50 % molar de *N*-iPAAm. Los coeficientes de difusión obtenidos son del mismo orden que los que se encuentran en la literatura.<sup>[23]</sup> También se puede observar que los copolímeros con un mayor grado de agente de entrecruzamiento muestran unos coeficientes de difusión ligeramente mayores. Este hecho puede ser atribuido al mayor incremento en el espesor de las muestras para los copolímeros con un 0.25 % de entrecruzante cuando se comparan con los copolímeros entrecruzados con un 0.50 %, lo que da lugar a una subestimación del valor de  $D$ . También resulta interesante resaltar que el hinchamiento sigue mejor una cinética simple de

primer orden que un comportamiento Fickiano, como demuestran los valores más altos para los coeficientes de determinación obtenidos al aplicar la Ec. 5.



**Figura 12.** Curvas de hinchamiento a pH 7 y 25°C como  $Q_t/Q_\infty$  en función del tiempo ajustadas a la Ec. 9 para la serie de copolímeros con un 0.50% de entrecruzante y una composición molar de N-iPAAm (a) 0%; (b) 15%; (c) 30%; (d) 50%; (e) 70%; (f) 85% y (g) 100%.

Los datos experimentales para grados de hinchamiento por debajo de  $Q_t/Q_\infty=0.60$  han sido ajustados a la Ec. 11 para estimar el valor del exponente  $n$  que indica el modo de transporte del penetrante. En la Fig. 13 se presenta el valor de  $n$  en función de la composición del hidrogel. En esta figura se puede observar como los valores de  $n$  se desvían de 0.5 lo que indica un transporte no-Fickiano, y a mayor grado de entrecruzamiento se obtienen mayores valores de  $n$ . Esto quiere decir que en este caso el proceso está controlado fundamentalmente por difusión y por la relajación del polímero. Si analizamos el efecto de la composición, las muestras con un 30 % molar de N-iPAAm presentan los valores de  $n$  más altos para ambas series de muestras. Este valor es incluso mayor que 1 para las muestras con un 0.50 % de entrecruzante, lo que indica que la absorción de agua está dominada por la relajación del polímero. Observando cuidadosamente la Fig. 9(c), se puede apreciar como las curvas correspondientes a los copolímeros que tienen mayores valores de  $n$ , es decir los copolímeros con un 30 y un 50% molar de N-iPAAm, presentan una forma más o menos sigmoïdal.

**Tabla 1.-** Valores del grado de hinchamiento en el equilibrio experimentales  $Q_{\infty}$ , parámetros de las cinéticas de hinchamiento de primer y segundo orden y coeficiente de difusión  $D$  a 25 °C para la serie de copolímeros con un 0.25 % de entrecruzante.

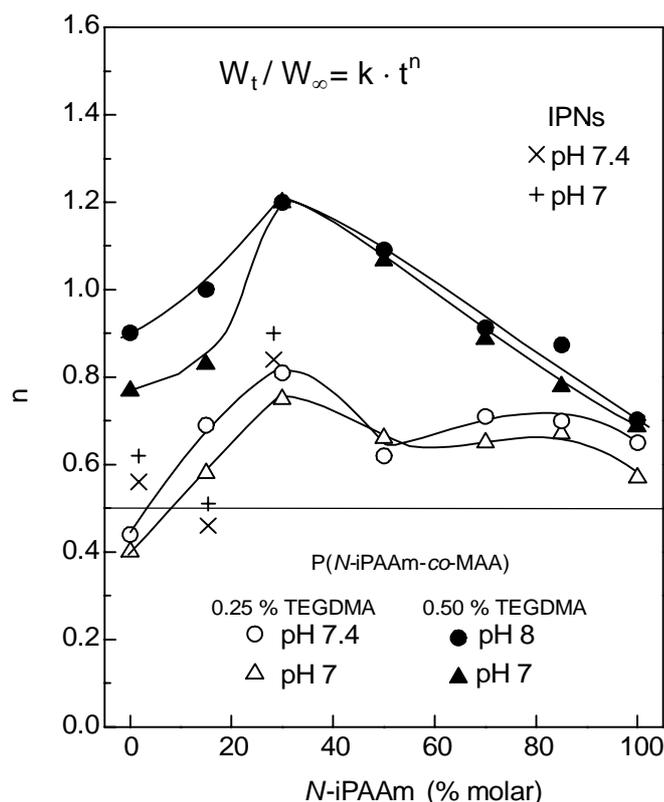
N-iPAAm (% molar)	pH	$Q_{\infty}$ <i>Experimental</i>	Cinética de primer orden			Cinética de segundo orden			Difusión fickiana	
			$Q_{\infty}$ <i>Calculada</i>	$10^5 K$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$Q_{\infty}$ <i>Calculada</i>	$10^6 K_Q$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$10^7 D$ (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
100	6	21.8	21.9	5.3	0.993	24.4	2.95	0.991	1.18	0.991
	7	21.6	21.3	5.8	0.994	23.9	3.08	0.993	1.20	0.992
	7.4	20.3	19.9	5.4	0.995	22.4	3.03	0.991	1.19	0.997
	8	20.6	20.2	5.4	0.995	23.6	2.61	0.996	1.03	0.989
	9	21.8	21.5	4.1	0.978	23.9	3.40	0.997	1.28	0.996
85	6	74.1	76.3	6.4	0.994	84.3	1.06	0.975	1.58	0.978
	7	82.7	81.7	7.2	0.998	90.9	1.03	0.984	1.50	0.986
	7.4	75.1	75.3	6.8	0.991	83.8	1.07	0.987	1.40	0.990
	8	-	-	-	-	-	-	-	1.59	0.958
	9	82.2	79.5	6.2	0.957	88.1	1.08	0.982	1.31	0.975
70	6	98.9	97.8	4.9	0.998	110.4	0.57	0.994	1.04	0.988
	7	93.7	92.5	5.9	0.996	104.4	0.70	0.993	1.18	0.985
	7.4	98.9	96.5	6.6	0.988	108.7	0.78	0.975	1.40	0.975
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	104.8	105.6	6.9	0.997	116.9	0.91	0.983	1.32	0.975
50	6	36.1	33.2	3.9	0.936	37.4	1.41	0.976	6.69	0.986
	7	34.7	32.6	6.1	0.991	36.5	2.15	0.993	1.22	0.991
	7.4	31.7	31.2	6.2	0.996	34.9	2.26	0.987	1.34	0.990
	8	37.1	37.3	6.1	0.996	43.5	1.60	0.977	1.25	0.967
	9	35.0	40.3	5.8	0.991	47.3	1.40	0.986	1.18	0.977
30	6	46.3	48.9	0.7	0.994	70.9	0.08	0.995	0.12	0.959
	7	50.1	52.8	1.9	0.989	67.1	0.26	0.975	0.43	0.939
	7.4	45.9	48.0	2.4	0.993	59.0	0.40	0.978	0.54	0.958
	8	45.9	49.5	2.4	0.985	64.5	0.32	0.971	0.54	0.915
	9	50.2	52.8	2.0	0.992	70.8	0.23	0.984	0.31	0.928
15	6	42.3	39.9	1.1	0.958	51.9	0.19	0.971	0.13	0.993
	7	45.3	46.2	4.0	0.994	57.4	0.35	0.987	0.42	0.967
	7.4	39.3	39.8	3.2	0.993	46.5	0.78	0.989	0.71	0.989
	8	37.1	38.3	3.4	0.994	46.5	0.75	0.985	0.69	0.965
	9	42.1	36.6	3.2	0.994	44.8	0.72	0.986	0.61	0.967
0	6	19.3	15.6	3.9	0.890	17.5	3.05	0.947	6.3	0.963
	7	31.2	27.5	3.2	0.942	31.8	1.20	0.977	0.46	0.990
	7.4	29.1	25.6	3.6	0.942	20.9	1.15	0.977	0.60	0.985
	8	25.6	22.6	5.6	0.935	26.0	2.68	0.978	0.85	0.986
	9	22.5	21.5	4.1	0.978	25.6	1.75	0.991	0.73	0.988

**Tabla 2.** Valores del grado de hinchamiento en el equilibrio experimentales  $Q_\infty$ , parámetros de las cinéticas de hinchamiento de primer y segundo orden y coeficiente de difusión  $D$  a 25°C para la serie de redes interpenetradas con un 0.25 % de entrecruzante.

N-iPAAm (%molar)	pH	$Q_\infty$ <i>Experimental</i>	Cinética de primer orden			Cinética de segundo orden			Difusión fickiana	
			$Q_\infty$ <i>Calculada</i>	$10^5 K$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$Q_\infty$ <i>Calculada</i>	$10^6 K_Q$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$10^7 D$ (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
30	6	9.6	10.2	0.5	0.987	15.9	0.22	0.987	0.06	0.935
	7	38.1	59.0	0.4	0.992	-	-	-	0.16	0.866
	7.4	38.3	44.7	0.9	0.985	-	-	-	0.14	0.926
	8	34.2	52.7	0.7	0.993	-	-	-	0.12	0.883
	9	35.1	47.0	0.3	0.987	-	-	-	0.12	0.899
15	6	13.6	8.5	-	-	10.0	1.62	0.755	0.38	0.659
	7	40.5	40.1	1.44	0.960	52.3	0.26	0.967	0.29	0.973
	7.4	42.2	43.5	1.90	0.971	54.2	0.25	0.965	0.43	0.966
	8	51.5	52.2	2.51	0.958	62.7	0.42	0.965	0.52	0.975
	9	50.0	51.5	1.71	0.974	66.5	0.24	0.981	0.20	0.991
2	6	28	28.4	2.0	0.978	34.9	0.58	0.994	0.29	0.994
	7	53	54.4	1.8	0.991	68.4	0.26	0.992	0.38	0.976
	7.4	50.5	49.5	2.2	0.988	60.4	0.38	0.982	0.48	0.979
	8	48.3	49.2	2.5	0.988	60.2	0.42	0.984	0.52	0.970
	9	47.3	47.0	2.8	0.987	56.2	0.53	0.986	0.52	0.979

**Tabla 3.** Valores del grado de hinchamiento en el equilibrio experimentales  $Q_\infty$ , parámetros de las cinéticas de hinchamiento de primer y segundo orden y coeficiente de difusión  $D$  a 25 °C para la serie de copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante.

N-iPAAm (% molar)	pH	$Q_\infty$ <i>Experimental</i>	Cinética de primer orden			Cinética de segundo orden			Difusión fickiana	
			$Q_\infty$ <i>Calculada</i>	$10^5 K$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$Q_\infty$ <i>Calculada</i>	$10^6 K_Q$ (s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$10^7 D$ (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
100	7	13.7	13.9	8.1	0.998	15.5	6.4	0.986	1.62	0.986
	8	13.6	13.3	8.5	0.995	15.7	6.1	0.993	1.68	0.986
	9	12.9	13.4	8.0	0.997	15.1	7.8	0.996	1.68	0.992
85	7	47.9	48.3	7.4	0.999	56.3	1.6	0.988	1.69	0.980
	8	48.3	48.2	7.6	0.999	57.4	1.5	0.984	1.77	0.970
	9	48.6	48.0	7.2	0.998	57.4	1.4	0.984	1.72	0.968
70	7	45.9	45.3	6.4	0.996	53.8	1.4	0.972	1.60	0.956
	8	44.8	45.8	7.9	0.996	54.4	1.7	0.973	2.00	0.958
	9	44.2	47.2	7.6	0.995	56.1	2.4	0.972	1.94	0.955
50	7	29.5	-	-	-	-	-	-	0.618	0.892
	8	29.3	-	-	-	-	-	-	0.674	0.875
	9	30.3	-	-	-	-	-	-	0.713	0.866
30	7	21.6	-	-	-	-	-	-	0.475	0.873
	8	21.3	-	-	-	-	-	-	0.549	0.877
	9	21.8	-	-	-	-	-	-	0.495	0.869
15	7	14.8	14.0	8.1	0.981	16.3	6.1	0.991	1.73	0.977
	8	14.7	14.2	10.6	0.993	16.3	8.2	0.985	2.35	0.978
	9	15.0	14.5	11.7	0.987	16.5	9.1	0.978	2.70	0.971
0	7	20.1	18.0	5.7	0.985	21.3	3.1	0.997	1.11	0.984
	8	18.9	18.9	7.8	0.993	22.0	4.2	0.984	1.78	0.970
	9	19.2	19.6	9.1	0.992	22.7	4.9	0.988	1.92	0.976



**Figura 13.** Gráfico del exponente  $n$  de la ecuación de Ritgers y Peppas en función de la composición de los copolímeros  $P(N$ -iPAAm-co-MAA) y las redes interpenetradas  $P(MAA)/P(N$ -iPAAm).

### 5.3.3. EFECTO DE LOS PUENTES DE HIDRÓGENO EN LA DINÁMICA DE HINCHAMIENTO.

Tanto la forma de algunas curvas de hinchamiento a pHs por debajo del  $pK_a$  del MAA, como el análisis cinético de las curvas de hinchamiento a pHs superiores a este, han demostrado la existencia de efectos anómalos. Esto es especialmente significativo en el caso de las muestras en las que existe mayor número de complejos por puentes de hidrógeno entre ambas unidades monoméricas. Los experimentos de RMN en estado sólido demostraron que los puentes de hidrógeno entre dos grupos carboxílicos del MAA son más lábiles a la temperatura que los formados entre los grupos carboxilo y amida del MAA y la  $N$ -iPAAm, lo que podría ser la causa del comportamiento anómalo en el hinchamiento de los copolímeros con respecto al  $P(MAA)$ . A pesar de que este es un problema que puede presentarse siempre que exista la posibilidad de formación de este tipo complejos, no tenemos conocimiento de ningún estudio sistemático de la influencia que tiene el grado de formación de puentes de hidrógeno en la cinética de hinchamiento o de como la cinética de hinchamiento puede revelar la existencia de puentes de hidrógeno en la muestra.

Hasta ahora, las muestras han sido analizadas tal y como se obtuvieron de la síntesis. En este apartado se estudiará como cambios en la historia de hinchamiento previo pueden alterar la estructura del gel, y por tanto las características de hinchamiento dinámico de los mismos. Con este objetivo, las

muestras han sido sometidas a historias de hinchamiento controlado para predeterminar el grado de formación de puentes de hidrógeno y de esta forma probar la relación entre el comportamiento de hinchamiento anómalo y las interacciones por puentes de hidrógeno como factores controladores durante el proceso de hinchamiento.

### 5.3.3.1. CINÉTICA DE HINCHAMIENTO A pHs POR ENCIMA DEL pK<sub>a</sub> DEL MAA

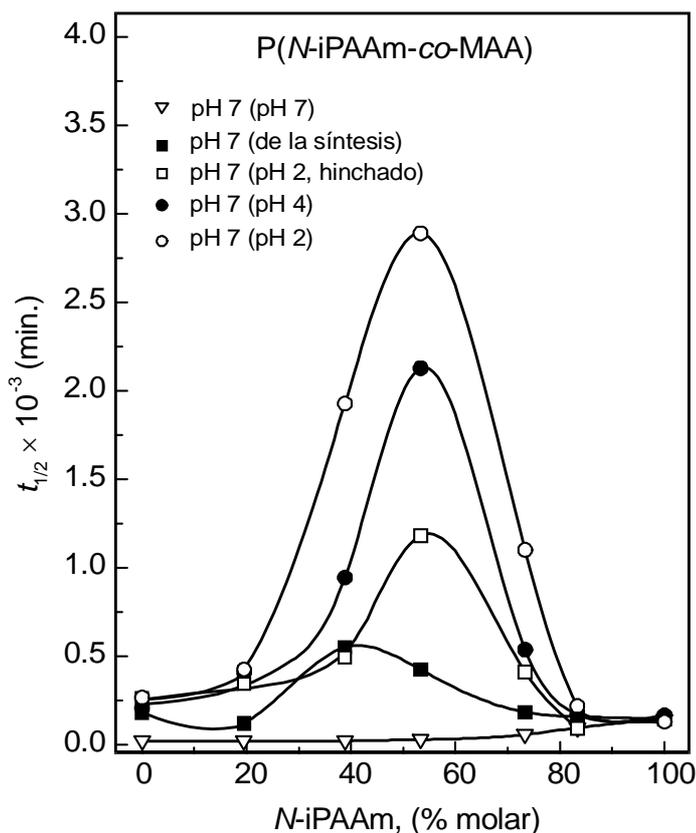
Para este estudio se emplearon las muestras de copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante, debido a que su menor grado de hinchamiento en el equilibrio facilita el trabajo experimental. Para este estudio se siguieron los tres protocolos experimentales descritos en la metodología experimental. Básicamente lo que se hizo fue someter a las muestras a historias previas de hinchamiento controladas para modificar controladamente el grado de formación de puentes de hidrógeno. Posteriormente, con estas muestras, se realizó un ensayo de hinchamiento dinámico a pH 7. En la Tabla 4 se presentan los valores de hinchamiento en el equilibrio  $Q_{\infty}$  a pH 7 para muestras, previamente sometidas a distintos pHs. Se puede apreciar que la historia de hinchamiento no afecta de manera significativa al valor de  $Q_{\infty}$ . Las ligeras diferencias que se aprecian en estos valores pueden ser debidas al intercambio entre los iones H<sup>+</sup> y Na<sup>+</sup> en los grupos carboxílicos a los distintos pHs del tratamiento previo de hinchamiento. Esto afectará al peso del gel seco ( $m_0$ ) que se emplea para normalizar el valor de  $Q_{\infty}$ . Pero también se deben tener en cuenta los errores experimentales debidos al empleo del método gravimétrico en los experimentos de hinchamiento dinámico.

**Tabla 4.** Valores de hinchamiento en el equilibrio  $Q_{\infty}$  a pH 7 y 25 °C para una serie de copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante, previamente sometidos a distintos pHs.

N-iPAAm, (%molar)	$Q_{\infty}$						Media	Error estándar
	pH 7 (pH 2)	pH 7 (pH 4)	pH 7 (de la síntesis)	pH 7 (pH 7)	pH 7 (pH 2 hinchado)			
100	14.9	14.9	13.3	14.7	13.7	14.3	0.33	
85	50.0	51.6	48.4	48.3	45.2	48.7	1.06	
70	43.3	45.2	43.9	40.8	43.0	43.2	0.71	
50	28.7	28.1	30.4	26.3	28.0	28.3	0.66	
30	22.0	22.6	21.8	20.5	22.1	21.8	0.35	
15	14.9	14.9	14.7	12.2	15.2	14.4	0.55	
0	21.6	20.8	19.3	15.3	19.1	19.2	1.08	

En la Fig. 14 se representa el tiempo de hinchamiento medio  $t_{1/2}$  a pH 7 y 25 °C frente a la composición para los copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante y en función del pH del tratamiento previo. Esta figura permite apreciar el efecto tan acusado del pH sobre la velocidad de hinchamiento de los copolímeros. La historia previa de hinchamiento no tiene ningún efecto significativo en el homopolímero P(N-iPAAm), como era de esperar, ya que este copolímero no contiene grupos ionizables en su estructura. El efecto más importante del pH de hinchamiento previo, tiene lugar en los copolímeros

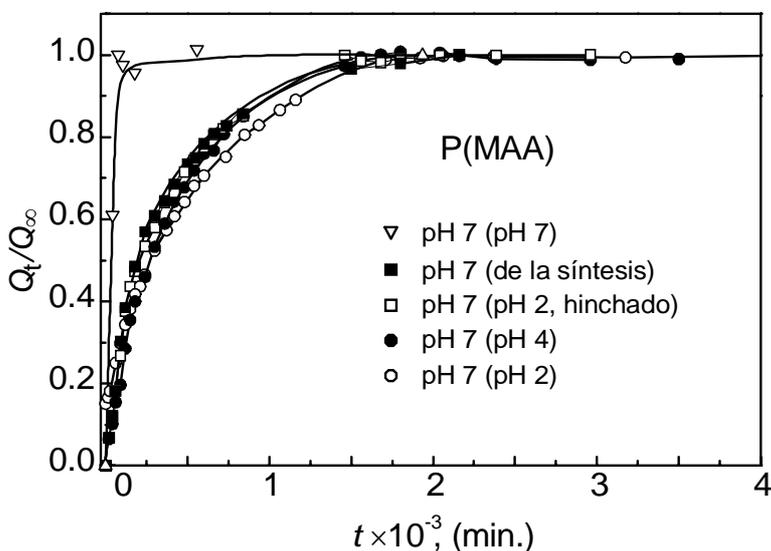
que se aproximan a la composición equimolecular de ambos comonómeros, es decir, los que contienen un 30%, un 50% y un 70% molar de *N*-iPAAm. La velocidad de hinchamiento más lenta, es decir el mayor  $t_{1/2}$  para el hinchamiento, tiene lugar para la composición equimolecular, en muestras que fueron previamente sometidas a pH 2 y posteriormente secadas, en las que la mitad del valor de hinchamiento en el equilibrio se alcanza después de 2 días. El  $t_{1/2}$  aumenta de manera considerable al disminuir el pH del hinchamiento previo, lo que está directamente relacionado con la cantidad de puentes de hidrógeno en la muestra. Este efecto es mucho menos significativo en el homopolímero de MAA.



**Figura 14.** Gráfico del  $t_{1/2}$  estimado de las curvas de hinchamiento a pH 7 y 25° frente a la composición en función del pH de hinchamiento previo para la serie de copolímeros entrecruzados con un 0.50 % de entrecruzante.

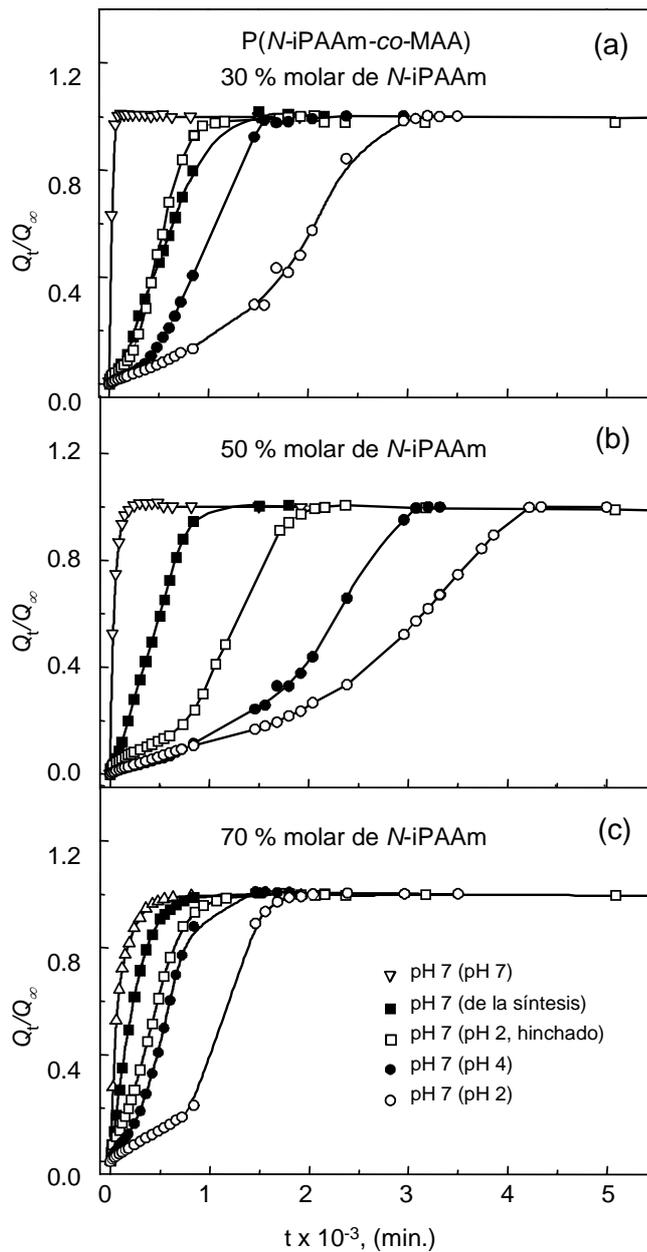
En el capítulo de RMN se demostró que el P(MAA) forma puentes de hidrógeno entre los grupos carboxílicos de sus unidades estructurales. En la Fig. 15 se presentan las curvas de hinchamiento a pH 7 y 25 °C del homopolímero P(MAA) con un 0.50 % de entrecruzante, previamente sometido a distintos pHs. Como se puede observar los geles sometidos previamente a pHs por debajo del  $pK_a$  del MAA tienen una velocidad de hinchamiento menor que los que han sido sometidos previamente a pH 7. Las curvas de hinchamiento de las muestras sometidas a los distintos pHs ácidos son prácticamente superponibles, lo que quiere decir que tienen prácticamente la misma velocidad de hinchamiento. Debemos suponer por tanto que si la velocidad de hinchamiento no está controlada por la rotura de los puentes de hidrógeno es porque este proceso es más rápido que la velocidad de ionización de los grupos carboxílicos del MAA.

Las Figs. 16 (a), (b) y (c) muestran las curvas de hinchamiento dinámico de una serie de copolímeros con una composición de un 30, 50 y 70 % molar de *N*-iPAAm respectivamente, aplicando los tres tratamientos descritos en la parte experimental. De forma general se puede decir que el comportamiento de estos copolímeros es muy diferente al del P(MAA) que se mostró en la Fig. 15. Tanto la velocidad de hinchamiento como la forma de la curva muestran una fuerte dependencia con el pH empleado en el tratamiento previo. La forma sigmoideal de la curva dinámica de hinchamiento para los geles tratados a pH ácido se vuelve más acentuada a medida que aumenta la acidez del medio de tratamiento previo. Resulta significativo el hecho de que para los geles sometidos previamente a pH 2, el posterior hinchamiento sea más rápido si los geles permanecen hinchados que si se secan antes de llevar a cabo los experimentos a pH 7.



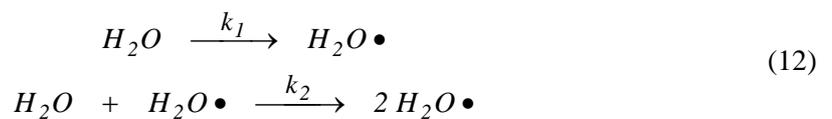
**Figura 15.** Efecto del pH de tratamiento previo en las curvas de hinchamiento a pH 7 y 25 °C. Gráfico de  $Q_t/Q_\infty$  vs  $t$  para el homopolímero P(MAA) con un 0.50 % de entrecruzante..

La forma sigmoideal que se aprecia claramente en algunas de las curvas sugiere que el hinchamiento puede seguir una cinética de tipo autocatalítico. Este hecho resulta evidente cuando se observa la Fig. 17, donde se representa la velocidad de absorción de agua  $d(Q_t/Q_\infty)/dt$  en función de la cantidad normalizada de agua en el interior del gel,  $Q_t/Q_\infty$ , para el copolímero con un 70 % molar de *N*-iPAAm, que había sido previamente sometido a las distintas condiciones de pH. La velocidad de absorción de agua alcanza un máximo para un valor de hinchamiento de aproximadamente el 50 % del valor en el equilibrio. Este comportamiento puede sugerir que la rotura de los puentes de hidrógeno tiene lugar mediante un proceso cooperativo y que la apertura de los sitios próximos sigue un mecanismo autocatalítico, es decir, la absorción de la primera molécula de agua ayuda en la absorción de la siguiente.



**Figura 16.** Efecto del pH de tratamiento previo en las curvas de hinchamiento a pH 7 y 25 °C.  $Q_t/Q_\infty$  vs  $t$  para copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante con un contenido molar de *N*-iPAAm (a) 30 %; (b) 50 % y (c) 70 %.

Supongamos que el proceso de absorción de agua (hinchamiento) en consideración es como sigue,



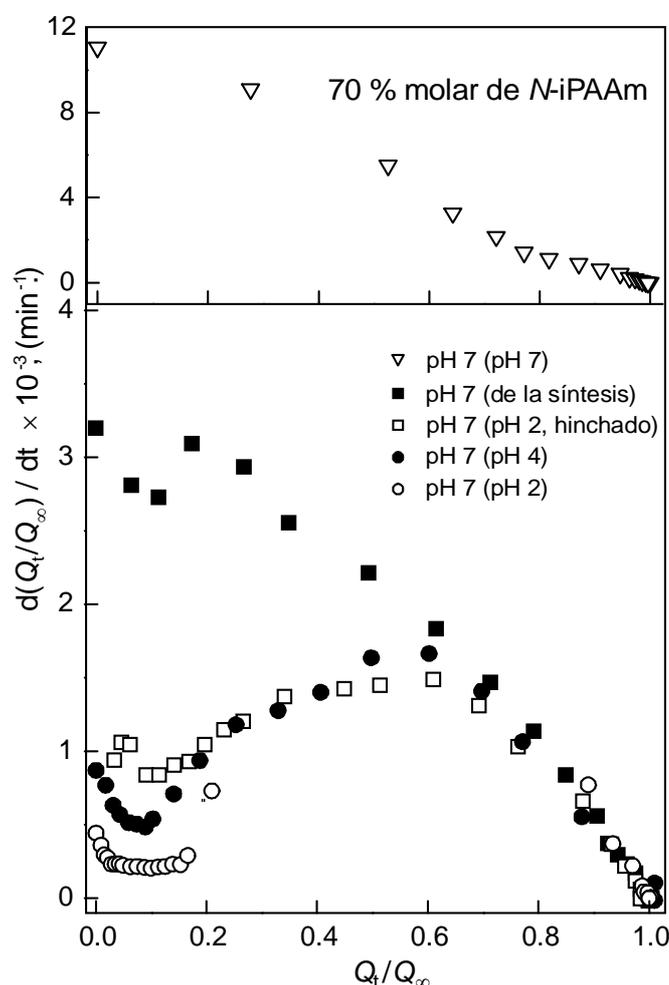
Donde  $H_2O\bullet$  representa las moléculas de agua que han entrado en el gel. La primera molécula de agua que penetra en el interior del polímero ayuda a la siguiente a entrar al gel, de forma que  $k_2 \gg k_1$ .

Este es un esquema cinético para la penetración de agua de acuerdo a un proceso autocatalítico simple. En este caso, la velocidad de hinchamiento es proporcional a la cantidad de sitios que quedan disponibles para el agua,  $[1-(Q_t/Q_\infty)]$ , así como a la cantidad de agua que se encuentra dentro del gel,  $Q_t/Q_\infty$  y por tanto puede expresarse como,

$$d(Q_t/Q_\infty)/dt = k_1[1-(Q_t/Q_\infty)] + k_2 \cdot Q_t/Q_\infty \cdot [1-(Q_t/Q_\infty)] \quad (13)$$

cuya integración, después de una reordenación, da lugar a la siguiente ecuación,<sup>[38]</sup>

$$\ln \left[ \frac{(k_1/k_2) + (Q_t/Q_\infty)}{1-(Q_t/Q_\infty)} \right] = \ln \left[ \frac{k_1}{k_2} \right] + (k_1 + k_2) \cdot t \quad (14)$$



**Figura 17.** Efecto del pH de hinchamiento previo en la velocidad de hinchamiento  $d(Q_t/Q_\infty)/dt$  frente al grado de hinchamiento  $Q_t/Q_\infty$  para un copolímero con un 70% molar de N-iPAAm y un 0.50 % de entrecruzante a pH 7 y 25 °C.

En el caso de que esta cinética se cumpla, una representación del término en la parte izquierda de la ecuación vs  $t$  dará lugar a una línea recta. En los procesos puramente autocatalíticos, donde  $k_2 \gg k_1$ ,  $k_1/k_2$  es despreciable comparado con  $Q_t/Q_\infty$ . Por tanto, una representación del término  $\ln\{(Q_t/Q_\infty)/[1-$

$(Q_t/Q_\infty)]$  vs.  $t$ , dará lugar a una línea recta excepto para tiempos muy cortos. De la pendiente y la ordenada en el origen de la parte recta de la representación, se pueden estimar,  $k_1$  y  $k_2$ . Sin embargo, cuando  $k_1$  es del mismo orden que  $k_2$ ,  $k_1/k_2$  no es despreciable, por lo que las constantes de velocidad tendrían que calcularse mediante un método de prueba y error empleando la expresión completa de la Ec. 14. Por otro lado la Ec. 14 puede también reorganizarse de la manera siguiente,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = \frac{(k_1/k_2)(1 - e^{-(k_1+k_2)t})}{(k_1/k_2) + e^{-(k_1+k_2)t}} \quad (15)$$

Esta ecuación ha sido empleada para estimar  $k_1$  y  $k_2$ , cuando la primera derivada no define un máximo claro, por ejemplo, para las muestras hinchadas directamente de la síntesis, como se puede apreciar en la Fig. 17. Si estudiamos esta expresión cuando  $k_1 \gg k_2$ ,  $(k_1+k_2) \approx k_1$  y, por tanto  $(k_1/k_2) \gg e^{-(k_1+k_2)t}$ , por lo que la expresión puede simplificarse a un hinchamiento de primer orden,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} \approx 1 - e^{-k_1 t} \quad (16)$$

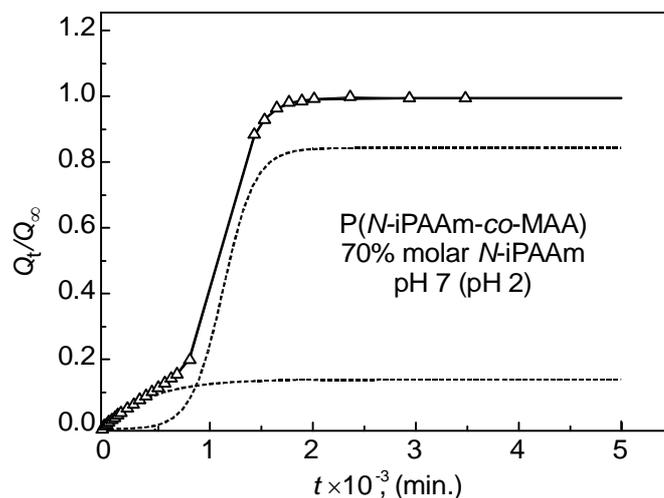
por lo que en esos casos  $k_1$  es una verdadera constante de velocidad de primer orden. Volviendo a la Fig. 16, las muestras tratadas a pH 2 muestran una velocidad de hinchamiento prácticamente constante hasta valores de  $Q_t/Q_\infty$  entre 0.15 y 0.2. Esta parte del gráfico puede corresponder a una cinética de orden cero o de primer orden, y aparece en todos los copolímeros previamente sometidos a pH 2 y en el caso del copolímero con un 50 % molar de *N*-iPAAm también a pH 4 y pH 2 (hinchado). Parece que en estos casos tiene lugar un periodo de retardo o de inducción, que puede ser debido a una mayor intensidad de los complejos por puentes de hidrógeno en los copolímeros cuanto más ácidas son las condiciones del tratamiento previo, especialmente en el caso del copolímero con un 50 % molar de *N*-iPAAm, es decir, la composición equimolecular. Todo ello puede ser interpretado en términos de dos procesos simultáneos, el primero con una cinética de primer orden con una constante de velocidad muy pequeña, y el segundo, el proceso autocatalítico total con sus dos constantes de velocidad. Estos dos procesos simultáneos pueden ser representados mediante la expresión,

$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = (1 - \beta) \cdot \frac{(k_1/k_2)(1 - e^{-(k_1+k_2)t})}{(k_1/k_2) + e^{-(k_1+k_2)t}} + \beta \cdot (1 - e^{-k_3 t}) \quad (17)$$

donde  $\beta$  es una constante de proporcionalidad que representa una de las dos contribuciones al proceso total. En la Fig. 18. se muestran las curvas de deconvolución de estos dos procesos simultáneos representados por la Ec. 17 para un copolímero con un 70% molar de *N*-iPAAm, a pH 7 y 25°C previamente sometido a pH 2. Este ajuste confirma la suposición que hemos hecho anteriormente sobre el proceso de primer orden y descarta la posibilidad de procesos de orden cero para el régimen inicial.

En la Fig. 19. se muestra la aplicabilidad de la Ec. 14 a las curvas de hinchamiento a pH 7 observadas dependiendo del tratamiento previo de la muestra. Los resultados experimentales han sido

previamente corregidos sustrayendo la primera parte del proceso, empleando los parámetros determinados mediante la Ec. 17. Las constantes de velocidad  $k_1$  y  $k_2$  obtenidas del mejor ajuste se presentan en la Tabla 5. En ésta se puede apreciar como, mientras la constante no catalítica desciende de manera considerable con el pH del tratamiento previo, la constante autocatalítica cambia muy ligeramente. Los valores más bajos para ambas constantes se obtienen en el caso del copolímero con un 50 % molar de *N*-iPAAm.



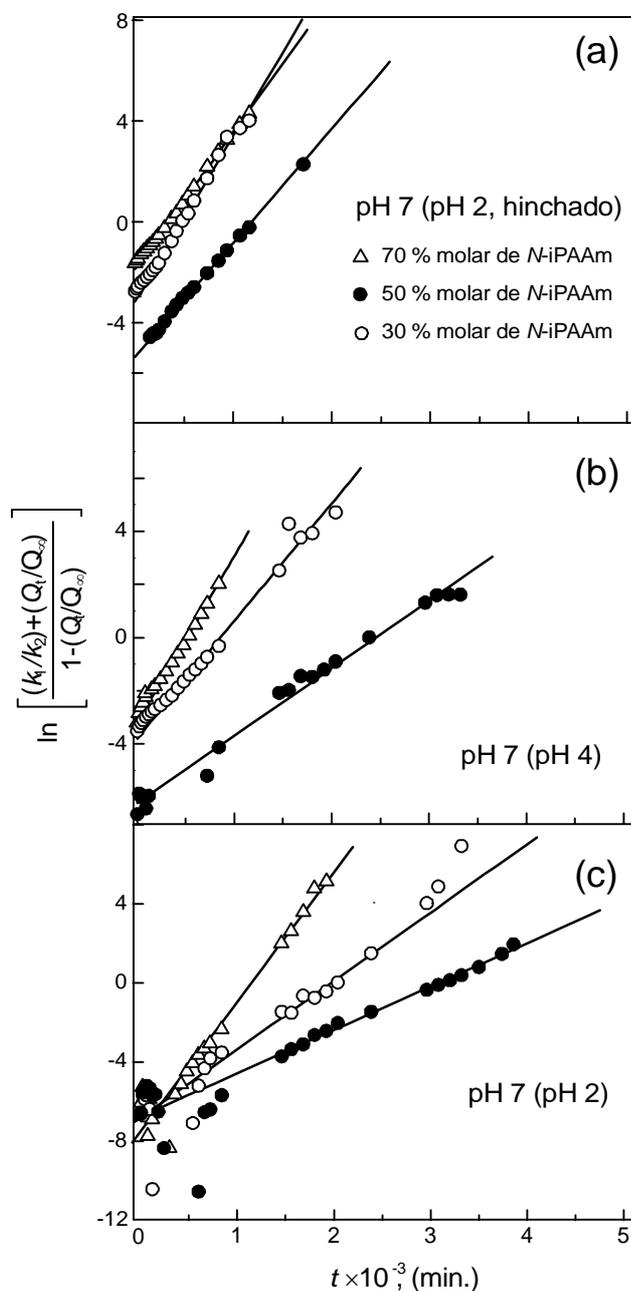
**Figura 18.-** Deconvolución de un proceso de primer orden y un proceso autocatalítico para el hinchamiento de un copolímero con un 70 % molar de *N*-iPAAm a pH 7 y 25°C, que había sido previamente sometido a pH 2.

**Tabla 5.** Constantes de velocidad autocatalítica  $k_2$ , constante de velocidad no catalítica  $k_1$ , y relación no catalítica-autocatalítica  $k_1/k_2$

Tratamiento previo	70 % molar de <i>N</i> -iPAAm			50 % molar de <i>N</i> -iPAAm			30 % molar de <i>N</i> -iPAAm		
	$10^4 k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$10^3 k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$k_1/k_2$	$10^4 k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$10^3 k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$k_1/k_2$	$10^4 k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$10^3 k_2$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$k_1/k_2$
pH 7 (de la síntesis)	30.1	2.9	1.0380	7.64	4.1	0.1863	5.45	3.4	0.1621
pH 7 (pH 2, hinchado)	7.1	4.7	0.1590	0.21	4.5	0.0046	2.58	6.3	0.0407
pH 7 (pH 4)	2.7	6.0	0.0408	0.06	2.7	0.0022	0.98	4.3	0.0226
pH 7 (pH 2)	0.04	6.5	0.0005	0.03	2.2	0.0014	0.04	3.5	0.0011

Finalmente nos pareció muy interesante someter la muestra a un primer hinchamiento a pH 7 y una vez seca hincharla nuevamente a este mismo pH, para estudiar si de este modo seguían apareciendo cinéticas anómalas. Las curvas de hinchamiento normalizadas se presentan en la Fig. 20, y se puede apreciar que ningún caso tienen apariencia sigmoideal. Además existe una relación directa entre la velocidad de hinchamiento normalizada y la cantidad de unidades de MAA en el copolímero. Por ello,

hemos examinado la posibilidad de que el proceso de hinchamiento siguiera una cinética de segundo orden, representada por la ecuación de Robinson-Schott,<sup>[16, 29, 30]</sup> (Ec. 8).



**Figura 19.** Representación de  $\ln\left\{\frac{(k_1/k_2) + (Q_t/Q_\infty)}{1 - (Q_t/Q_\infty)}\right\}$  vs  $t$  según la Ec. 14 para los datos de hinchamiento experimentales a pH 7 y 25°C de una serie de hidrogeles copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA).

Los datos experimentales de la Fig. 20 se han representado en la Fig. 21 de acuerdo a la Ec. 8. Como se vio anteriormente, esta Ec. 8 nos permite obtener una estimación del valor de hinchamiento en el equilibrio  $Q_\infty$ , la constante de velocidad de segundo orden  $K$  y el tiempo de hinchamiento medio que puede ser estimado como  $t_{1/2} = 1/K Q_\infty$ . En esta figura se aprecia claramente que casi todos los puntos experimentales se encuentran en la línea recta para todos los copolímeros, incluso para las primeras 30

horas del experimento. Los parámetros obtenidos, así como los excelentes coeficientes de correlación  $R^2$  se presentan en la Tabla 6.

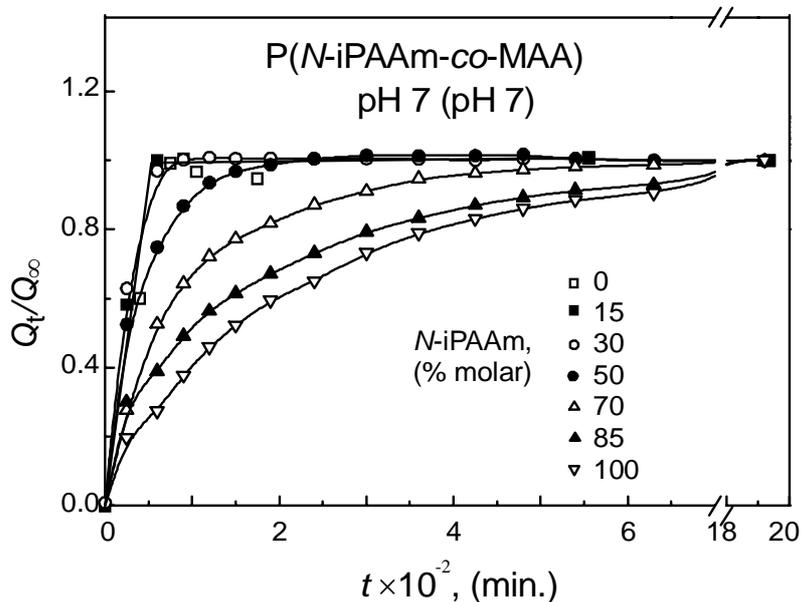


Figura 20.  $Q_t/Q_\infty$  vs  $t$  a pH 7 y 25°C para una serie de hidrogeles copolímeros de P(N-iPAAm-co-MAA) con un 0.50 % de entrecruzante, previamente sometidos a pH 7 y secados.

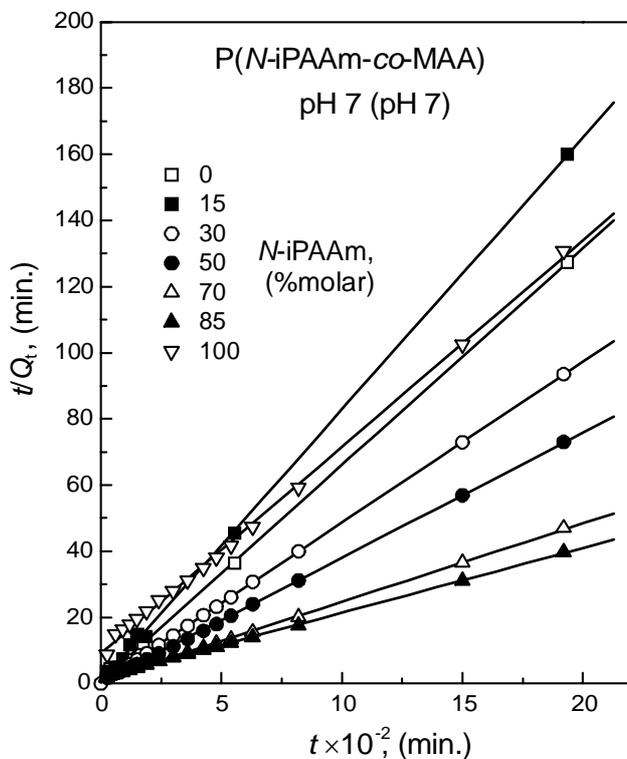


Figura 21. Cinética de segundo orden según la Ec. 8 (Robinson-Schott), a pH 7 y 25°C para una serie de hidrogeles copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) previamente sometidos a pH 7 y secados.

Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, esta Ec. 8 puede dar lugar a una sobre estimación de la bondad del ajuste. En esta Tabla 6 también se presentan los valores obtenidos para el ajuste a una cinética de primer orden (Ec. 5) y a una cinética de segundo orden empleando la Ec. 7. En estos dos últimos casos, los valores del coeficiente de correlación  $R^2$  obtenidos son buenos y no muy diferentes, por lo que resulta difícil discernir cual es el orden cinético que sigue el proceso. Hay que mencionar que los valores de  $Q_\infty$  obtenidos mediante el ajuste a la cinética de segundo orden son siempre superiores a los obtenidos experimentalmente. A pesar de esta controversia, los buenos coeficientes de correlación obtenidos en todos los casos demuestran que al romper los complejos por puentes de hidrógeno mediante el tratamiento previo a pH 7 se han eliminado los efectos anómalos en el hinchamiento.

**Tabla 6.** Parámetros cinéticos de primer y segundo orden a pH 7 y 25°C para hidrogeles previamente sometidos a pH 7.

% molar N-iPAAm	Cinética de primer orden (Ec 5)				Cinética de segundo orden (Ec 7)				Cinética de segundo orden (Ec 8)			
	$Q_\infty$	$K$ (min. <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (min.)	$R^2$	$Q_\infty$	$K$ (min. <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (min.)	$R^2$	$Q_\infty$	$K$ (min. <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (min.)	$R^2$
100	14.1	$5.0 \cdot 10^{-3}$	138.3	0.9904	16.5	$3.7 \cdot 10^{-4}$	163.8	0.9946	16.0	$4.2 \cdot 10^{-4}$	147.5	0.9993
85	45.6	$7.3 \cdot 10^{-3}$	94.8	0.9677	51.7	$1.9 \cdot 10^{-4}$	101.8	0.9914	51.1	$2.1 \cdot 10^{-4}$	94.5	0.9997
70	39.9	$1.1 \cdot 10^{-2}$	62.4	0.9918	44.1	$3.8 \cdot 10^{-4}$	59.7	0.9946	42.3	$6.9 \cdot 10^{-4}$	43.7	0.9997
50	26.3	$2.5 \cdot 10^{-2}$	27.6	0.9942	27.8	$1.7 \cdot 10^{-3}$	21.2	0.9859	26.5	$6.0 \cdot 10^{-3}$	6.3	0.9999
30	20.7	$4.2 \cdot 10^{-2}$	16.5	0.9966	21.4	$4.5 \cdot 10^{-3}$	10.4	0.9688	20.6	$6.8 \cdot 10^{-2}$	0.7	0.9999
15	11.8	$4.2 \cdot 10^{-2}$	16.5	0.9310	12.6	$5.8 \cdot 10^{-3}$	13.7	0.9195	12.2	$9.6 \cdot 10^{-3}$	8.5	0.9998
0	15.3	$2.8 \cdot 10^{-2}$	24.6	0.9755	16.1	$3.5 \cdot 10^{-3}$	17.7	0.9493	15.3	$7.1 \cdot 10^{-3}$	9.2	0.9999

A medida que aumenta la cantidad molar de MAA en los copolímeros, el valor de  $t_{1/2}$  disminuye, lo que demuestra un proceso de hinchamiento cada vez más rápido. Los parámetros obtenidos para los copolímeros con un 0 y un 15 % molar de N-iPAAm no deben ser tenidos en cuenta ya que son debidos a la falta de datos experimentales en la primera parte del ajuste. Para estas composiciones el hinchamiento es tan rápido, que las muestras están casi equilibradas para el primer punto, lo que da lugar a grandes dificultades experimentales y errores considerables.

Debemos mencionar que no hemos encontrado referencias de ningún estudio que considere la absorción de agua por parte de los geles poliméricos como un proceso autocatalítico. Sin embargo si que hemos encontrado en la literatura curvas con tendencia sigmoideal para hidrogeles copolímeros entrecruzados de metacrilato de metilo/metacrilato de dimetilaminoetilo (MMA-co-DMA) en condiciones ácidas.<sup>[19, 39-41]</sup> Falamarzian y Varshosat<sup>[19]</sup> propusieron que las desviaciones pueden ser debidas a la

adsorción multicapa de moléculas de agua a los segmentos hidrofílicos del polímero, similar a la absorción de gases en la superficie de los sólidos propuesta por Langmuir.<sup>[42]</sup> Por otro lado, Siegel<sup>[39-41]</sup> atribuyó este efecto al estado vítreo del copolímero que da lugar a un frente de hinchamiento que separa el corazón vítreo del polímero de la periferia gomosa. Este corazón rígido restringe el hinchamiento de la parte más externa. Tan sólo cuando el frente alcanza el corazón, se permite el hinchamiento en tres dimensiones, lo que da lugar a la aceleración y por tanto a la forma sigmoidal de la curva.<sup>[39]</sup> Sin embargo, esto es tan sólo una explicación macroscópica. A nivel molecular, el principal factor responsable de este peculiar comportamiento puede ser la rotura de los puentes de hidrógeno, que tiene lugar a pH ácido debido al carácter básico de sus hidrogeles.<sup>[19, 39]</sup>

A lo largo de este apartado hemos propuesto que la interacción por puentes de hidrógeno es la responsable del peculiar comportamiento en el hinchamiento observado para los copolímeros de P(*N*-iPAAm-*co*-MAA). Al menos dos factores que derivan de la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos carboxilo y amida deben ser tenidos en cuenta para entender todo el proceso de hinchamiento. En primer lugar los puentes de hidrógeno disminuyen la movilidad de las cadenas del polímero, incrementando por tanto la  $T_g$  y en segundo lugar, los complejos formados son de naturaleza hidrofóbica. Todos estos hechos han sido resaltados para algunos otros sistemas empleando otros procedimientos. De esta forma, Staikos et al.<sup>[43]</sup> concluyeron en que la presencia del grupo isopropilo contribuye a la estabilización de los complejos por puentes de hidrógeno entre la P(*N*-iPAAm) y el P(AA) que se forman en disoluciones acuosas a pH bajo, debido a la importante interacción hidrofóbica. También es bien sabido que las asociaciones interpoliméricas a través de puentes de hidrógeno dan lugar a estructuras muy compactas.<sup>[13, 44]</sup> En el caso de los copolímeros de P(*N*-iPAAm-*co*-AA) en disolución, Bokias et al.<sup>[45]</sup> demostraron que su hidrofobia se ve fuertemente incrementada por los puentes de hidrógeno entre cadenas. En este caso tenemos dos efectos simultáneos, uno representado por una estructura más compacta y el otro, una mayor hidrofobia incrementada por puentes de hidrógeno entre y dentro de las cadenas. Cuanto más bajo es el pH del tratamiento previo, mayor es la influencia de estos dos efectos en la velocidad de hinchamiento, como se ha observado experimentalmente en el caso de la serie de copolímeros de P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) estudiados en nuestro trabajo.

El P(MAA) también forma puentes de hidrógeno en medio ácido, pero sin embargo no presenta curvas dinámicas de forma sigmoidal en el posterior hinchamiento en condiciones neutras. Por el contrario, este comportamiento se observa claramente en algunos de los copolímeros con *N*-iPAAm. Además, la velocidad de hinchamiento del P(MAA) a pH 7 es muy similar, siempre que haya sido previamente tratado a pHs por debajo de su  $pK_a$ . Este comportamiento tan sólo puede ser explicado en base a diferencias características entre los puentes de hidrógeno MAA-MAA y MAA-*N*-iPAAm. Los experimentos de  $^1\text{H}$  2D DQ MAS NMR, nos han demostrado que los puentes de hidrógeno entre los grupos carboxilo y amida son más fuertes que entre los grupos carboxilo-carboxilo, y por tanto, su estabilidad con el pH debe ser también mayor. Además el carácter hidrofóbico de los complejos en los copolímeros P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) debe impedir el acceso de agua a la superficie. Sin embargo, una vez

que el agua inicia la penetración y los puentes de hidrógeno empiezan a romperse, los grupos carboxílicos se ionizan por lo que disminuye la hidrofobia del medio. Esto quiere decir que cada vez será más fácil la penetración de nuevas moléculas de agua, ya que el medio se vuelve más hidrófilo, incrementando de esta forma la velocidad de absorción de agua del gel. Esto puede ser la explicación que justifica macroscópicamente el proceso autocatalítico. Los resultados obtenidos en el estudio de la transición térmica en los copolímeros también corroboran esta hipótesis. Las interacciones hidrofóbicas juegan un papel muy importante en la transición de fase de la P(*N*-iPAAm). La copolimerización con monómeros cargados afecta a la sensibilidad térmica, y a pH básico, en el que los grupos carboxílicos se encuentran ionizados, la transición no puede ser detectada macroscópicamente. La contribución osmótica adicional al hinchamiento debida a los monómeros cargados da lugar a una mayor hidrofilia y compite con las interacciones hidrofóbicas, impidiendo el colapso de la estructura del gel. Por el contrario, a pH bajo, una vez que tiene lugar la protonación de los grupos laterales carboxílicos disminuye la hidrofilia y es posible detectar la transición.

Considerando el proceso a nivel molecular, podemos emplear la hipótesis de la existencia de sitios activos e inactivos en la superficie del gel, propuesta por Wang y Morawetz.<sup>[46]</sup> Es muy posible que al principio del proceso de hinchamiento existan en la superficie del gel dos tipos de sitios diferentes, uno que está completamente expuesto a las moléculas de agua y otro en el que la formación de complejos en el polímero, sin importar cual sea su naturaleza, hace que esté protegido frente a las moléculas de agua presentes en el medio. En una segunda etapa, las moléculas de agua que hayan penetrado a través del xerogel por las regiones expuestas, pueden iniciar la plastificación de las zonas de la superficie más rígidas debido a los complejos, creando nuevas zonas desprotegidas frente a las moléculas de agua y dando lugar a un aumento significativo del agua absorbida. De hecho, esto puede dar lugar a todo un proceso con características autocatalíticas.

La existencia de un periodo de inducción se debe probablemente al estado vítreo del polímero seco, en el que el coeficiente de difusión es muy pequeño.<sup>[47, 48]</sup> El polímero necesita un periodo de acondicionamiento durante el cual se hincha y se plastifica por la absorción de agua, para permitir el acceso a los sitios asociados mediante complejos. Este periodo de inducción probablemente existe en todos los copolímeros, pero en los copolímeros con mayor cantidad de puentes de hidrógeno es un factor muy limitante. Los copolímeros que fueron sometidos a pH 2, y no fueron posteriormente secados, muestras pH 7 (pH 2 hinchada), no presentan un periodo de inducción tan largo. Esto es debido a que las muestras contienen una pequeña cantidad de agua en su interior al inicio del ensayo que hace que los sitios con puentes de hidrógeno sean más accesibles al agua.

Una consecuencia práctica derivada de este comportamiento es que los sistemas sometidos a este tipo de tratamientos presentan una velocidad inicial de absorción de agua muy lenta, pero un grado de hinchamiento muy alto, por lo que podrían emplearse para preparar sistemas de transporte de fármacos muy específicos.

### 5.3.3.2. CINÉTICA DE HINCHAMIENTO A pHs POR DEBAJO DEL $pK_a$ DEL MAA

En el apartado 5.3.2.1 se observó como las curvas dinámicas de hinchamiento de las muestras a pH 4 presentaban una tendencia anómala (Figs. 6, 7 y 8), con una primera etapa de hinchamiento seguida de un deshinchamiento hasta alcanzar un valor de equilibrio más bajo. En la literatura consultada hemos encontrado casos de curvas de hinchamiento dinámico que presentan esta forma que normalmente se conoce como “efecto *overshooting*”.<sup>[49-57]</sup> Este efecto no ha sido interpretado de forma general, ni en lo que respecta a la cinética de hinchamiento, ni al mecanismo de transporte del proceso. Después de una revisión de los casos encontrados en la literatura, el principal problema para este tipo de interpretación es que este fenómeno se ha encontrado en sistemas con estructuras químicas muy diferentes, y parece depender de un amplio número de factores. Por ejemplo se ha encontrado en sistemas iónicos, en sistemas no iónicos pero hidrofílicos, e incluso en sistemas apolares.

Bhardawaj et al.<sup>[49, 51]</sup> en el caso de hidrogeles de poli(2-hidroxietil metacrilato-*co*-*p*-estireno sulfonato sódico) (HEMA-*co*-SSS) observaron este efecto, y asumieron la interpretación dada por Mauritz<sup>[58]</sup> en el caso de la hidratación de películas de perfluorosulfonato de Nafion. Este autor<sup>[68]</sup> sugiere que durante la formación de “*clusters*” (aglomerados) de moléculas de agua en el interior de la matriz polimérica, las celdas de hidratación ión-dipolo se aproximan y se superponen con la consiguiente expulsión de algunas moléculas de agua debido a compatibilidad termodinámica. De forma similar, Valencia y Piérola,<sup>[50]</sup> atribuyeron el efecto “*overshooting*” que aparecía en las curvas de hinchamiento del poli(*N*-vinilimidazol-*co*-estirenosulfonato sódico) a la formación de pares iónicos. Estos autores<sup>[50]</sup> interpretaron el efecto desde un punto de vista conciliatorio y global, en términos de la competición de varias etapas en el mecanismo de hinchamiento: difusión de agua hacia el gel, desenmarañamiento de las cadenas, intercambio sodio-protón a través de la interfase entre el gel y el medio externo, aproximación de las cadenas para permitir la interacción de los grupos sulfonato con los grupos laterales vecinos de imidazol protonado, y la difusión de agua al exterior del gel. En este caso, la aproximación de las cadenas permitiría la interacción de los grupos sulfonato con las cadenas laterales vecinas de imidazol protonado dando lugar a la formación de pares iónicos que actúan como puntos de entrecruzamiento físico. Esto tiende a dar lugar a una disminución en el grado de hinchamiento, con la consecuente expulsión de agua.

El efecto *overshooting* también ha sido observado en sistemas no polares por Vrentas et al.,<sup>[52]</sup> Smith y Peppas,<sup>[53]</sup> Peppas y Urdahl<sup>[54-57]</sup> y Adib y Neogi.<sup>[58]</sup> Peppas y Urdahl<sup>[54-57]</sup> analizaron este efecto en el transporte de ciclohexano a través de poliestireno entrecruzado. Después de llevar a cabo experimentos muy discriminantes en función del grado de entrecruzamiento y las características geométricas de las muestras, sugirieron que el fenómeno estaba relacionado con un proceso de relajación de las cadenas macromoleculares. Este tendría lugar en el polímero una vez que el material ha pasado al estado gomoso, pero antes de que se alcance el equilibrio real. En el caso de sistemas hidrofílicos con grupos laterales no ionizables, el efecto *overshooting* también se ha asociado a relajaciones moleculares de acuerdo con Peppas y colaboradores<sup>[59, 60, 67]</sup> y Lee y colaboradores.<sup>[61-65]</sup>

Los datos encontrados en la literatura, en general, parecen relacionar el efecto *overshooting* con varios factores: (i) el grado de entrecruzamiento del sistema que da lugar a cambios en la movilidad que afectan al proceso de relajación,<sup>[52]</sup> (ii) la geometría de la muestra,<sup>[52-54, 57]</sup> es decir cambios dimensionales (longitud y espesor de las muestras), (iii) temperatura,<sup>[57, 60-65]</sup> el efecto *overshooting* desaparece al aumentar la temperatura en algunos casos<sup>[64]</sup> y aparece al aumentar la temperatura en otros<sup>[61, 64]</sup>, (iv) la concentración de cargas fijas,<sup>[66]</sup> o la aproximación de las cadenas para permitir las interacciones entre moléculas vecinas cargadas,<sup>[50]</sup> (v) cambios en el pH.<sup>[49, 51, 64]</sup> (vi) y en algunos casos ha sido atribuido a la pérdida de monómero no reaccionado o cadenas poliméricas no entrecruzadas que difunden fuera de la red polimérica hinchada.<sup>[67]</sup> Todas estas explicaciones no son esencialmente contradictorias, a pesar de que describen el efecto *overshooting* desde distintos puntos de vista. Como por ejemplo algunas de ellas sostienen que el efecto puede ser debido a factores estructurales, a aspectos morfológicos externos de los geles y otras a mecanismos de difusión controlados por relajación molecular de la cadena.

En el apartado anterior se sugirió que la forma sigmoïdal de las curvas dinámicas de hinchamiento a pHs alcalinos para los copolímeros estudiados en nuestro trabajo era debida a la rotura de los puentes de hidrógeno. Por otro lado, el efecto *overshooting* aparece de manera destacada en las curvas de estos copolímeros cuando se hinchan a pHs ácidos y ambos fenómenos dependen de la composición de la muestra. Puesto que los puentes de hidrógeno dependen fuertemente del pH del medio, resulta evidente que el efecto de *overshooting* a pH ácido, igual que sucedía con las curvas de hinchamiento sigmoïdales a pH básico, debe estar relacionado con los complejos por puentes de hidrógeno. Nosotros proponemos que la formación dinámica de los puentes de hidrógeno, promovida por el disolvente en el hinchamiento, es la responsable del efecto *overshooting* que aparece a pHs ácidos. En este apartado los datos se analizarán empleando un riguroso modelo cinético basado en la suposición anterior, y se discutirá la extensión de esta interpretación para el efecto *overshooting* encontrado en otros sistemas, considerando la posibilidad de un entrecruzamiento físico en el hinchamiento.

En las Figs.1 (a) y (b) se podía observar como los valores de hinchamiento en el equilibrio a 25°C son ligeramente superiores a pH 4 que a pH 2. Como ya se indicó, en estas condiciones, los valores de equilibrio son mas altos a medida que aumenta el contenido de *N*-iPAAm de la muestra, y alcanzan un mínimo para los copolímeros enriquecidos en MAA. El homopolímero de P(MAA) muestra valores de  $Q_{\infty}$  más altos que la mayoría de los copolímeros, lo que indica que la interacción entre ambas unidades comonoméricas da lugar a una estructura mas colapsada que las interacciones del MAA solo. Tanto la dependencia con la composición como los valores absolutos de  $Q_{\infty}$  son muy similares en ambas series de copolímeros, lo que indica que la respuesta de hinchamiento se ve más afectada por la interacción entre ambos comonomeros que por el grado de entrecruzamiento.

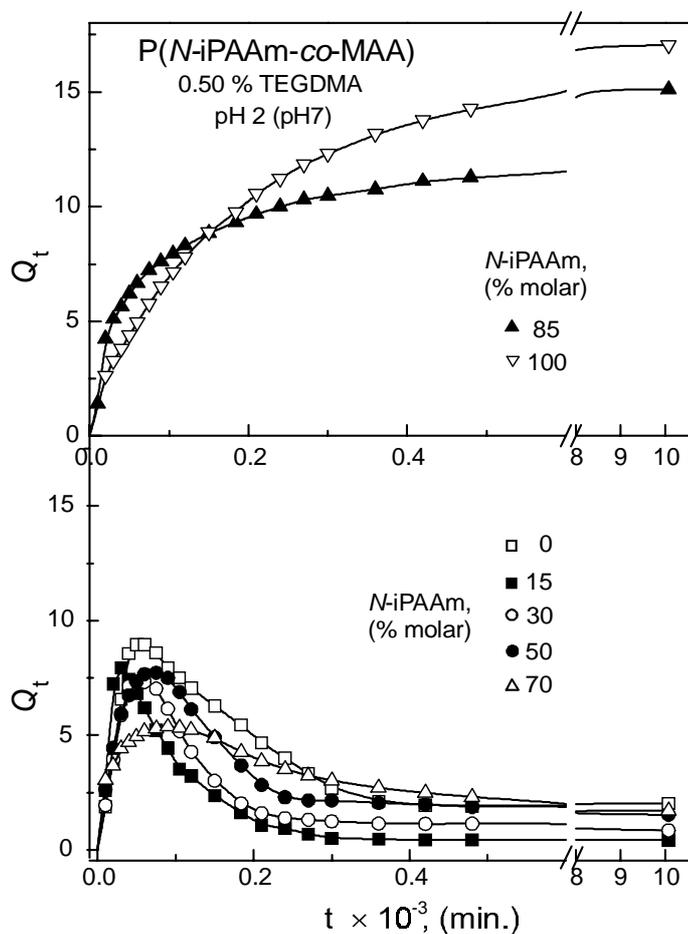
En la Figs. 6 (c) y 7 (b) Se presentaban las curvas de hinchamiento a pH 4 a 25 °C para las serie de copolímeros de P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) con un 0.25 % y un 0.50 % de entrecruzante, respectivamente. Se observa claramente como en algunas de estas curvas aparece el efecto *overshooting*, cuyo valor

absoluto depende de la composición de la muestra y se aprecia que el efecto aparece en mayor grado en el copolímero con un contenido de *N*-iPAAm del 70% molar. También se ha observado como la apariencia macroscópica de los geles en el periodo anterior a alcanzar el máximo, es prácticamente transparente, y posteriormente tiene lugar un incremento en la opacidad de los mismos. Esta opacidad depende de la composición del polímero. Como han descrito otros autores,<sup>[59]</sup> cuando se forman complejos polímero-polímero a causa de puentes de hidrógeno, la disolución polimérica se vuelve turbia a causa de la agregación de las cadenas poliméricas. En nuestro caso, mediante experimentos de 2D <sup>1</sup>H DQ MAS RMN se demostró que esta opacidad en las muestras estaba relacionada con la formación de complejos entre ambos monómeros. A pH 5 los copolímeros permanecen transparentes y no es posible detectar la formación de complejos por puentes de hidrógeno entre el MAA y la *N*-iPAAm. Por el contrario, cuando los copolímeros alcanzan el equilibrio a pH 4, presentan mayor opacidad y es posible detectar la formación de los complejos.

En las Figs. 6 (d) y 7 (c) se presentaron las curvas de hinchamiento dinámico a 25 °C y a pH 2 para las dos series de copolímeros con un 0.25 % y un 0.50 % de entrecruzante respectivamente. Estas curvas no permiten apreciar ningún efecto anómalo en su hinchamiento, al menos en lo que se refiere al efecto *overshooting*. Tanto los copolímeros como el P(MAA) alcanzan valores de equilibrio de hinchamiento muy bajos y rápidamente, y tan solo el copolímero de mayor contenido en *N*-iPAAm y la P(*N*-iPAAm) mantienen una capacidad de absorción de agua relativamente alta. Esto da lugar a una pregunta obvia, si el efecto *overshooting* está relacionado con la formación de los complejos por puentes de hidrógeno, sería lógico que ocurriera a mayor nivel a pH 2 que a pH 4. Desde nuestro punto de vista este hecho es una consecuencia de las diferencias en las escalas de tiempo del hinchamiento inicial y la formación de puentes de hidrógeno que tiene lugar a pH 2. Ya se ha mencionado que las muestras presentadas en estas Figs. 6 (c) y 7 (b) corresponden a las denominadas muestras control. Pero igual que en el caso anterior, también hemos estudiado el comportamiento de muestras que habían sido sometidas a pH básico y secadas de forma previa a la obtención de las curvas de hinchamiento en un medio ácido para determinar el grado de formación de puentes de hidrógeno en la muestra. Estos tratamientos tienen un efecto notable en la cinética de hinchamiento. En la Fig. 22 se observa lo que ocurre cuando las muestras se someten a pH 7 y se secan, previamente a los experimentos a pH 2. El efecto *overshooting* aparece tanto para los copolímeros como para el homopolímero de P(MAA). El máximo de absorción de agua tiene lugar mucho antes cuando se compara con el de las muestras control hinchadas a pH 4. Hay que mencionar que se intentó llevar a cabo un experimento análogo en muestras sometidas a pH 7 y secadas y posteriormente hinchadas de nuevo a pH 4. Desafortunadamente, no fue posible mantener constante el pH de la disolución tampón durante el experimento, lo que afectó a los resultados experimentales, por lo cual no fueron tenidos en cuenta.

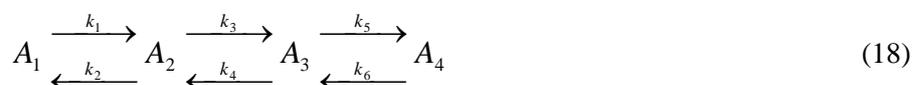
Los experimentos de <sup>1</sup>H MAS RMN realizados con muestras hinchadas demostraron la existencia de diferentes tipos de agua con distinta movilidad dependiendo del pH de tratamiento previo. El modelo

cinético que vamos a describir se basa en la existencia de diferentes especies de agua, que son consecuencia de la topología del hidrogel.



**Figura 22.**  $Q_t$  vs.  $t$  a pH 2 y 25 °C para la serie de copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) con un 0.50 % (p/p) de entrecruzante y tratados previamente a pH 7 y secados.

Al principio del proceso de hinchamiento, los grupos amida y carboxílico del hidrogel copolímero no están unidos y el gel posee una capacidad de absorber agua que denominaremos  $A_1$ , mientras que el agua absorbida a cada tiempo para este copolímero se denomina  $A_2$ . El pH ácido del medio promueve una reorganización de la estructura del gel a través de puentes de hidrógeno, dando lugar a una estructura más compacta con una menor capacidad de absorción de agua. El contenido de agua de esta segunda estructura se denomina  $A_3$ . Puesto que el contenido de agua de esta estructura es mayor que su valor en el equilibrio, tiene lugar una expulsión de agua. Este agua expulsada se denomina  $A_4$ . Las concentraciones de las cuatro especies de agua  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  y  $A_4$  están controladas por seis constantes de velocidad  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ ,  $k_5$  y  $k_6$ , tal y como se muestra en el siguiente esquema,

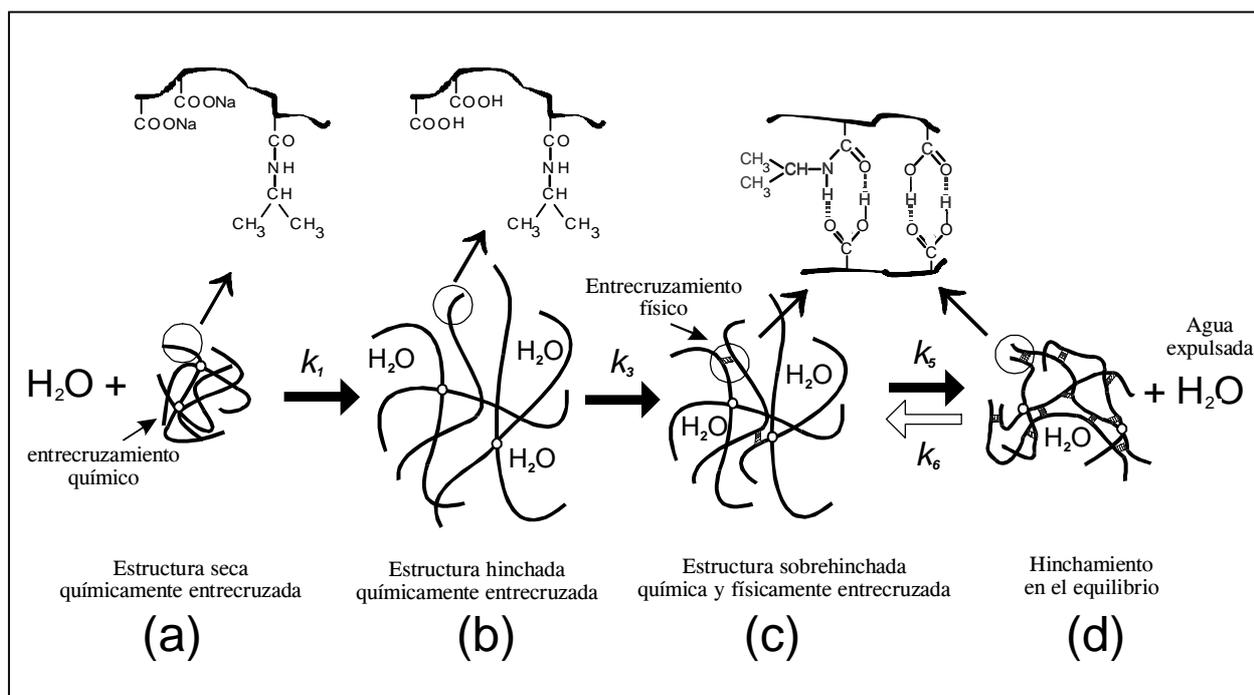


es decir, tres reacciones reversibles consecutivas de primer orden.<sup>[70, 71]</sup>

El problema se simplifica en gran manera suponiendo que ciertas constantes son iguales a cero. De esta forma, si consideramos la primera y segunda etapas del proceso no reversibles,  $k_2 = k_4 = 0$ . Entonces la velocidad puede expresarse mediante la siguiente serie de ecuaciones fundamentales,

$$\begin{aligned} \frac{dA_1}{dt} &= -k_1 A_1 \\ \frac{dA_2}{dt} &= k_1 A_1 - k_3 A_2 \\ \frac{dA_3}{dt} &= k_3 A_2 - k_5 A_3 + k_6 A_4 \\ \frac{dA_4}{dt} &= k_5 A_3 - k_6 A_4 \end{aligned} \quad (19)$$

En la Fig. 23 se presenta un esquema que representa la reorganización estructural en el interior del gel que da lugar a la expulsión de agua después del hinchamiento inicial.



**Figura 23.** Cuatro etapas que tienen lugar en el hinchamiento que da lugar al “efecto overshooting” para una muestra hinchada a pH 7, secada y vuelta a hinchar en medio ácido. (a) Estructura de un gel seco entrecruzado químicamente con grupos carboxilato sódico (b) Hinchamiento de la estructura y protonación de los grupos carboxílicos. (c) Formación de los entrecruzamientos no covalentes por puentes de hidrógeno. (d) Nueva estructura en equilibrio, y equilibrio de hinchamiento después de la expulsión de moléculas de agua.

El conjunto de ecuaciones diferenciales para una serie de reacciones de primer orden consecutivas y reversibles como el indicado fue integrado por Rakowski.<sup>[72]</sup> Lowry y John<sup>[73]</sup> derivaron la cinética empleando variables adimensionales y Lewis y Johnson<sup>[74]</sup> resolvieron un problema matemático similar empleando métodos matriciales. La solución, empleando este último método emplea la ecuación secular,

$$\begin{bmatrix} k_1 - \lambda & 0 & 0 & 0 \\ -k_1 & k_3 - \lambda & 0 & 0 \\ 0 & -k_3 & k_5 - \lambda & -k_6 \\ 0 & 0 & -k_5 & k_6 - \lambda \end{bmatrix} = 0 \quad (20)$$

después de la expansión las raíces vienen dadas por,

$$\begin{aligned} \lambda_1 &= 0 \\ \lambda_2 &= k_1 \\ \lambda_3 &= k_3 \\ \lambda_4 &= k_5 + k_6 \end{aligned} \quad (21)$$

Como describieron Lewis y Johnson,<sup>[74]</sup> se pueden deducir los coeficientes B igualando  $B_{3f} = 1$ . Que en forma matricial puede reescribirse como,

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} 0 & \left( \frac{k_1 - k_3}{k_3} \right) \cdot \left( \frac{k_6 + k_5 - k_1}{k_5} \right) & 0 & 0 \\ 0 & k_1 \cdot \left( \frac{k_1 - k_5 - k_6}{k_3 \cdot k_5} \right) & \frac{k_3 - k_5 - k_6}{k_5} & 0 \\ \frac{k_6}{k_5} & \frac{k_6 - k_1}{k_5} & \frac{k_6 - k_3}{k_5} & -1 \\ 1 & 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} \quad (22)$$

Definimos la siguiente serie de matrices,

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \\ A_3 \\ A_4 \end{bmatrix} \quad (23)$$

$$\mathbf{A}_0 = \begin{bmatrix} a \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (24)$$

$$\mathbf{E} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & e^{-k_1 t} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & e^{-k_3 t} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & e^{-(k_5 + k_6) t} \end{bmatrix} \quad (25)$$

donde la matriz  $A_0$  representa las condiciones a  $t=0$ , por tanto  $A_1=a$  y  $A_2=A_3=A_4=0$ . La matriz  $A$  puede reescribirse como,

$$\mathbf{A} = \mathbf{B} \cdot \mathbf{E} \cdot \mathbf{B}^{-1} \cdot \mathbf{A}_0 \quad (26)$$

La solución explícita de esta ecuación nos da la dependencia de cada concentración de agua con el tiempo y pueden volverse a escribir de forma convencional como,

$$A_1 = a \cdot e^{-k_1 t} \quad (27)$$

$$A_2 = \left( \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot (e^{-k_3 t} - e^{-k_1 t}) \right) \cdot a \quad (28)$$

$$A_3 = \left( \frac{k_3}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_1 - k_6}{k_1 - k_5 - k_6} \cdot e^{-k_1 t} - \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_3 - k_6}{k_3 - k_5 - k_6} \cdot e^{-k_3 t} + \frac{k_1}{k_1 - k_5 - k_6} \cdot \frac{k_5}{k_5 + k_6} \cdot \frac{k_3}{k_3 - k_5 - k_6} \cdot e^{-(k_5 + k_6)t} + \frac{k_6}{k_5 + k_6} \right) \cdot a \quad (29)$$

$$A_4 = \left( \frac{k_3}{k_3 - k_1} \cdot \frac{k_5}{k_1 - k_5 - k_6} \cdot e^{-k_1 t} + \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_5}{k_5 + k_6} \cdot \frac{k_5}{k_3 - k_5 - k_6} \cdot e^{-k_3 t} + \frac{k_3}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_5}{k_5 + k_6} \cdot \frac{k_1}{k_1 - k_5 - k_6} \cdot e^{-(k_5 + k_6)t} + \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_5}{k_5 + k_6} \cdot \frac{k_3 - k_6}{k_3 - k_5 - k_6} \cdot e^{-(k_5 + k_6)t} - \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_6}{k_5 + k_6} \cdot (e^{-(k_5 + k_6)t} - e^{-k_3 t}) + \frac{k_6}{k_5 + k_6} \right) \cdot a \quad (30)$$

El contenido total de agua en el interior del gel a tiempo  $t$  viene dado por  $Q_t$ ,

$$Q_t = A_2 + A_3 = \left( \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot (e^{-k_3 t} - e^{-k_1 t}) + \frac{k_3}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_1 - k_6}{k_1 - k_5 - k_6} \cdot e^{-k_1 t} - \frac{k_1}{k_1 - k_3} \cdot \frac{k_3 - k_6}{k_3 - k_5 - k_6} \cdot e^{-k_3 t} + \frac{k_1}{k_1 - k_5 - k_6} \cdot \frac{k_5}{k_5 + k_6} \cdot \frac{k_3}{k_3 - k_5 - k_6} \cdot e^{-(k_5 + k_6)t} + \frac{k_6}{k_5 + k_6} \right) \cdot a \quad (31)$$

Y el valor de  $Q_\infty$  es la concentración de la especie  $A_3$  en el equilibrio. Ésta es función de las constantes de velocidad  $k_5$  y  $k_6$ ,

$$Q_\infty = A_{3\infty} = \frac{k_6}{k_6 + k_5} \cdot a \quad (32)$$

Los valores de las cuatro constantes de hinchamiento calculados mediante el ajuste de los datos experimentales a la Ec. 27 se recogen en las Tablas 7-9. En las Tablas 7 y 8 se presentan los valores obtenidos para muestras hinchadas a pH 4 directamente desde las síntesis química sin ningún tratamiento previo para los copolímeros con 0.25 % y 0.50 % de entrecruzante, respectivamente. En la Tabla 9 se

presentan los valores obtenidos para el hinchamiento a pH 2 de muestras de copolímeros con un 0.50% (p/p) de agente de entrecruzamiento previamente sometidos a pH 7. En las tablas se observa que los valores de los coeficientes de determinación son buenos, en la mayoría de los casos  $R^2 > 0.9$ .

**Tabla 7.** Valores de las constantes de velocidad  $k_1$ ,  $k_3$ ,  $k_5$ , y  $k_6$ , de  $A_1$  y  $A_3$  en el equilibrio,  $A_{1\infty}$  y  $A_{3\infty}$  y los coeficientes de determinación  $R^2$  de acuerdo con la Ec. 31 para la serie de copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) con un 0.25 % de entrecruzante hinchados a pH 4 y 25 °C tal y como se obtuvieron de la síntesis.

N-iPAAm, (% molar)	$10^3 k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_3$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_5$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_6$ (min <sup>-1</sup> )	$A_{1\infty}$	$A_{3\infty}$	$R^2$
0	21.8	-	-	-	4.6	-	0.997
15	23.1	1.7	27.0	13.7	5.1	1.7	0.990
30	7.2	2.8	7.2	4.4	2.2	0.8	0.952
50	17.8	1.9	24.8	6.2	9.6	1.9	0.990
70	7.6	2.7	28.0	3.6	34.0	3.9	0.999
85	7.2	1.9	2.7	8.70	25.7	19.6	0.975
100	3.63	-	-	-	21.6	-	0.997

**Tabla 8.** Valores de las constantes de velocidad  $k_1$ ,  $k_3$ ,  $k_5$ , y  $k_6$ , de  $A_1$  y  $A_3$  en el equilibrio,  $A_{1\infty}$  y  $A_{3\infty}$  y los coeficientes de determinación  $R^2$  de acuerdo con la Ec. 31 para la serie de copolímeros P(N-iPAAm-co-MAA) con un 0.50 % de entrecruzante hinchados a pH 4 y 25 °C tal y como se obtuvieron de la síntesis.

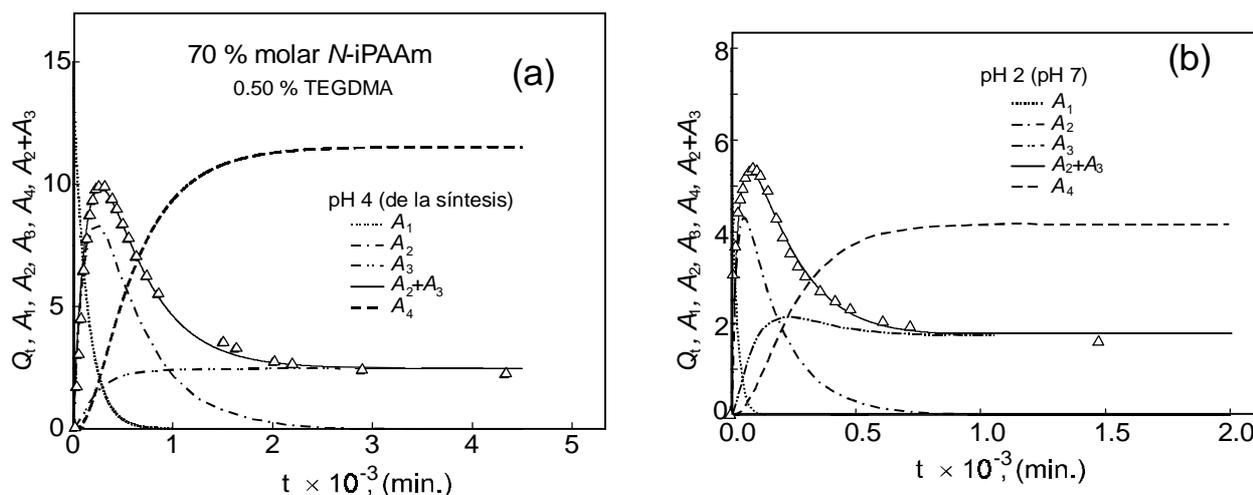
N-iPAAm, (% molar)	$10^3 k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_3$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_5$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_6$ (min <sup>-1</sup> )	$A_{1\infty}$	$A_{3\infty} = Q_{\infty}$	$R^2$
0	14.4	-	-	-	4.7	-	0.994
15	15.2	1.0	15.0	11.7	4.2	1.8	0.988
30	1.0	3.0	2.1	0.9	2.3	0.7	0.978
50	1.5	4.6	3.5	1.1	4.7	1.1	0.945
70	7.2	2.2	12.1	2.6	14.0	2.5	0.996
85	7.9	-	-	-	15.8	-	0.999
100	5.0	-	-	-	14.0	-	0.998

En la Fig. 24, se representan los valores experimentales de las muestras con un 70 % molar de N-iPAAm y con un 0.50 % de entrecruzante junto con las curvas teóricas calculadas mediante el mejor ajuste a la Ec. 31. La Fig. 24 (a) corresponde a las muestras hinchadas a pH 4 desde la síntesis y la 24 (b) a muestras hinchadas a pH 2 después del tratamiento previo a pH 7. En estas figuras se presentan también las curvas teóricas de las cuatro especies de agua calculadas mediante las Ec. 27-30 y suponiendo las constantes de velocidad obtenidas del ajuste a la Ec 31. En la Fig. 25 (a) y (b) se comparan los valores de hinchamiento experimentales para las series de copolímeros con un 0.25 % y un 0.50 % de entrecruzante respectivamente, hinchados a pH 4 directamente desde la síntesis junto con las curvas teóricas extraídas

del ajuste a la Ec. 31. En estas Figs. se observa como los valores calculados con el modelo propuesto están de acuerdo con los obtenidos experimentalmente.

**Tabla 9.** Valores de las constantes de velocidad  $k_1$ ,  $k_3$ ,  $k_5$ , y  $k_6$ , de  $A_1$  y  $A_3$  en el equilibrio,  $A_{1\infty}$  y  $A_{3\infty}$  y los coeficientes de determinación  $R^2$  calculados de acuerdo con la Ec. 27 para la serie de copolímeros con un 0.50 % de entrecruzante hinchados a pH 2 y 25 °C previamente sometidos a pH 7 y posteriormente secados.

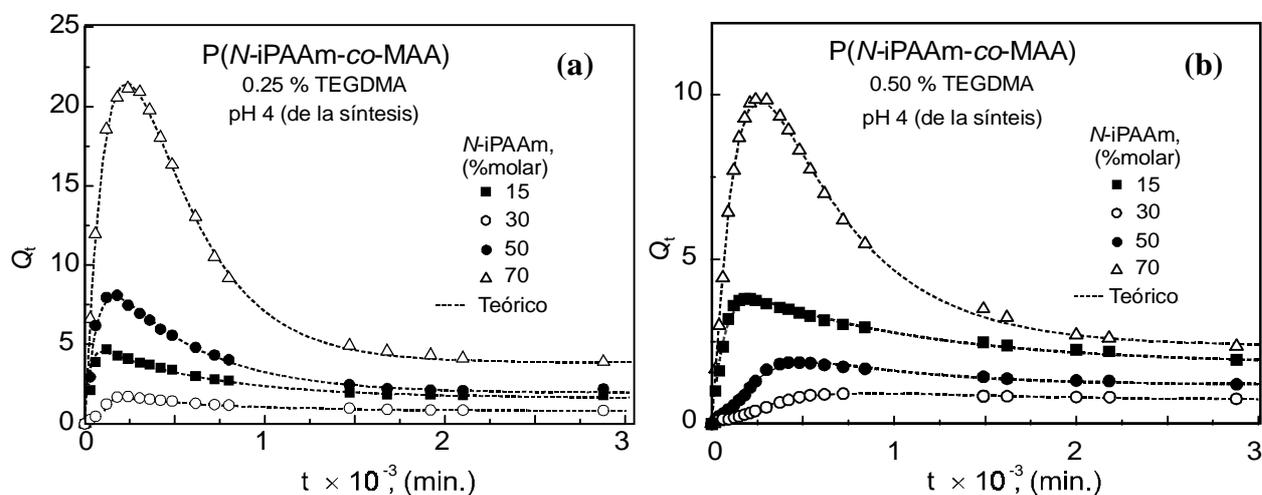
N-iPAAm, (%molar)	$10^3 k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_3$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_5$ (min <sup>-1</sup> )	$10^3 k_6$ (min <sup>-1</sup> )	$A_{1\infty}$	$A_{3\infty}$	$R^2$
0	29.3	8.0	60.1	7.7	12.2	1.4	0.966
15	75.0	13.0	121.9	4.2	10.1	0.3	0.951
30	22.7	33.4	30.1	2.5	14.2	1.1	0.982
50	19.9	26.1	22.9	3.2	14.1	1.7	0.997
70	45.7	6.3	8.4	3.5	5.91	1.7	0.969
85	10.8	-	-	-	12.1	-	0.874
100	5.3	-	-	-	16.1	-	0.988



**Figura 24.**  $Q_t$  vs.  $t$  para el copolímero con un 70 % molar de N-iPAAm y un 0.50% (p/p) de agente de entrecruzamiento,  $Q_t$  (triángulos abiertos);  $A_1$  (línea de puntos);  $A_2$  (línea de punto y segmento);  $A_3$  (línea de dos puntos segmento);  $A_2 + A_3$  (línea sólida);  $A_4$  (línea de segmentos). (a) Muestra hinchada a pH 4 directamente desde la síntesis (b) Muestra hinchada a pH 2 que han sido sometidas a un tratamiento previo a pH 7.

Resulta evidente que trabajar con cinco parámetros ajustables (las cuatro constantes de velocidad y el valor inicial de  $A_1$ , a) dará lugar a alguna incertidumbre, por lo que los valores obtenidos del ajuste deben ser interpretados desde un punto de vista cualitativo. Sin embargo, hemos hecho algunas suposiciones con el fin de obtener resultados que fuesen factibles. Se obtuvo una segunda serie de buenos ajustes para las muestras sometidas a pH 4 sin ningún tratamiento previo, en los cuales los valores de  $k_3$ ,

relacionados con la formación de puentes de hidrógeno fueron extremadamente altos. Pero esto implica que los valores de la constante de deshinchamiento  $k_5$ , tenían que ser muy bajos, lo cual no es muy realista desde el punto de vista experimental. Por esta razón, la segunda posibilidad fue descartada.



**Figura 25.**  $Q_t$  vs  $t$  para copolímeros sometidos a pH 4 tal y como se obtuvieron de la síntesis. (a) con un 0.25 % (b) con un 0.50 % de entrecruzante. Los valores teóricos calculados de acuerdo a la Ec. 31 se representan como una línea de puntos. Los parámetros cinéticos ajustables se presentan en las Tablas 1 y 2.

De manera general, de los ajustes de ambas muestras a pH 4 se puede decir que la baja constante de velocidad  $k_3$  está controlando el comportamiento de hinchamiento de los copolímeros. Mientras que las velocidades de hinchamiento y deshinchamiento son del mismo orden de magnitud, como cabría esperar. No aparecen diferencias cualitativas entre ambas muestras a causa de las diferencias en el grado de entrecruzamiento. Por el contrario, la magnitud del *overshooting* sí que depende fuertemente de la composición. Esta dependencia se ha atribuido a la facilidad de algunas composiciones de los copolímeros para formar puentes de hidrógeno, así como a las diferencias en la movilidad de las cadenas y la hidrofilia, que dan lugar a una mayor y más rápida absorción de agua de forma previa a la reordenación del polímero. En las muestras que fueron sometidas a pH 7 y secadas de forma previa a llevar a cabo los ensayos a pH 2 todos los procesos tienen lugar de manera más rápida que a pH 4. La constante  $k_3$  aumenta, ya que está relacionada con el tiempo al que tiene lugar el máximo de la curva. Por ello hemos atribuido la ausencia de *overshooting* en las muestras hinchadas a pH 2 directamente desde la síntesis, al aumento de la constante de velocidad de reorganización de la estructura,  $k_3$ , al disminuir el pH del medio. Debido a su bajo grado de ionización el valor de  $k_1$  de las muestras hinchadas directamente desde la síntesis debe ser menor que cuando las muestras se ionizan completamente a pH básico de forma previa al ensayo. Esto hace que  $k_3$  sea mucho mayor que  $k_1$ , y no aparezca el *overshooting*. La relación entre estos dos tiempos característicos, es decir, el tiempo que tarda el agua en penetrar en el gel y el tiempo que tarda en reorganizarse la estructura polimérica, determinará si el proceso es anómalo o no.

Una de las interpretaciones más extendidas para explicar el fenómeno de *overshooting* está basada en efectos debidos a la relajación. Por ejemplo, en el caso de sistemas hidrofílicos con cadenas laterales no ionizables Peppas y colaboradores<sup>[59, 60, 67]</sup> y Lee y colaboradores<sup>[61-65]</sup> proponen que el agua difunde en la red antes de que la cadena tenga tiempo de relajarse, y la curva alcanza un máximo. Cuando finalmente las cadenas se relajan, fuerzan al agua a abandonar la red, y el sistema alcanza el equilibrio, es decir, distintas velocidades de difusión y efectos de relajación molecular. La lenta reordenación de las moléculas poliméricas puede dar lugar a gran variedad de efectos anómalos tanto en experimentos de absorción como de permeación, particularmente cuando los experimentos se llevan a cabo cerca o por debajo de la temperatura de transición vítrea del sistema.<sup>[51]</sup> Pero en algunos casos el *overshooting* aparece en condiciones en las que el polímero se encuentra muy por encima de su  $T_g$ <sup>[61]</sup> Este es también el caso del *overshooting* que se ha encontrado en los copolímeros de P(*N*-iPAAm-*co*-MAA). Otro signo de la complejidad de esta característica es su dependencia con la temperatura. Si fuera debido tan sólo a procesos de relajación debería disminuir al aumentar la temperatura del experimento, y sin embargo Lee y Shieh<sup>[61]</sup> encontraron que las curvas dinámicas de copolímeros basados en *N*-iPAAm y ácido acrílico neutralizado con hidróxido sódico mostraban el *overshooting* a elevadas temperaturas, al contrario de lo que sucedía para el poli(2-hidroxietil metacrilato) P(HEMA),<sup>[59, 60, 62-65, 67]</sup> que muestra este efecto al disminuir la temperatura.

Después del examen de nuestros resultados experimentales y del un gran número de resultados de la literatura, proponemos que el fenómeno de *overshooting* puede ser considerado en otros términos. No puede ser explicado tan sólo suponiendo diferentes velocidades de difusión o efectos de relajaciones moleculares simples. Este tipo de efectos debidos a la relajación puede estar controlado por algunos tipos de interacciones químicas o físicas. La cantidad de agua que un gel es capaz de absorber depende del grado de entrecruzamiento. Durante el proceso de hinchamiento o deshinchamiento el grado de entrecruzamiento químico permanece constante (a no ser que tenga lugar algún proceso degradación química). Por ello, el único entrecruzamiento que puede ser modificado es el físico, que, como se ha demostrado anteriormente puede ser muy importante. La aparición de fuerzas intermoleculares que cambian el grado de entrecruzamiento físico, se ve promovida por el disolvente en el estado hinchado. Esta es la razón por la que el efecto *overshooting* se ve tan afectado por factores externos como la temperatura y el pH, por factores estructurales y movilidad polimérica, que permiten el reordenamiento de las cadenas. En el caso de grupos polielectrolitos fuertes, el efecto *overshooting* podría justificarse por la formación de “*clusters*” por interacciones iónicas.<sup>[49, 51]</sup> O en el caso del sistema de hidrogeles que contienen estireno sulfonato y *N*-vinilimidazol, Valencia y Piérola,<sup>[50]</sup> han interpretado que el entrecruzamiento físico es debido a la formación de pares iónicos. De forma similar, otra causa del efecto *overshooting* puede ser la formación de puentes de hidrógeno en un entorno hidrofóbico, como en los geles estudiados en nuestro trabajo. En el caso del fenómeno de *overshooting* descrito para los hidrogeles de P(HEMA) y sus copolímeros<sup>[59, 60, 62-65, 67]</sup>, es bien sabido que su grado de hinchamiento en agua no está muy afectado por el grado de entrecruzamiento químico. Basados en estas observaciones y en el

hinchamiento anómalo de los geles en disoluciones de urea, parece que existe una red secundaria no covalente que da lugar a un elevado grado de entrecruzamiento del polímero. Esta estructura puede consistir en puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo y carbonilo en un entorno hidrofóbico.<sup>[75]</sup> La lenta modificación de esta estructura secundaria (también debida al estado vítreo del polímero) en el hinchamiento puede ser la responsable del fenómeno de *overshooting*. Y por último interacciones por transferencia de carga e interacciones  $\pi$ - $\pi$ <sup>[76]</sup> pueden ser las responsables del efecto observado en el caso de poliestireno entrecruzado con ciclohexano como disolvente descrito por Peppas y Urdahl.<sup>[54-57]</sup>

#### 5.4. BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] I. Yamamoto, K. Iwasaki, S. Hirotsu, *J. Phys. Soc. Jpn*, **1989**, 58, 210.
- [2] S. Hirotsu, Y. Hirokawa, T. Tanaka, *J. Chem. Phys.*, **1987**, 87, 1392.
- [3] M. Marchetti, S. Prager, E. L. Cussler, *Macromolecules*, **1990**, 23, 3445.
- [4] K. K. Lee, E. L. Cussler, M. Marchetti, *Chem. Eng. Sci.*, **1990**, 45, 766.
- [5] K. Otake, H. Inomata, M. Konno, S. Saito, *J. Chem. Phys.*, **1990**, 91, 1345.
- [6] F. Tanaka, *Macromolecules*, **1989**, 22, 1988.
- [7] G. M. Eichenbaum, P. F. Kiser, A. V. Dobrynin, S. A. Simon, D. Needham, *Macromolecules*, **1999**, 32, 4867.
- [8] Y. Huang, I. Szleifer, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **2002**, 35, 1373.
- [9] P. J. Flory, "Principles of Polymer Chemistry". Cornell University Press. Ithaca, New York, 1953.
- [10] G. M. Eichenbaum, P. F. Kiser, S.A. Simon, D. Needham, *Macromolecules*, **1998**, 31, 5084.
- [11] R. A. Stile, W. R. Burghardt, K. E. Healy, *Macromolecules*, **1998**, 32, 7370.
- [12] K. Kratz, T. Hellwg, W. Eimer, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **2000**, 170, 137.
- [13] E. A. Berturov, L. A. Bimendina, *Adv. Polym. Sci.*, **1981**, 41, 99.
- [14] T. Tanaka, D. J. Filmore, *J. Chem. Phys.*, **1979**, 70, 1214.
- [15] C. Wu, C. -Y. Yan, *Macromolecules*, **1994**, 27, 4516.
- [16] H. Schott, *J. Pharm. Sci.*, **1992**, 81, 467.
- [17] E. O. Park, M. Maniar, J. Shah, *J. Control. Release*, **1996**, 40, 55.
- [18] C. Peniche, M. E. Cohen , B. Vázquez, J. San Román, *Polymer*, **1997**, 38, 5977.
- [19] M. Falamarzian, J. Varshosaz, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **1998**, 24, 667.
- [20] J. R. Quintana, N. E. Valderruten, I. Katime, *Langmuir*, **1999**, 15, 4728.
- [21] J. Valencia, I. F. Piérola, *Eur. Polym. J.*, **2000**, 37, 2345.
- [22] O. E. Philippova, R. Rulkens, B. I. Kovtunencko, S. S. Abramchuk, A. R. Khokhloy, G. Wegner, *Macromolecules*, **1998**, 31, 1168.

- [23] M. Shibayama, K. Nagai, *Macromolecules*, **1999**, 32, 7461.
- [24] M. Koussathana, P. Lianos, G. Staikos, *Macromolecules*, **1997**, 30, 7798.
- [25] M. Shibayama, S. Mizutani, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, 29, 2019.
- [26] M. Shibayama, Y. Suetoh, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, 29, 6966.
- [27] M. Shibayama, Y. Fujikawa, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, 29, 6535.
- [28] Y. Li, T. Tanaka, *J. Chem. Phys.*, **1990**, 92, 1365.
- [29] H. Schott, *J. Macromol. Sci. Phys.*, **1992**, B 31, 1.
- [30] I. D. Robinson, *Photograph. Sci. Eng.*, **1964**, 8, 220.
- [31] J. S. Vrentas, C. M. Jarzebski, J. L. Duda, *AIChE J.*, **1975**, 21, 894.
- [32] J. S. Vrentas, J. L. Duda, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **1977**, 15, 441.
- [33] J. Crank, G. S. Park, "Diffusion in Polymers". Academic Press. London. 1968.
- [34] J. Crank, "Mathematics of Diffusion" 2<sup>a</sup> ed. Oxford University Press. New York. 1975.
- [35] P. L. Ritger, N. A. Peppas, *Fuel*, **1987**, 66, 815.
- [36] H. L. Frisch, *Polym. Eng. Sci.*, **1980**, 20, 2.
- [37] I. Katime, J. L. Velada, R. Novoa, E. Díaz de Apodaca, J. Puig, E. Mendizábal, *Polym. Int.*, **1996**, 40, 281.
- [38] J. M. Mazón-Arechederra, M. P. Delgado-Quintero, J. M. Barrales-Rienda, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1982**, 20, 25.
- [39] R. A. Siegel, *Adv. Polym. Sci.*, **1993**, 109, 233.
- [40] B. A. Firestone, R. A. Siegel, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1991**, 43, 901.
- [41] R. A. Siegel, I. Johannes, C. A. Hunt, B. A. Firestone, *Pharm. Res.*, **1992**, 9, 76.
- [42] I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.*, **1918**, 40, 1361.
- [43] G. Staikos, G. Boikas, K. Karayanni, *Polym. Int.* **1996**, 41, 345.
- [44] E. Tsuchida, K. Abe, *Adv. Polym. Sci.*, **1982**, 45, 1.
- [45] G. Bokias, G. Staikos, I. Iliopoulos, *Polymer*, **2000**, 41, 7399.
- [46] Y. Wang, H. Morawetz, *Macromolecules*, **1989**, 22, 164.
- [47] J. Fuhrmann, M. Driemeyer, G. Rehage, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **1970**, 74, 842.
- [48] E. Selic, W. Brochard, *Macromol. Chem. Phys.*, **2001**, 202, 516.
- [49] Y. K. Bhardwaj, S. Sabharwal; A. B. Majali, *J. Polym. Mat.*, **2000**, 17, 239.
- [50] J. Valencia, I. F. Piérola, *J. Appl. Polym. Sci.*, **2002**, 83, 191.
- [51] Y. K. Bhardwaj, S. Sabharwal, A. B. Majali, *J. Polym. Mat.*, **2001**, 18, 37.
- [52] J. S. Vrentas, J. L. Duda, A. -C. Hou, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1984**, 29, 399.

- [53] M. J. Smith, N. A. Peppas, *Polymer*, **1985**, 26, 569.
- [54] N. A. Peppas, K. G. Urdahl, *Polym. Bull.*, **1986**, 16, 201.
- [55] K. G. Urdahl, N. A. Peppas, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1987**, 33, 2669.
- [56] N. A. Peppas, K. G. Urdahl, *Eur. Polym. J.*, **1988**, 24, 13.
- [57] K. G. Urdahl, N. A. Peppas, *Polym. Eng. Sci.*, **1988**, 28, 96.
- [58] F. Adib, P. Neogi, *AiChE J.*, **1987**, 33, 164.
- [59] C. M. Walker, N. A. Peppas, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1990**, 39, 2043.
- [60] L. Y. Shieh, N. A. Peppas, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1991**, 42, 1579.
- [61] W. -F. Lee, C. -H. Shieh, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1999**, 73, 1955.
- [62] W. -F. Lee, C.-F. Chen, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1998**, 69, 2021.
- [63] W. -F. Lee, C.-F. Chen, *J. Polym. Res.*, **1998**, 5, 105.
- [64] W. -F. Lee, Y.-H. Lin, *J. Appl. Polym. Sci.*, **2001**, 81, 1360.
- [65] W. -F. Lee, Y. J. Chen, *J. Appl. Polym. Sci.*, **2001**, 81, 2888.
- [66] A. E. English, S. Mafe, J. A. Manzanares, X. Yu, A. Y. Grosberg, T. Tanaka, *J. Chem. Phys.*, **1996**, 104, 8713.
- [67] N. M. Franson, N. A. Peppas, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1983**, 28, 1299.
- [68] K. A. Mauritz, *JMS-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, **1988**, C28, 65.
- [69] N. Endo, H. Shirota, K. Horie, *Macromol. Rapid Commun.*, **2001**, 22, 593.
- [70] A. A. Frost, R. G. Pearson, "Kinetics and Mechanism. A Study of Homogeneous Chemical Reactions" 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley. New York. 1961.
- [71] Z. G. Szabó, "Kinetic Characterization of Complex Reaction Systems" en "Comprehensive Chemical Kinetics. Vol. 2. The Theory of Kinetics". Editores C. H. Bamford, C. F. H., Tipper. Elsevier. Amsterdam. 1969.
- [72] A. Rakowski, *Z. Physik. Chem.*, **1906**, 57, 321.
- [73] T. M. Lowry, W. T. John, *J. Chem. Soc.*, **1910**, 97, 2634.
- [74] E. S. Lewis, M. D. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 5399.
- [75] N. A. Peppas "Hydrogels in Medicine and Pharmacy". CRC, Boca-Raton, FL. 1986
- [76] S. Tsuzuki, K. Honda, T. Uchamaru, M. Mikami, K. Tanabe. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 104.



## 6. APLICACIÓN EN LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

### 6.1. INTRODUCCIÓN

---

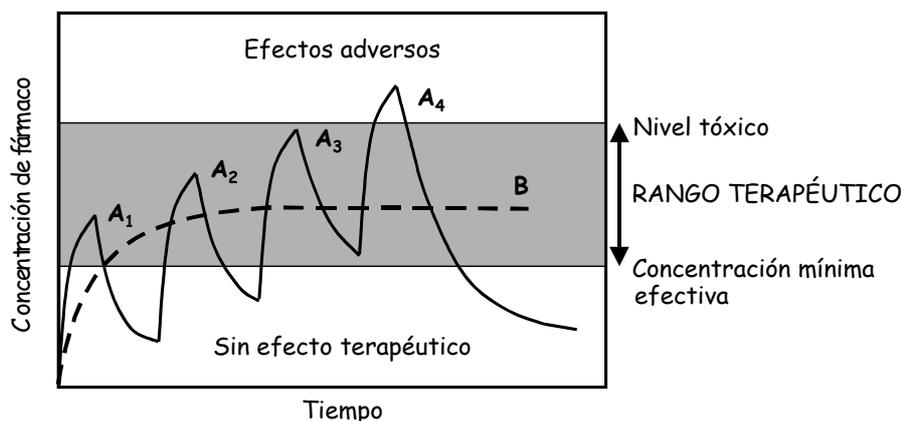
El principal objetivo de la Tecnología Farmacéutica es el desarrollo de formas farmacéuticas para la administración de sustancias farmacológicamente activas que se adapten a sus características y a la vía de administración prevista, con el fin de obtener el máximo aprovechamiento terapéutico. A lo largo de la historia, su evolución ha estado encaminada a obtener formulaciones más seguras y eficaces para el tratamiento de las enfermedades, mediante sistemas de administración tales como comprimidos, supositorios, cremas o inyectables como transportadores de fármacos.<sup>[1]</sup> Estas formulaciones se obtienen mediante el empleo de sustancias farmacológicamente inertes denominadas excipientes, que se combinan de manera adecuada con el principio activo. Existe una gran cantidad de sustancias admitidas oficialmente que se emplean como excipientes para las diferentes formas de transporte de fármacos.<sup>[2]</sup> Las funciones de los excipientes son muy variadas y en el caso de los actuales sistemas de liberación controlada de fármacos, los excipientes son de fundamental importancia. Las propiedades de los hidrogeles descritas a lo largo de esta memoria, hacen de ellos unos candidatos muy adecuados para su utilización como excipientes en sistemas altamente especializados de transporte fármacos. En los capítulos anteriores se ha descrito como, mediante la modificación de distintos parámetros, se pueden obtener materiales con propiedades y características muy diferentes a partir de los dos monómeros empleados. Del mismo modo, la caracterización exhaustiva de los mismos nos ha permitido conocerlos en profundidad y así establecer unas pautas racionales de uso en Tecnología Farmacéutica. En este capítulo se llevará a cabo un estudio de la aplicación de estos materiales en sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos, teniendo en cuenta los complejos efectos de todos los parámetros determinados anteriormente. Para esta investigación se escogió como modelo el Clorhidrato de Diltiacem, un fármaco muy empleado tanto en sistemas tradicionales como de liberación controlada. Se intentarán determinar las condiciones más adecuadas para adaptar los materiales sintetizados a las características del fármaco y a la vía de administración prevista.

#### 6.1.1. SISTEMAS DE TRANSPORTE Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

La reciente evolución de la biología molecular en cuestiones de aislamiento y evaluación de secuencias génicas, permite una rápida identificación de los potenciales objetivos para el tratamiento de enfermedades humanas. A ello hay que sumar el desarrollo de la química combinatoria que permite aumentar el número de moléculas que pueden ser sintetizadas y evaluadas, junto la aplicación de técnicas de selección de alta eficacia que permiten identificar rápidamente los fármacos útiles para su posterior desarrollo.<sup>[3]</sup> A pesar de que todo ello parece suponer un gran aumento en el número de nuevos medicamentos disponibles para el tratamiento de múltiples de enfermedades, el potencial beneficio de estas nuevas terapias sólo se podrá obtener mediante una formulación eficaz de estos compuestos. Estas

formulaciones deben presentar unas características de seguridad, adecuación y relevancia fisiológica, adaptadas a cada sustancia en concreto, que permitan obtener el máximo beneficio del principio activo incorporado.

Por todo ello, los avances descritos en el campo del descubrimiento de nuevos principios activos han venido acompañados de grandes cambios en el área de investigación y desarrollo en Tecnología Farmacéutica. La mejora en las capacidades técnicas y analíticas, un mejor entendimiento de la biofarmacia y farmacocinética junto con la aplicación de nuevos y más sofisticados materiales como excipientes en las formulaciones han dado lugar a grandes desarrollos en el campo del transporte y la liberación controlada de fármacos.<sup>[4, 5]</sup> Con las formas de dosificación clásicas en las que el fármaco se libera de forma prácticamente inmediata, no es posible lograr un adecuado control del efecto del principio activo. Después de la administración de una dosis de fármaco se produce una distribución sistémica por todo el organismo y no sólo en su tejido u órgano diana, lo que puede dar lugar a toxicidad y efectos secundarios. El fármaco alcanza una concentración plasmática máxima que a continuación empieza a decaer, en función de sus parámetros farmacocinéticos. Mediante la administración de dosis repetidas se producen fluctuaciones muy acusadas en los niveles sanguíneos que suelen situarse por debajo o incluso por encima de los niveles terapéuticos,<sup>[6]</sup> como se muestra en el Esquema 1. Además, especialmente en el caso de la administración por vía oral, las características de algunos principios activos hacen que la liberación pueda producirse en zonas no adecuadas con lo que puede tener lugar una degradación o una baja absorción del principio activo disminuyendo en gran medida la eficacia terapéutica de la formulación.



**Esquema 1:** Perfil hipotético de la concentración plasmática de un fármaco que resulta de la administración consecutiva de dosis múltiples de un sistema de transporte convencional (A1, A2,... etc.) comparado con el perfil ideal de concentración de fármaco requerido para un tratamiento (B).<sup>[11]</sup>

Todos estos problemas han llevado al desarrollo de nuevos métodos para el transporte de fármacos, conocidos como sistemas de transporte y liberación controlada de fármacos. Éstos 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. La naturaleza espacial se refiere a controlar el lugar

donde se produce la liberación del principio activo. Por un lado, el objetivo puede ser que el principio activo se libere tan sólo donde debe ejercer su acción con el fin de minimizar las manifestaciones secundarias consecuencia de la distribución sistémica del principio activo. Por otra parte, el control espacial también puede ejercerse de forma que la liberación tenga lugar en sitios específicos convenientes para la estabilidad del fármaco o que mejoren su absorción. El control temporal de la liberación significa controlar la velocidad de liberación del principio activo del sistema con el fin de prolongar los efectos del mismo sin que se produzcan fluctuaciones en sus niveles plasmáticos (Esquema 1). Con ello, además, se disminuye la frecuencia de dosificación, lo que mejora el cumplimiento de la pauta por los pacientes. Idealmente se considera que los sistemas de liberación controlada deben permitir que el agente medicamentoso sea continuamente liberado para ser absorbido y así reemplazar la cantidad eliminada, mientras que la forma farmacéutica permanece en el organismo. Por ello, el objetivo fundamental, en la mayoría de los sistemas de liberación controlada estudiados y comercializados hoy en día, es conseguir cinéticas de liberación de fármacos de orden cero durante un periodo prolongado de tiempo.

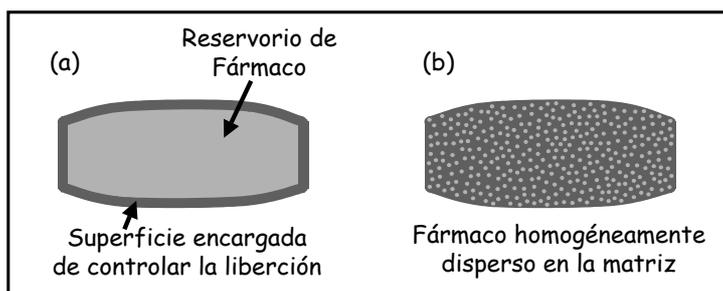
Las formulaciones de transporte y liberación controlada, en su constante evolución, se han vuelto mucho más sofisticadas y con capacidad de hacer algo más que extender el tiempo de liberación efectivo de un fármaco. Recientes consideraciones farmacocinéticas y farmacodinámicas del transporte de fármacos revelan, que muchas sustancias requieren funciones de liberación específicas que se adapten a sus características particulares con el fin de obtener el máximo aprovechamiento terapéutico.<sup>[5, 7]</sup> El desarrollo de sistemas capaces de liberar un fármaco en respuesta a las necesidades fisiológicas es una tendencia muy reciente en el campo de la Tecnología Farmacéutica. Una metodología posible para conseguir funciones de cinética de cesión específica, es emplear una modulación externa de la liberación de fármacos mediante estímulos físicos determinados. Con este fin, los hidrogeles sensibles a estímulos esta atrayendo gran atención en los últimos años.<sup>[7]</sup> Aunque muchos de estos estudios se encuentran en sus primeras etapas, las tecnologías emergentes ofrecen posibilidades que los científicos tan sólo han comenzado a evaluar.<sup>[8]</sup>

#### 6.1.2. MATERIALES Y MECANISMOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Siempre que se intenta conseguir algún tipo de control en la liberación del principio activo, los materiales empleados como excipientes presentan un papel fundamental. El control en la liberación tiene lugar cuando se combinan adecuadamente un polímero, natural o sintético con un fármaco de forma que éste sea liberado del sistema de una manera predeterminada dependiendo de las características farmacocinéticas del mismo.<sup>[8]</sup> Por ello la selección de un material polimérico adecuado es uno de los puntos más importantes a la hora de llevar a cabo el diseño racional de una forma farmacéutica. Para tener éxito en sus funciones de liberación controlada, el material debe ser químicamente inerte y sin impurezas que puedan ser liberadas al medio. Además debe tener unas propiedades físicas apropiadas y debe ser fácil de procesar.<sup>[8]</sup> Algunos de los materiales que se emplean en la actualidad o están siendo estudiados para la liberación de fármacos son polímeros naturales como el dextrano, la gelatina, la amilosa, la

celulosa, el quitosán, la fibrina, el colágeno o los alginatos y derivados de cualquiera de los anteriores obtenidos mediante modificación química. Sin embargo y a pesar del bajo coste de los productos naturales, hoy en día los materiales sintéticos se usan con mayor frecuencia en los sistemas de liberación controlada debido a su gran versatilidad y reproducibilidad.<sup>[4]</sup> Los primeros polímeros sintéticos que se utilizaron, tenían originalmente otras finalidades no biomédicas y fueron seleccionados por sus propiedades físicas como por ejemplo los poliuretanos por su elasticidad, las siliconas por su capacidad aislante, el polimetacrilato de metilo por su rigidez y transparencia, etc.<sup>[8]</sup> Los polímeros sintéticos más empleados en la actualidad son el poli(2-hidroxietil metacrilato), PHEMA, la poli(N-vinil pirrolidona) PVP, el alcohol polivinílico PVA, el ácido poliacrílico PAA, la poliacrilamida PAAM, el poli(etileno-co-acetato de vinilo) EVA, el poli(etilen glicol) PEG o el ácido poli(metacrílico), PMAA. Hay que mencionar otros polímeros sintéticos han sido diseñados específicamente para aplicaciones biomédicas como los ácidos polilácticos PLA y poliglicólicos PGA y sus copolímeros, los polianhidridos y los polioroésteres, que se degradan en el medio fisiológico.

Los materiales descritos se emplean de distintas maneras para obtener cinéticas de liberación del principio activo predeterminadas, predecibles y reproducibles. Estas cinéticas de cesión del principio activo dependen además del tipo de material empleado, del diseño del sistema. Generalmente, los sistemas de liberación controlada se pueden dividir según su mecanismo de cesión en dos grandes grupos como se muestra en el Esquema 2. En los sistemas tipo reservorio (Esquema 2 (a)) se pueden diferenciar dos partes, una donde se encuentra el principio activo, y otra en la que se encuentra el elemento responsable de controlar la liberación. En los sistemas matriciales, (Esquema 2b) no se puede diferenciar el principio activo del elemento responsable de controlar su liberación ya que el fármaco se encuentra distribuido homogéneamente en la matriz.



**Esquema 2:** Tipos de sistemas de Transporte y Liberación Controlada de Fármacos (a) Sistemas tipo reservorio, (b) Sistemas tipo matricial.

En ambos casos existen tres mecanismos primarios por los que los principios activos pueden ser liberados del sistema: difusión, erosión, e hinchamiento seguido de difusión,<sup>[9]</sup> que pueden tener lugar juntos o por separado en un determinado sistema de transporte. 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.<sup>[8]</sup> 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.<sup>[8]</sup> 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.<sup>[8]</sup> 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.

Puesto que el principal mecanismo que controla la liberación del fármaco en los hidrogeles preparados en nuestro trabajo es el hinchamiento, a continuación se estudiará en detalle este proceso.

### 6.1.3. HIDROGELES COMO SISTEMAS DE TRANSPORTE DE FÁRMACOS

La mayoría de los materiales empleados en sistemas de cesión controlada por el hinchamiento son hidrogeles,<sup>[9]</sup> que son un tipo importante de materiales en el diseño de sistemas especializados para el transporte de fármacos. Desde el trabajo pionero de Wichterle y Lim en 1960 con hidrogeles entrecruzados de HEMA,<sup>[10]</sup> debido a su carácter hidrofílico y a su potencial biocompatibilidad, el interés de los hidrogeles en el campo de los biomateriales ha ido en aumento. Su empleo en Sistemas de Liberación Controlada de Fármacos está muy bien documentado en la literatura<sup>[4, 11-14]</sup> 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 la aplicación determinada. Por ello que se han empleado tanto en sistemas matriciales como reservorio.<sup>[4, 11-15]</sup>

En nuestro trabajo se han empleado los hidrogeles en sistemas de liberación controlada de fármacos de tipo matricial. En estos, el fármaco se encuentra inicialmente disperso de manera homogénea en el seno de un polímero en estado vítreo. Después de su administración en el organismo, y al entrar en contacto con los fluidos biológicos, absorbe agua y se hincha lo que condiciona la difusión del fármaco a través de la red polimérica al medio que le rodea.<sup>[15]</sup> Durante el hinchamiento pueden distinguirse dos fases en la matriz polimérica: una fase interna, vítreo, y la fase externa hinchada y gomosa a través de la que las moléculas de fármaco son capaces de difundir.<sup>[9]</sup> La velocidad de liberación del fármaco depende tanto de la difusión del agua, como de la relajación de la cadena polimérica. Otros factores adicionales que también pueden afectar a la liberación son el coeficiente de partición local, el balance hidrofílico/hidrofóbico total del sistema y los efectos osmóticos del fármaco disuelto en el interior de la matriz.<sup>[16]</sup>

Como se mencionó anteriormente, aunque se han hecho grandes progresos en el área de la liberación controlada de fármacos, aun se debe seguir avanzando para tratar eficazmente muchos trastornos clínicos.<sup>[17]</sup> En muchos casos resultaría muy conveniente que el fármaco pudiera ser liberado en respuesta a requerimientos biológicos fluctuantes o a la presencia de ciertas biomoléculas en el organismo.<sup>[1, 16, 18]</sup> Un sistema que fuera capaz de reaccionar ante la señal causada por la enfermedad, y liberar la cantidad apropiada de fármaco en función de la magnitud de la señal sería altamente beneficioso.<sup>[17]</sup> Estos sistemas deberían actuar por un mecanismo de retroalimentación similar al empleado en el organismo para la homeostasis del balance metabólico, un mecanismo que acoplara la velocidad de liberación del fármaco a las necesidades fisiológicas. El empleo de hidrogeles funcionales capaces de modificar su estructura en respuesta a estímulos del medio externo para obtener una liberación de fármacos modulada o pulsátil, es una tendencia muy reciente en los sistemas de transporte de fármacos.<sup>[16, 19]</sup> Este tipo de materiales se ha empleado en aplicaciones muy diversas como en la preparación de músculos artificiales,<sup>[20]</sup> válvulas químicas,<sup>[19]</sup> en la inmovilización de enzimas y células,<sup>[21]</sup> membranas para bioseparación.<sup>[22]</sup> Los hidrogeles sensibles a estímulos más aplicados hoy en día para la liberación controlada de fármacos son:

- Hidrogeles termosensibles, que presentan una temperatura inferior crítica de hinchamiento (LCST), por encima de la cual tiene lugar el colapso del gel.<sup>[7, 23, 24]</sup>
- Hidrogeles sensibles al pH del medio, que contienen grupos ácidos y básicos.<sup>[25-27]</sup>
- Hidrogeles sensibles a cambios en la fuerza iónica del medio. De ellos también se han obtenido hidrogeles sensibles a señales eléctricas.<sup>[17, 28]</sup>
- Hidrogeles que contienen enzimas inmovilizadas y en presencia del sustrato, tiene lugar la conversión enzimática dando lugar a productos que afectan a la estructura del gel.<sup>[15, 17, 29]</sup>
- Hidrogeles entrecruzados por una interacción intracadena antígeno-anticuerpo, en los que tiene lugar la expansión del gel en presencia del anticuerpo libre.<sup>[30]</sup>
- Hidrogeles sensibles a la luz, en los que se induce el colapso del gel de distintas formas mediante la incorporación de moléculas fotosensibles.<sup>[17, 31]</sup>

El desarrollo de este tipo de sistemas “inteligentes”, constituyen una de los más importantes enfoques futuros en el campo de la liberación controlada de fármacos. Con ellos podría ser posible el transporte de fármacos en respuesta a un determinado nivel plasmático o de manera muy precisa a un órgano o tejido en concreto. Por todo ello gran parte del desarrollo de nuevos materiales en Tecnología Farmacéutica se está enfocando a la preparación y empleo de este tipo de polímeros sensibles a estímulos con características estructurales y químicas, macroscópicas o microscópicas diseñadas específicamente para ello. Este ha sido el objetivo del trabajo llevado a cabo a lo largo de esta memoria. Para el diseño de un sistema de transporte y liberación controlada de fármacos será necesario adecuar la elección del material a las características del fármaco y de la vía de administración prevista.

#### 6.1.4. VÍA DE ADMINISTRACIÓN

De todas las posibles rutas para introducir un medicamento de liberación controlada en el organismo, la administración por vía oral en una sola dosis es la más simple y segura. Es simple, puesto que es la vía fisiológica de introducción de sustancias en el organismo, y segura puesto que no presenta problemas de esterilidad, y el riesgo de daño en el lugar de administración es muy bajo. A todo ello hay que añadir la gran aceptación que esta ruta presenta por parte de los pacientes. A pesar de la efectividad de vías de administración de fármacos alternativas (parenteral, pulmonar, transdérmica, nasal, bucal...), en continuo desarrollo para aplicaciones terapéuticas específicas, la vía oral, continúa siendo la elección principal especialmente para terapias crónicas.<sup>[1]</sup> Sin embargo, una formulación de liberación controlada por vía oral está sujeta a cambios continuos del medio durante su paso por el organismo. El tracto gastrointestinal presenta entornos heterogéneos y complejos con diversas funciones adecuadas a los requerimientos fisiológicos (Tabla 1). Pero por otro lado esta complejidad nos proporciona una oportunidad única para diseñar formas farmacéuticas con mecanismos que nos permitan controlar la liberación del fármaco. Una formulación cuyas características de liberación se diseñen teniendo en cuenta la anatomía y fisiología del tracto gastrointestinal nos permitiría racionalizar el transporte del fármaco para obtener el máximo beneficio terapéutico.<sup>[1]</sup>

**Tabla 1:** Características del tracto gastrointestinal humano.<sup>[32]</sup>

Sección	Longitud (m)	Superficie (m <sup>2</sup> )	pH	Tiempo de residencia (h)
Estómago	0.2	0.1	1-2	0.5-variable <sup>a</sup>
Intestino delgado	7	120 <sup>b</sup>		4-5
Duodeno	0.3	0.1	6.6	-
Yeyuno	3	60	7.4	-
Íleon	4	60	7.5	-
Intestino grueso	1.5	0.3	6.7	12-24

<sup>a</sup> depende del estado en ayunas o postprandial. <sup>b</sup> Este valor podría incrementarse a 4500 m<sup>2</sup> teniendo en cuenta las microvellosidades que cubren las células de la mucosa

Dos de las principales características fisiológicas del tracto gastrointestinal que proporcionan cierto control en la liberación del fármaco son el pH y el tiempo de residencia (Tabla 1). Una formulación pasa del pH fuertemente ácido del estómago al ligeramente alcalino en la zona media e inferior del intestino delgado. Además hay que tener en cuenta que las superficies de absorción son variables a lo largo del tracto gastrointestinal: muy grandes en el intestino delgado con un tiempo de residencia muy bajo, y mucho menores en el intestino grueso, con un mayor tiempo de residencia. Ambos factores han ejercido una gran influencia en el diseño galénico, como demuestra el gran número de formulaciones comercializadas para vía oral de cesión sostenida o de cesión retardada. En ellas se intenta ejercer algún tipo de control en la liberación del fármaco o eliminar los posibles problemas asociados a la

administración por vía oral.<sup>[1]</sup> En las formulaciones de cesión sostenida se emplean los excipientes de la formulación de diversas formas para prolongar la liberación del fármaco durante el tiempo de residencia de una formulación en el tracto gastrointestinal. Por otro lado, las formulaciones de cesión retardada se emplean habitualmente no sólo para proteger fármacos lábiles al pH ácido del estómago, sino también para proteger al estómago de fármacos irritantes o en el caso de fármacos que ejercen un efecto local a nivel gastrointestinal.

A pesar de las diferentes propiedades y características de los hidrogeles preparados en este trabajo, todos ellos, excepto la P(N-iPAAm), presentan en común una marcada sensibilidad al pH del medio. Esto podrá permitirnos mediante la selección de los materiales y las condiciones más adecuadas, llevar a cabo un preciso control en la liberación de una sustancia farmacológicamente activa por vía oral.

#### 6.1.5. FÁRMACO MODELO: CLORHIDRATO DE DILTIACEM

En la bibliografía consultada se puede apreciar como la mayor parte del esfuerzo científico dedicado a los geles capaces de responder a estímulos está siendo enfocado a la administración por vía oral de sustancias peptídicas farmacológicamente. Algunos ejemplos incluyen la aplicación de sistemas sensibles a estímulos para el control en la administración por vía oral de sustancias como la insulina, la calcitonina o la estreptokinasa.<sup>[7, 8, 23, 25, 33-35]</sup> Esto es debido al potencial terapéutico de este tipo de sustancias y a las grandes dificultades que presenta su administración en sistemas convencionales.<sup>[1]</sup> Sin embargo, el trabajo con sustancias peptídicas, presenta grandes dificultades técnicas y analíticas y un elevado coste que complica aun más los procesos de diseño en Tecnología Farmacéutica. A todo ello hay que añadir que a pesar de que gran parte de la investigación se esté dedicando a estos fármacos de tipo peptídico, todavía queda mucho por hacer para controlar y modificar los perfiles de transporte y liberación de moléculas más pequeñas. Hoy en día estas sustancias constituyen el principal tipo de agentes terapéuticos estudiados y empleados para el tratamiento de las enfermedades humanas por lo que resulta fundamental conseguir el máximo beneficio terapéutico mediante el empleo de sistemas de transporte adecuados. La obtención de cinéticas de cesión controlada para sustancias hidrofílicas de bajo peso molecular constituye una difícil e importante tarea.<sup>[8]</sup> Por ello se decidió emplear un fármaco modelo hidrofílico y de bajo peso molecular para estudiar las propiedades de cesión de los geles preparados. El fármaco elegido fue el Clorhidrato de Diltiacem, que es un agente de amplio uso en terapias crónicas de enfermedades vasculares.

##### 6.1.5.1. FARMACOLOGÍA<sup>[36-38]</sup>

El Diltiacem pertenece al grupo de las benzotiazepinas, y sus efectos terapéuticos son debidos a su capacidad para bloquear los canales lentos del calcio de forma fisiológicamente selectiva. De esta forma tiene lugar una inhibición del flujo de los iones calcio durante la despolarización de la membrana de manera específica en la musculatura cardiaca y vascular lisa. Sobre el músculo cardiaco actúa disminuyendo la contractilidad e inhibiendo y retrasando la conductividad cardiaca. El efecto en la

musculatura vascular es hipotensor ya que impide el proceso contráctil lo que se traduce en una vasodilatación arterial con una reducción de la resistencia periférica (postcarga). La magnitud de la reducción de la presión arterial está relacionada con el grado de hipertensión, por lo que los individuos hipertensos experimentan el efecto antihipertensivo, mientras que en los normotensos tan solo se produce una pequeña caída de la presión arterial. Sobre la circulación coronaria provoca dilatación generalizada, lo que determina un incremento del flujo sanguíneo y por consiguiente de la oxigenación miocárdica. Por todo ello se esta empleando terapéuticamente como antiarrítmico de tipo IV, antihipertensivo, antianginoso y vasodilatador periférico.

Su uso está indicado en el tratamiento de la cardiopatía isquémica (angina de pecho) como alternativa a los nitratos y/o beta-bloqueantes. También se emplea muy frecuentemente en el tratamiento de la hipertensión arterial de ligera a moderada. Tanto en el tratamiento de las cardiopatías, como en la hipertensión arterial, la dosis debe ser adaptada a cada paciente. Para la cardiopatía isquémica se recomienda una dosis inicial de 60 mg/12 h administrada antes de las principales comidas, ajustando la dosis a intervalos de uno o dos días. La dosis usual de mantenimiento es de 180-360 mg/día, en una o varias tomas según presentación. Para la hipertensión se recomiendan inicialmente, 120-180 mg/día (ej., 60 mg/8-12 h) antes de las comidas, ajustando la dosis según necesidad. El efecto antihipertensivo máximo se suele observar a los 14 días de tratamiento crónico, por lo que este será el momento para valorar la dosis. El mantenimiento suele ser 180-360 mg/día.

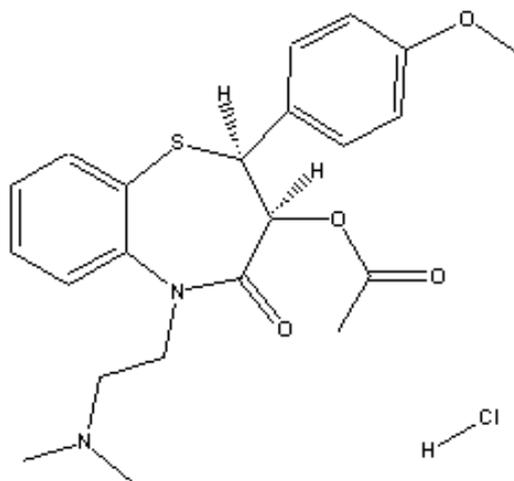
En general, los efectos adversos de este medicamento son frecuentes aunque leves y transitorios. El 6-10% de los pacientes experimenta algún tipo de efecto adverso. El perfil toxicológico de este fármaco es similar al del resto de bloqueantes de los canales lentos del calcio. En la mayor parte de los casos, los efectos adversos son una prolongación de la acción farmacológica y afectan principalmente al sistema cardiovascular.

#### 6.1.5.2. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y FARMACOCINÉTICA <sup>[37-39]</sup>

El Clorhidrato de Diltiacem es un fármaco de bajo peso molecular. Su denominación química es (2S-cis)-3-(Acetiloxi)-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(H)-ona de composición cuantitativa H 3.62% C 63.75% N 6.76% O 15.44% S 7.73%, fórmula empírica  $C_{22}H_{26}N_2O_4S$  y peso molecular 414.53. Su punto de fusión es 207.5-212°C, su coeficiente de partición Log P (octanol-agua) es 2.70 y su solubilidad en agua a 25°C es 12.3 mg/L.

Para mejorar su solubilidad, en las formulaciones galénicas se suele emplear el monohidrocloruro de Diltiacem de fórmula empírica  $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$  y peso molecular 450.99. Este es un polvo blanco cristalino de sabor amargo y soluble en agua, metanol y cloroformo. Su coeficiente de partición agua octanol Log P tiene un valor de 2.58. Las disoluciones de Clorhidrato de Diltiacem presentan un valor de pH de 4.3-5.3 y un máximo de absorbancia en el UV a aproximadamente 240nm.

El Diltiacem se absorbe rápida y completamente en el tracto gastrointestinal, pero sufre un intenso efecto de primer paso dando lugar a una biodisponibilidad absoluta de un 40%. La biodisponibilidad aumenta con tratamientos crónicos y/o aumentos de la dosis, pero de forma no lineal. El mínimo nivel plasmático terapéutico del Diltiacem se ha establecido en el rango de 50-200 ng / mL. El  $t_{m\acute{a}x}$  es de 1-2 h (formulación convencional), 8-11 h (liberación sostenida 24 h). El volumen aparente de distribución es de 3-8 litros/kg. El grado de unión a proteínas plasmáticas es del 80-85% (60-75% para el desacetildiltiacem, metabolito activo). Se metaboliza en el hígado (10-35% a desacetildiltiacem, con la mitad de la actividad farmacológica del Diltiacem). Se elimina mayoritariamente con las heces (65%), el 35% con la orina y un 2-4% en forma inalterada. Su vida media de eliminación es de 3.5-4.5 h (forma convencional) y de 5 a 7 h (formas retard). La fracción de la dosis eliminable mediante hemodiálisis o diálisis peritoneal es inapreciable. La vida media plasmática puede aumentar en ancianos, pero no se modifica en insuficiencia renal. La dosis letal 50 por vía oral en ratones y ratas varía de 415 a 740 mg / kg y de 560 a 810 mg / kg respectivamente y por vía intravenosa de 60 y 38 mg / kg respectivamente. La dosis letal 50 en perros es en exceso de 50 mg / kg mientras que se ha visto letalidad en monos a 360 mg / kg. La dosis letal en el hombre no es conocida.



*Esquema 3: Estructura química del Clorhidrato de Diltiacem.*

#### 6.1.5.3. LIBERACIÓN CONTROLADA

En la Tabla 2 se presentan las formulaciones comercializadas en España para la administración de Diltiacem. La gran cantidad de sistemas existentes nos permite apreciar la importancia que presenta optimizar los sistemas de administración de este fármaco. Entre estas formulaciones destaca el gran número de sistemas de Liberación Controlada o Retard presentes. Esto es debido, además de a la relevancia que presenta el tratamiento crónico de las enfermedades cardiovasculares en los países desarrollados, a las excelentes características que el Diltiacem presenta para el desarrollo de sistemas de liberación controlada por vía oral.

**Tabla 2:** Formulaciones basadas en Clorhidrato de Diltiacem comercializadas en España.<sup>[37]</sup>

<b>Nombre</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>Forma Farmacéutica</b>	<b>Laboratorio</b>
Angiodrox Retard	90, 120, 180, 300	Cápsulas	Solvay Farma
Cardiser Retard	120, 240, 300	Cápsulas, comprimidos	Merck Farma Química
Carredolon Retard	120, 240	Cápsulas, comprimidos	Bama Geve
Clobedian Retard	120	Cápsulas	Efarmes
Corolater	60, 90, 120	Cápsulas	Elan Farma
Corolater Retard	120, 180, 240	Cápsulas	Elan Farma
Cronodine Retard	120, 240	Cápsulas	Alacan
Dilaclan HTA	300	Cápsulas	Cepa Schwartz Pharma
Dilaclan Retard	90, 120, 180	Cápsulas	Cepa Schwartz Pharma
Diltiacem Alter	60	Comprimidos	Alter
Diltiacem Bayvit	60	Comprimidos	Bayvit
Diltiacem Cinfa	60	Comprimidos	Cinfa
Diltiacem Edingen	60	Comprimidos	Edingen
Diltiacem Esteve	60	Comprimidos	Esteve
Diltiacem Farmabion	60	Comprimidos	Farmabion
Diltiacem Geminis	60	Comprimidos	Géminis
Diltiacem Mundogen	60	Comprimidos	Mundogen Farma
Diltiacem Qualix	60	Comprimidos	Qualix Pharmaceuticals
Diltiwas	60	Comprimidos	Chiesi España
Diltiwas Retard	120, 240	Cápsulas	Chiesi España
Dinisor	60	Comprimidos	Pfizer
Dinisor Retard	180, 240	Comprimidos, Cápsulas	Pfizer
Doclis	60	Comprimidos	Bial-Industrial Farmacéutica
Doclis Retard	120, 240	Cápsulas	Bial-Industrial Farmacéutica
Lacerol	60	Comprimidos	Lacer
Lacerol Retard	120, 240, 300	Cápsulas, comprimidos	Lacer
Lacerol HTA Retard	240	Cápsulas	Lacer
Masdil	25, 60, 300	Viales, cápsulas, comprimidos	Esteve
Masdil Retard	120	Comprimidos	Esteve
Tilker	60, 120	Cápsulas, comprimidos	Sanofi Synthelabo
Tilker Lib Sost	200, 300	Cápsulas	Sanofi Synthelabo
Tilker Retard	300	Cápsulas	Sanofi Synthelabo
Triumsal Retard	300	Cápsulas	Sanofi Synthelabo
Uni Masdil	200	Cápsulas	Esteve

En el apartado anterior se describió como el tiempo de residencia en el intestino delgado está limitado a unas 3 o 4 h, mientras que en el colon está en el orden de 20 a 70 h. Por ello los sistemas de liberación controlada que intentan conseguir tiempos de absorción por encima de 4 horas están destinados al transporte de fármacos al colon. La mayoría de los fármacos presentan una mejor absorción en el intestino delgado, sin embargo, en los fármacos que son bien absorbidos en el colon, como es el caso del Diltiacem se puede utilizar esta estrategia. Esto puede permitir mantener la concentración plasmática de fármaco por periodos prolongados de tiempo.

Para muchos fármacos, como los agentes cardiovasculares, hay que tener en cuenta la existencia de variaciones diurnas en los procesos fisiológicos y en consecuencia sus implicaciones cronofarmacocinéticas, que hacen que una cinética de orden cero no siempre sea la mejor elección para obtener el máximo beneficio terapéutico.<sup>[18]</sup> El control en la liberación con los hidrogeles estímulo-respuesta podría permitir la obtención de patrones de liberación específicos para obtener unas concentraciones de fármaco óptimas desde un punto de vista fisiológico. Para el Diltiacem se han propuesto mecanismos de cesión bifásicos, con un periodo de retardo inicial que corresponde a la zona de elevada superficie y tiempos de residencia cortos en el intestino delgado. En el intestino grueso, por el contrario, la menor superficie de absorción y el largo periodo de tránsito hacen más deseable una liberación del fármaco más rápida.<sup>[18]</sup>

## **6.2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

---

### **6.2.1. CARGA DEL FÁRMACO EN LOS HIDROGELES**

Existen dos métodos fundamentales para la carga de hidrogeles como transportadores de fármacos.<sup>[16]</sup> En el primer método los monómeros del hidrogel se mezclan con el fármaco y el sistema iniciador, y se lleva a cabo la polimerización atrapando el fármaco en la matriz polimérica. En el segundo procedimiento, empleado más habitualmente, un gel sintetizado con una estructura predeterminada, purificado y seco se hincha hasta alcanzar el equilibrio en una disolución de fármaco de concentración determinada. El hidrogel cargado de fármaco se seca y de esta forma se obtiene una matriz polimérica con el fármaco homogéneamente disperso en ella. Este segundo método nos permite obtener sistemas más inertes, debido a la posibilidad de purificación del hidrogel de todos los componentes que no han reaccionado durante la síntesis. Además las estructuras químicas de la gran mayoría de los fármacos, con gran multitud de grupos activos podrían interactuar e incluso reaccionar con alguno de los componentes durante la síntesis.<sup>[16]</sup> Por todo ello se seleccionó el segundo procedimiento para nuestro trabajo. Para simplificar todos los cálculos realizados para este método se considera que la concentración de fármaco en el volumen de disolvente absorbido por el gel, es la misma que en la disolución de carga. Esto nos permite, conociendo el grado de hinchamiento del gel en cuestión, determinar la concentración de la disolución de carga adecuada para obtener una dosis de fármaco por unidad de polímero determinada, en otras palabras, diseñar dispositivos a medida de las necesidades fisiológicas.

A pesar de la gran capacidad de hinchamiento en agua que presentan nuestros sistemas en estado expandido a 25°C las características particulares del fármaco en disolución dificultan el empleo de agua como disolvente en la disolución de carga del hidrogel. Esto es debido a la presencia de cargas positivas en la estructura del fármaco y a que las disoluciones en agua de Diltiacem presentan un pH ligeramente ácido, lo que afecta en gran medida a la estructura de los geles. Al sumergir un gel en estado expandido en una disolución de Diltiacem en agua, el gel se colapsa, por lo que resulta muy difícil controlar la cantidad de fármaco incorporado. Si se intenta modificar el pH de la disolución de Diltiacem, tiene lugar variaciones en la solubilidad del fármaco que dan lugar a su precipitación en la disolución concentrada requerida para la carga del hidrogel. Por todas estas dificultades se decidió emplear el metanol como disolvente en la disolución de carga del gel, porque presenta la ventaja de que el fármaco es altamente soluble en él y de que los hidrogeles, incluso en estado colapsado, alcanzan un alto grado de hinchamiento en el equilibrio. Puesto que los geles de mayor contenido en MAA, en estado expandido, es decir ionizados, no se hinchan en metanol, fue necesario emplear un procedimiento normalizado en el que todas las muestras se sometieron a pH ácido de forma previa a su carga en la disolución de metanol. Se emplearon geles previamente sintetizados, purificados, colapsados a pH 1.2 y posteriormente secados a temperatura ambiente. Estos se sumergieron en disoluciones de fármaco en metanol de concentración determinada, calculada en función del grado de hinchamiento, con el fin de obtener sistemas con una relación fármaco /polímero del 30-50%. Los geles se dejaron estabilizar en esta disolución durante al menos 24 horas, con el fin de asegurar que se había alcanzado el estado de equilibrio. Posteriormente se eliminó el metanol lentamente controlando la velocidad de evaporación con un sistema de refrigeración.

#### 6.2.2. SISTEMAS EMPLEADOS

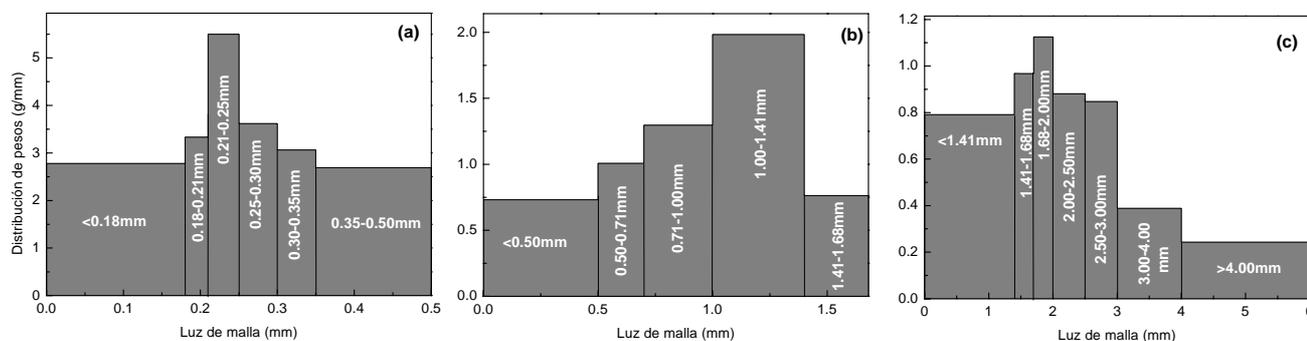
Gran parte de los estudios realizados en hidrogeles como sistemas de liberación controlada de fármacos se suelen llevar a cabo con sistemas de tipo monolítico, es decir geles sintetizados con una forma predeterminada (discos, cilindros o esferas). La matriz polimérica se carga con el fármaco tal y como se ha descrito en el apartado anterior y se ensayan sus propiedades de liberación. Para determinar la eficiencia de los hidrogeles sintetizados para controlar la liberación del Diltiacem en función de la composición, se emplearon sistemas monolíticos debido a su mayor facilidad de preparación y ensayo. Con este objetivo se prepararon sistemas en forma de disco, similares a los empleados en los estudios de hinchamiento, con geles con un 0.25% en peso de entrecruzante que posteriormente se cargaron con el fármaco en una proporción 1:1 polímero/fármaco.

Una vez determinada la composición del polímero más adecuada para ejercer un control en la liberación de Diltiacem, se decidió estudiar la influencia de otros factores. Los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm resultaron ser los más eficaces para el fármaco objeto de estudio. Por ello se decidió emplear el copolímero con un 85 % molar de *N*-iPAAm para ensayos posteriores. El objeto de estos estudios ha sido determinar las condiciones más adecuadas para conseguir una cinética de liberación del fármaco predeterminada. Uno de los factores más importantes es el tamaño de partícula, debido a que

ejerce una gran influencia en la velocidad hinchamiento del gel y, por tanto en la cinética de liberación. A pesar de que, como ya se mencionó, los sistemas monolíticos son los más empleados en los estudios de hidrogeles sensibles a estímulos, las matrices hinchables para administración por vía oral se fabrican habitualmente mediante la compresión de polvos microparticulados.<sup>[40]</sup> Se pueden encontrar en la literatura ejemplos de geles sintetizados en forma de microesferas de diversos tamaños, los denominados microgeles, por su potencial aplicación en la vectorización de fármacos.<sup>[41]</sup> Pero un procedimiento más sencillo para determinar la influencia del tamaño de partícula en las propiedades de liberación consiste en la pulverización de las láminas de gel sintetizadas y la selección del tamaño mediante tamizado.

Se sintetizaron los hidrogeles con un 0.5 % en peso de agente entrecruzante y espaciadores de distintos tamaños (1 y 3mm). De esta forma se obtuvieron láminas de gel de distintos grosores que, una vez purificadas, se cargaron con el fármaco en las condiciones descritas en el apartado anterior con una composición de un 30% en peso fármaco/polímero. Posteriormente las láminas cargadas fueron pulverizadas con un molino IKA® y se llevó a cabo una tamización del polvo así obtenido. El tiempo de pulverización y el espesor de las láminas empleadas, nos permitieron obtener fracciones de distintos tamaños de partícula, como se muestra en la Tabla 3 y en la Fig. 1. Las dos primeras moliendas tuvieron un tiempo más largo (3 y 1 min. respectivamente) y se llevaron a cabo en láminas de gel preparadas con espaciadores de 1mm. La tercera molienda (45 s.) en laminas preparadas con espaciadores de 3mm.

Para obtener una forma farmacéutica a partir de las distintas fracciones de polvo se utilizó un proceso de compresión directa. El objetivo es la obtención, a partir de un polvo, de comprimidos de acuerdo con las especificaciones establecidas. Para ello se empleó una máquina de comprimir rotatoria Bonals® a la que se acopló un juego de punzones cóncavos de 7 mm de diámetro con su correspondiente matriz. El llenado de la matriz tiene lugar por caída libre, el recorrido del punzón inferior se emplea para la dosificación del polvo y el punzón superior ejerce la presión sobre el polvo. En estudios preliminares con la matriz polimérica pulverizada y sin fármaco, se comprobó que los geles escogidos presentaban unas características de compresión excelentes para todos los tamaños de partícula. El peso de los comprimidos se fijó en 100mg, con una cantidad de Diltiacem por comprimido de 30mg.



**Figura 1.** Distribución de pesos en función del tamaño de partícula para los distintos polvos obtenidos: (a) primera molienda, (b) segunda molienda y (c) tercera molienda.

Para evaluar el efecto del tamaño de partícula en el límite se utilizó un disco cortado directamente de la lámina polimérica preparada con separadores de 3mm con una dosis de fármaco ( $\cong$  30 mg), un diámetro (8mm) y un espesor (3mm) similar al de los comprimidos. Los datos obtenidos de los discos y de los comprimidos, es decir mediante los dos métodos utilizados, son equivalentes.

**Tabla 3:** Fracciones obtenidas en el tamizado del polvo de los hidrogeles.

Fracción	Luz de malla (mm)	1ª molienda	2ª molienda	3ª molienda	
1	< 0.18	0.5			
--	0.18-0.21	0.1			
--	0.21-0.25	0.22	0.3659		
--	0.25-0.297	0.17			
--	0.297-0.35	0.1623			1.1149
2	0.35-0.50	0.4036			
3	0.50-0.71	--	0.2115		
4	0.71-1.00	--	0.376		
5	1.00-1.41	--	0.813		
6	1.41-1.68	--	0.2058	0.2612	
7	1.68-2.00	--	--	0.36	
8	2.00-2.50	--	--	0.4406	
9	2.50-3.00	--	--	0.4237	
10	3.00-4.00	--	--	0.388	
11	> 4.00	--	--	0.4848	
Discos	8 mm	--	--	--	

### 6.2.3. ENSAYOS DE VELOCIDAD DE CESIÓN

Uno de las funciones más importantes desde el punto de vista de investigación en Tecnología Farmacéutica es determinar el comportamiento “*in vitro*” de las formas farmacéuticas, lo cual puede permitir predecir su comportamiento “*in vivo*”. Los ensayos de cesión de un principio activo “*in vitro*” son especialmente importantes en el caso de las formas de cesión sostenida, ya que al caracterizar la velocidad de liberación del principio activo se puede racionalizar el comportamiento de la forma farmacéutica. Aunque este tipo de ensayos está perfectamente establecido para la mayoría de las formas de dosificación por vía oral, puede ser necesario desarrollar un ensayo adecuado a las características de liberación de la forma farmacéutica.

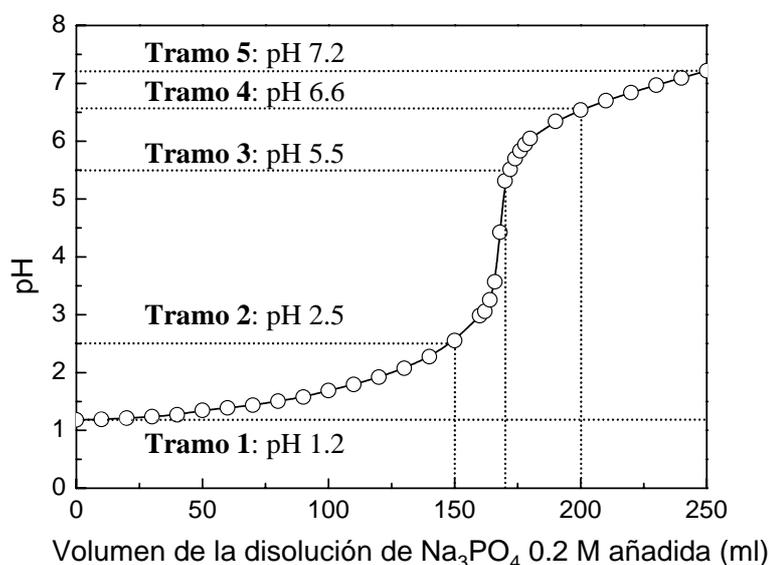
Para seleccionar un modelo de cesión “*in vitro*” es necesario prestar atención a los siguientes parámetros: (i) Temperatura, que debe ser similar a las condiciones fisiológicas (37°C); (ii) agitación que es responsable de poner en contacto el dispositivo de cesión objeto de estudio y el medio, además de

mantener la temperatura y regular la transferencia de material. Debe ser constante durante todo el ensayo; (iii) volumen que depende de la afinidad de la sustancia activa por el medio, tratando de evitar los fenómenos de saturación; (iv) medio, el más sencillo es el agua destilada, pero normalmente se utilizan medios de pH variable con el fin de reproducir las condiciones fisiológicas. En las farmacopeas se encuentra descrito un aparato para llevar a cabo los ensayos de cesión, de características definidas y que cumple con los requisitos de temperatura, volumen y agitación descritos anteriormente.<sup>[42, 43]</sup> Este aparato consiste en un recipiente cilíndrico de fondo semiesférico de vidrio, con una capacidad nominal de 1000 ml. En el interior del recipiente se encuentra un cestillo cilíndrico de acero inoxidable que está en contacto, mediante un vástago, con un motor localizado fuera del vaso con el que se genera la agitación. La temperatura en el interior del recipiente se mantiene a  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  durante todo el ensayo, gracias a un baño de agua termostatazada. El recipiente se encuentra recubierto por una tapa para retardar la evaporación del medio de disolución. Puesto que el pH tiene un efecto muy drástico sobre el hinchamiento de los hidrogeles, fue necesario modificar los ensayos descritos en las farmacopeas. Se llevaron a cabo ensayos en condiciones intermedias entre los ensayos para artículos de liberación extendida (extended release articles) de Diltiacem de la USP XXIV<sup>[43]</sup> y para artículos de liberación retardada (delayed release articles) de la Real Farmacopea Española<sup>[42]</sup> y de la USP XXIV.<sup>[43]</sup> Para ello se empleó el Aparato 1 de velocidad de disolución<sup>[42]</sup> con una agitación de 100 r.p.m. y a una temperatura de  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . El ensayo consta de dos estadíos, uno en medio ácido (HCl 0.1 N) y otro en medio básico a pH 7.2 (Tampón fosfato, 750 ml HCl 0.1 N + 250 ml Fosfato sódico tribásico 0.2 N).

En estas condiciones se llevaron a cabo dos tipos de ensayos: uno de tipo secuencial en el que cada sistema era sometido a un ensayo de velocidad de cesión en cada uno de los medios (ácido y básico) de forma independiente. Con este ensayo se pretendía determinar las características de velocidad de liberación de Diltiacem de los hidrogeles en función del pH del medio. Este fue el tipo de ensayo empleado en los sistemas monolíticos para estudiar el efecto de la composición del gel en las propiedades de liberación. Una vez determinada la composición más apropiada se diseñó otro tipo de ensayo, con el que se intentaron simular las condiciones fisiológicas de pH del tracto gastrointestinal y su efecto en las propiedades de liberación de los sistemas. Se decidió emplear un gradiente, en el que el pH del medio se modificaba secuencialmente de forma discontinua de acuerdo con un programa establecido.<sup>[44]</sup> Para determinar la composición de la disolución necesaria para cada pH establecido se determinó el efecto que la adición gradual de 250 ml de una disolución de fosfato sódico tribásico 0.2 N tenía en el pH de 750 ml de una disolución de ácido clorhídrico 0.1 N, como se muestra en la Fig. 2. Se eligieron cinco tramos para este ensayo:

- 1° pH 1.2 durante 1 h. 750 ml de HCl 0.1N.
- 2° pH 2.5 durante 1 h. Disolución del 1<sup>er</sup> tramo + 150 ml de la disolución de  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  0.2N.
- 3° pH 5.5 durante 2 h. Disolución del 2° tramo + 20 ml de la disolución de  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  0.2N.
- 4° pH 6.6 durante 2 h. Disolución del 3<sup>er</sup> tramo + 30 ml de la disolución de  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  0.2 N.
- 5° pH 7.2 al menos durante 2h. Disolución del 4° tramo+50 ml de la disolución de  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  0.2N.

Tanto en los ensayos secuenciales como en los de gradiente de pH, bien los sistemas monolíticos o los comprimidos eran introducidos en el cestillo que a su vez se disponía en el interior del vaso con el medio de cesión todo termostatzado a  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . Para cuantificar el fármaco cedido a cada tiempo se tomaban alícuotas de 3 ml a intervalos de tiempo determinados sin reposición del medio. Estas se filtraban a través de un filtro millipore de  $45\mu$  para eliminar los posibles restos del gel hecho lo cual se procedía a la valoración del fármaco. La duración de los ensayos en los sistemas monolíticos fue superior a las 24 horas en todos los casos. Los ensayos para los comprimidos fueron en general más cortos (8-16 horas), aumentando la duración del ensayo a medida que se incrementaba el tamaño de partícula.



**Figura 2.** Diseño del ensayo de gradiente de pH. Cambios en el pH de 750ml de una disolución 0.1 N de HCl debido a la adición gradual de 250ml de una disolución 0.2 M de  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Cada punto representa el valor medio obtenido en 3 ensayos.

#### 6.2.4. CUANTIFICACIÓN DEL FÁRMACO

Para determinar la cantidad de principio activo cedido por el sistema en función del tiempo es necesario valorar el Diltiacem contenido en las alícuotas tomadas a los distintos tiempos. Debido a su estructura, el Diltiacem presenta un pico de absorbancia en el ultravioleta, por lo que su concentración se determinó, empleando el procedimiento descrito en la USP XXIV,<sup>[43]</sup> mediante absorción espectrofotométrica en un aparato UV/VIS Beckman DU-7. Para asegurarnos de que, empleando este procedimiento, la cuantificación del fármaco tenía un nivel adecuado de calidad procedimos a realizar una validación del método analítico. Los criterios de validación incluyen distintos parámetros que nos permiten determinar su fiabilidad:

- Linealidad, o capacidad del método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo

determinado. Esto permite determinar la concentración de la muestra problema empleando una regresión lineal desde una recta patrón.

- Intervalo que hay entre la concentración superior e inferior de la sustancia objeto de análisis que hay en la muestra, para las que se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene un nivel aceptable de precisión, exactitud y linealidad.
- Repetibilidad que expresa la precisión en las mismas condiciones de trabajo durante un intervalo corto de tiempo, y precisión intermedia que expresa variaciones observadas en el laboratorio, en días distintos, por distintos analistas, distinto equipo de medida, etc.

### **6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

#### 6.3.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO UV PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL DILTIACEM

La validación del método se realizó en los distintos medios ensayados, es decir ácidos y básicos. De forma previa se determinó la  $\lambda$  de máxima absorbancia para el Diltiacem, que se encontraba a 236 nm en todos los medios ensayados. La validación se llevó a cabo siguiendo las normas ICH.<sup>[45]</sup>

##### 6.3.1.1. RANGO Y LINEALIDAD

En primer lugar se realizó el ensayo de linealidad del método en disoluciones con concentraciones conocidas de Diltiacem, con un posterior tratamiento estadístico de los datos analíticos. Con los datos obtenidos se realizó una representación gráfica de la absorbancia (A) frente a la concentración (C) en función del medio, y se hallaron las rectas de regresión empleadas en las posteriores determinaciones.

Partiendo de distintas disoluciones patrón de Diltiacem en agua destilada de aproximadamente 1 mg/ml se llevaron a cabo diluciones hasta obtener disoluciones de Diltiacem a ocho niveles de concentración diferentes (1-25  $\mu$ g/ml). De cada concentración se hicieron varias determinaciones independientes al azar. Puesto que los ensayos de cesión se llevaron a cabo en medios distintos al agua destilada, resulta conveniente determinar como afecta el medio empleado a la recta patrón de regresión. Para ello se procedió de la misma manera que con el agua destilada, pero con cinco concentraciones en este caso, empleando como disolventes medio ácido (HCl 0.1N) y medio básico (tampón fosfato pH 7.2).

Con los datos analíticos obtenidos, se empleó el programa de análisis estadístico Statgraphics Plus<sup>[46]</sup> para llevar a cabo una comparación de las rectas de regresión. El programa construye automáticamente las variables indicadoras que nos permiten comparar dos o más modelos de regresión simple ( $A = b + m \cdot C$ ), y verificar si es apropiado el empleo de un único modelo para los diferentes grupos. En nuestro caso, cada grupo corresponde a un medio de ensayo. El análisis ajusta cada recta de regresión por separado en los distintos grupos y permite determinar si las ordenadas en el origen (b) o las pendientes (m) son diferentes. Cuando b y m no difieren significativamente entre las distintas rectas de

regresión, se puede forzar al programa a hacerlas iguales para simplificar el modelo. De esta forma se llevó a cabo un primer análisis sin forzar ni pendientes ni ordenadas con los resultados que se muestran a continuación. La ecuación del modelo ajustado es:

$A = 1.4195 \cdot 10^{-2} + 5.0907 \cdot 10^{-2} \cdot C$  en agua destilada, a lo que se le suma  $(-1.5028 \cdot 10^{-2} + 1.3739 \cdot 10^{-4} \cdot C)$ , para el medio HCl 0.1 N o se le suma  $(5.2218 \cdot 10^{-3} + 5.1319 \cdot 10^{-6} \cdot C)$  para el medio Tampón Fosfato. Las ecuaciones reducidas para cada caso serían:

- En agua destilada:  $A = 1.4195 \cdot 10^{-2} + 5.0907 \cdot 10^{-2} \cdot C$
- En HCl 0.1N:  $A = -8.3322 \cdot 10^{-4} - 5.0770 \cdot 10^{-2} \cdot C$
- En Tampón Fosfato:  $A = 8.9732 \cdot 10^{-3} + 5.0902 \cdot 10^{-2} \cdot C$

La Tabla 4 muestra el análisis de la varianza que permite estudiar el significado estadístico de los términos del modelo. Puesto que el valor de  $p$  para las ordenadas es menor de 0.01 existen diferencias significativas entre las ordenadas de los distintos grupos con un nivel de confianza del 99%.

**Tabla 4:** ANOVA para las variables: Suma de cuadrados condicionada

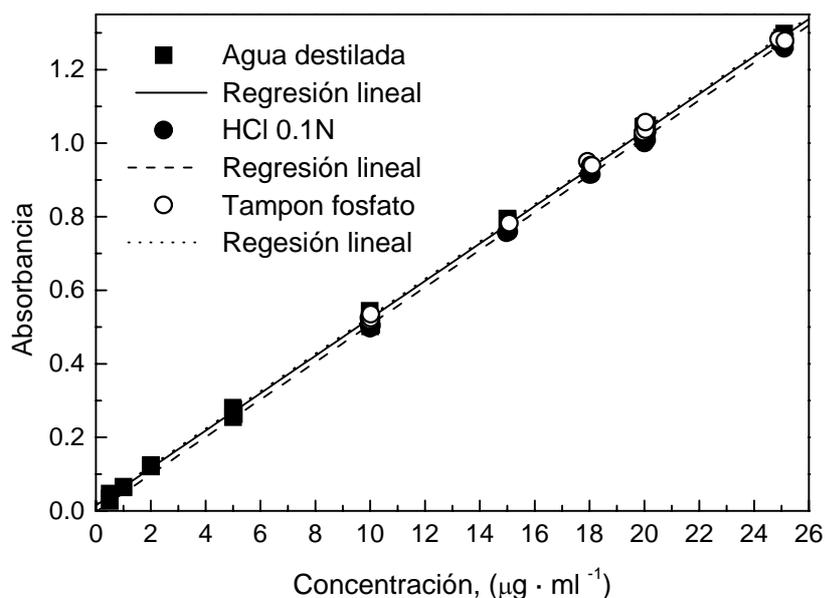
Fuente	Suma de Cuadrados	G.I.	Media Cuadrática	F-Ratio	Valor de p
Absorbancia	10.8312	1	10.8312	97240.48	0.0000
Ordenadas	$7.0897 \cdot 10^{-3}$	2	$3.54487 \cdot 10^{-3}$	31.83	0.0000
Pendientes	$1.2719 \cdot 10^{-5}$	2	$6.35969 \cdot 10^{-6}$	0.06	0.9445
Modelo	10.8383	5			

Por el contrario, en el caso de las pendientes, el valor de  $p$  es mayor que 0.1, lo que indica que no existen diferencias significativas en su valor para los distintos grupos, por lo que decidimos forzar el método para obtener un modelo con pendientes iguales. Los resultados obtenidos en la comparación de las rectas de regresión en este caso se presentan en la Tabla 5. Estos resultados muestran el ajuste a un modelo de regresión lineal para describir la relación entre Absorbancia y Concentración en los tres niveles estudiados. La ecuación para el modelo ajustado es:

$A = 1.45666 \cdot 10^{-2} + 5.0877 \cdot 10^{-2} \cdot C$  en agua destilada, a lo que se le resta  $1.7181 \cdot 10^{-2}$  para el medio HCl 0.1N o se le suma  $0.5429 \cdot 10^{-2}$  para el medio tampón fosfato. Como se muestra en la Fig. 2, estas tres ecuaciones corresponden a tres líneas paralelas.

El análisis de la varianza mostrado en la Tabla 5 nos permite determinar la bondad del ajuste. Puesto que el valor de  $p$  es menor que 0.01 hay una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 99 %. El valor del coeficiente de determinación  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica el 99.92 % de la variabilidad en la Absorbancia. Todos estos resultados nos permiten asegurar que el método presenta una linealidad adecuada. El modelo propuesto se empleará como recta de regresión para interpolar los resultados obtenidos en los ensayos de velocidad de cesión. El error medio absoluto ( $8.2452 \cdot 10^{-3}$ ) es el valor medio de los residuales. El error estándar de los estimados

nos indica que la desviación estándar de los residuales es de  $1.0427 \cdot 10^{-2}$ , que se empleará para determinar los límites de predicción para las nuevas observaciones. El intervalo de calibración se estableció a partir del rango de concentraciones experimentales necesario en la práctica y se derivó de estos estudios de linealidad de 1 a 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .



**Figura 3.** Comparación del ajuste a un modelo lineal para los datos analíticos obtenidos en los tres medios estudiados (agua destilada, HCl 0.1 N y Tampón Fosfato pH 7.2).

**Tabla 5:** Resultados del análisis de regresión múltiple, forzando pendientes iguales.

Parámetro	Estimado $\cdot 10^2$	Error Estándar $\cdot 10^3$	t Estadística	Valor de p
Constante	1.4567	2.7203	5.3547	0.0000
Absorbancia	5.0877	0.1674	303.899	0.0000
HCl 0.1N	-1.7181	2.6222	- 6.5521	0.0000
Tampón fosfato	0.5429	3.2776	1.6565	0.1016

#### ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	G.l.	Media Cuadrática	F-Ratio	Valor de p
Modelo	10.8383	3	3.6128	33227.89	0.0000
Residuales	$8.5894 \cdot 10^{-3}$	79	$1.0873 \cdot 10^{-4}$		
Total (Corr.)	10.8469	82			

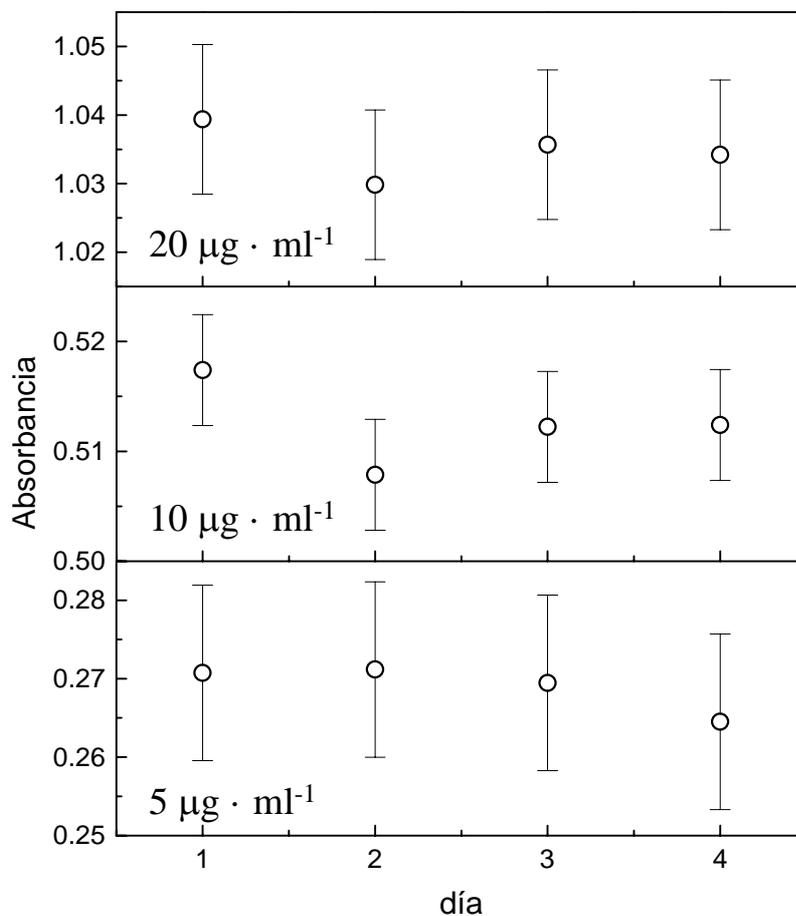
### 6.3.1.2. PRECISIÓN

Para determinar la precisión del método se efectuaron ensayos de repetibilidad y precisión intermedia. Según las ICH <sup>[45]</sup> para asegurar la repetibilidad es necesario realizar un mínimo de nueve determinaciones que cubran el intervalo especificado para el procedimiento. Las disoluciones estándares de Diltiacem se prepararon partiendo de disoluciones madre de concentración aproximada 1 mg/mL, de las que se realizaron diluciones a tres niveles de concentración diferentes (5, 10 y 20 µg/ ml). Se determinaron tres réplicas independientes para cada uno de los niveles de concentración. Para evaluar la repetibilidad se llevó a cabo un estudio de la varianza de los distintos niveles, obteniéndose los siguientes resultados: en el test de la C de Cochran, un valor de 0.6090 con un valor de  $p$  asociado de 0.4586 y el test de Bartlett un valor de 1.6292 con una  $p$  de 0.3018. En ambos casos, la hipótesis nula es que las desviaciones estándar de los valores de absorbancia obtenidos para cada uno de los niveles de concentración es la misma. Puesto que el menor de los valores de probabilidad es mayor que 0.05, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar con un nivel de confianza del 95.0 %, por lo que la repetibilidad del método es adecuada.

Para el estudio de la precisión intermedia, se realizaron a lo largo de 4 días medidas independientes de cada uno de los niveles de concentración. Para analizar los resultados obtenidos se llevó a cabo un análisis de la varianza de una vía para cada uno de los tres niveles de concentración estudiados:

- Variable dependiente: Absorbancia
- Factor: Día del ensayo, cuatro niveles diferentes.
- Número de observaciones: 12

Este análisis compara los valores medios de absorbancia obtenidos para los 4 niveles estudiados (día de ensayo), para comprobar si existen diferencias significativas en los valores medios y se llevó a cabo de manera independiente para cada valor de concentración. En las Tablas 6-8 se muestran, para cada nivel de concentración, los datos de los valores medios, junto con su desviación y valores máximo y mínimo obtenidos para cada día. La tabla de ANOVA descompone la varianza en los valores de absorbancia en dos componentes, uno entre los grupos y otro dentro del propio grupo. El valor de la relación de F es la relación entre los estimados entre grupo y dentro del grupo. Puesto que el valor de  $p$  del test de F es mayor de 0.05 en todos los casos, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de absorbancia de cada uno de los días con un nivel de confianza del 95%. Para construir los intervalos de error de los valores empleados en la Fig. 3 se ha empleado el procedimiento de la diferencia significativa más baja (Least Significant Difference LSD) de Fisher. Se construyen de tal modo que si dos medias son iguales sus intervalos se solaparán el 95% del tiempo. Para cada uno de los niveles de concentración, los estudios de varianza determinaron que no existía una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar de los distintos días con un nivel de confianza del 95 %.



**Figura 4.** Resultados obtenidos en el ensayo de precisión intermedia. Para cada concentración se representa la media de los datos obtenidos en cada día con sus intervalos respectivos.

**Tabla 6:** Análisis estadístico de las muestras de 5 µg·ml<sup>-1</sup>.

Día	Muestras	Media	$\sigma^2 \cdot 10^4$	$\sigma \cdot 10^2$	Mínimo	Máximo
1	3	0.2707	1.4149	1.1895	0.2598	0.2834
2	3	0.2712	2.0161	1.4199	0.2561	0.2843
3	3	0.2695	1.0076	1.0038	0.2621	0.2809
4	3	0.2645	1.2028	1.0967	0.2543	0.2761
Total	12	0.2690	1.1025	1.0500	0.2543	0.2843

**ANOVA**

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Media Cuadrática	F-Ratio	Valor de p
Entre grupos	$8.4487 \cdot 10^5$	3	$2.8162 \cdot 10^5$	0.20	0.8937
Dentro del grupo	$1.1283 \cdot 10^3$	8	$1.4104 \cdot 10^4$		
Total (Corr.)	$1.2128 \cdot 10^3$	11			

**Tabla 7:** Análisis estadístico de las muestras de  $10\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Día	Muestras	Media	$\sigma^2 \cdot 10^5$	$\sigma \cdot 10^3$	Mínimo	Máximo
1	3	0.5174	0.9310	3.0512	0.5139	0.5195
2	3	0.5079	1.0103	3.1786	0.5056	0.5115
3	3	0.5122	3.2803	5.7274	0.5078	0.5187
4	3	0.5124	6.2890	7.9303	0.5041	0.5199
Total	12	0.5125	3.3353	5.7752	0.5041	0.5199

#### ANOVA

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Media Cuadrática	F-Ratio	Valor de p
Entre grupos	$1.3667 \cdot 10^{-4}$	3	$4.5556 \cdot 10^{-5}$	1.58	0.2679
Dentro del grupo	$2.3021 \cdot 10^{-4}$	8	$2.8777 \cdot 10^{-5}$		
Total (Corr.)	$3.6688 \cdot 10^{-4}$	11			

**Tabla 8:** Análisis estadístico de las muestras de  $20\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

Día	Muestras	Media	$\sigma^2 \cdot 10^4$	$\sigma \cdot 10^2$	Mínimo	Máximo
1	3	1.0394	0.8152	0.9029	1.0294	1.0470
2	3	1.0298	2.4632	1.5695	1.0135	1.0448
3	3	1.0357	1.6933	1.3013	1.0230	1.0490
4	3	1.0342	0.3897	0.6243	1.0270	1.0381
Total	12	1.0348	1.1020	1.0498	1.0135	1.0490

#### ANOVA

Fuente	Suma de cuadrados	G.l.	Media Cuadrática	F-Ratio	Valor de p
Entre grupos	$1.3989 \cdot 10^{-4}$	3	$4.6629 \cdot 10^{-5}$	0.35	0.7919
Dentro del grupo	$1.0723 \cdot 10^{-3}$	8	$1.3404 \cdot 10^{-4}$		
Total (Corr.)	$1.2122 \cdot 10^{-3}$	11			

Con los todos los resultados obtenidos para los distintos niveles de concentración y distintos días de ensayo se llevó a cabo un análisis de la varianza de la absorbancia en función de los diferentes días de ensayo. Se obtuvieron unos valores de probabilidad en los tests de la C de Cochran y de Bartlett superiores a 0.05, por lo que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar con un nivel de confianza del 95 %. Todos estos resultados demuestran que el método elegido presenta un nivel adecuado de precisión intermedia para llevar a cabo la determinación de la concentración mediante el método analítico escogido.

### 6.3.2. ESTUDIO “*IN VITRO*” DE LIBERACIÓN DE DILTIACEM

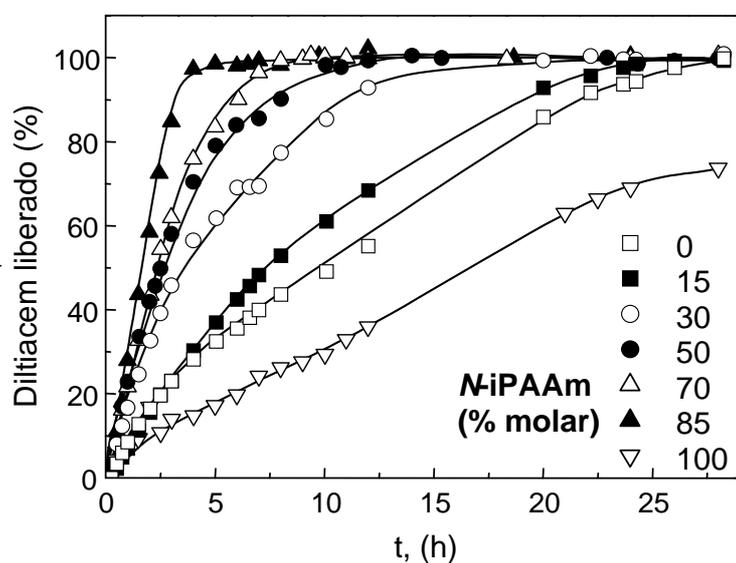
#### 6.3.2.1. SISTEMAS MONOLÍTICOS: EFECTO DE LA COMPOSICIÓN DEL HIDROGEL

Para estudiar el efecto de la composición del polímero en la liberación del fármaco, se emplearon sistemas monolíticos en forma de disco. En este tipo de sistemas, el fármaco se encuentra en un principio

homogéneamente disperso en una matriz polimérica en estado vítreo. Cuando el sistema se pone en contacto con un medio acuoso, la matriz polimérica comienza a hincharse y se pueden apreciar dos fases en el polímero, la fase interna en estado vítreo y la fase hinchada gomosa. Es en esta última en las que las moléculas del fármaco son capaces de difundir, y por tanto de liberarse al medio. El principal mecanismo por el que tiene lugar la liberación de un fármaco desde un hidrogel es la difusión que tiene lugar a través del espacio existente entre las cadenas macromoleculares.<sup>[9]</sup> El empleo de hidrogeles sensibles a estímulos se basa en la suposición de que en estado colapsado, las moléculas de fármaco no pueden ser liberadas al medio, debido a que están atrapadas y sólo podrían salir mediante difusión a través del polímero en estado vítreo, que es un proceso muy lento. Por el contrario, cuando la red polimérica se expande pasa a un estado gomoso y tiene lugar la liberación del fármaco que difunde en el sistema formado por el disolvente y el polímero. Esta aproximación se ha empleado con éxito en el caso de moléculas farmacológicamente activas de elevado peso molecular, como es el caso de péptidos y proteínas.<sup>[7, 8, 23, 25, 33-35]</sup> Pero en el caso de fármacos de bajo peso molecular, como el empleado en nuestro trabajo, la suposición descrita anteriormente no se aplica fácilmente, ya que, como se describirá a continuación, hay una gran cantidad de factores que pueden afectar a la liberación, y que deben ser tenidos en cuenta. Además de la relación entre el hinchamiento o el grado de entrecruzamiento del hidrogel y la cesión del fármaco, que son el principal objeto de estudio, hay que tener en cuenta otra serie de contribuciones como el balance hidrofílico/hidrofóbico de la matriz empleada, la flexibilidad del hidrogel o la presencia de iones en el medio.<sup>[16, 47]</sup>

En la Fig. 4 se muestran los perfiles acumulados de liberación del Diltiacem en medio tampón fosfato de pH 7.2 a 37°C, en función de la composición de la matriz polimérica empleada. Tanto el P(MAA) como los copolímeros se encuentran expandidos en estas condiciones y se puede apreciar claramente como la velocidad de liberación del fármaco depende en gran medida de la composición de la matriz. El copolímero de mayor contenido en *N*-iPAAm es el que presenta una mayor velocidad de cesión, y esta va disminuyendo a medida que aumenta el contenido de MAA en la muestra, excepto en el caso del homopolímero de *N*-iPAAm donde la velocidad de cesión es la más lenta debido al estado colapsado de este polímero a esta temperatura. Puesto que se ha supuesto que en este tipo de sistemas es el hinchamiento el que controla la liberación del fármaco estos resultados contrastan con los obtenidos en la cinética de hinchamiento de las muestras colapsadas que se presentaron en la sección anterior. Hay que tener en cuenta que se parte de muestras que han sufrido un tratamiento previo a pH ácido, como se describió en la metodología experimental. En este caso, las muestras que más se aproximaban a una composición equimolecular eran las que mostraban una cinética de hinchamiento más lenta, debido a la existencia de complejos por puentes de hidrógeno entre ambos monómeros. En los resultados presentados en la Fig. 5 se comprueba como, la rápida cesión de las muestras de mayor contenido en *N*-iPAAm coincide con el hecho de que su hinchamiento también sea el más rápido. Igual que en el caso de las cinéticas de hinchamiento la velocidad de cesión va disminuyendo a medida que aumenta la cantidad de complejos, es decir, a medida que nos aproximamos a la composición equimolecular. Pero al contrario de

lo esperado, la velocidad de cesión continua disminuyendo a partir de la composición equimolecular al aumentar el contenido en MAA, a pesar de la disminución en el número de complejos entre ambos monómeros, siendo la más lenta la del homopolímero de MAA. Existen dos posibles explicaciones a esta contradicción.

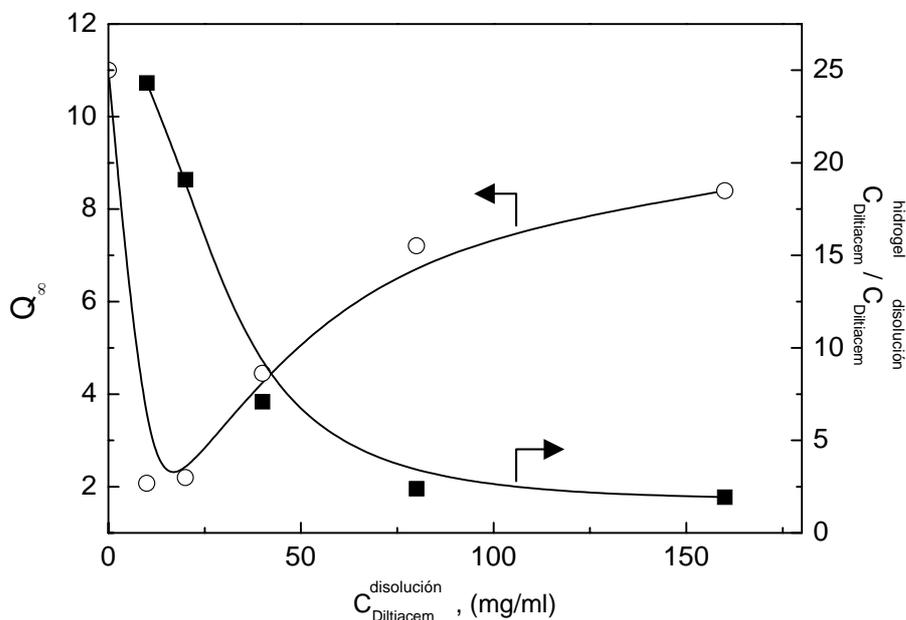


**Figura 5.** Curvas acumuladas de cesión de Diltiacem en función del tiempo desde matrices de P(MAA), P(N-iPAAm) y sus copolímeros. Ensayos realizados en medio tampón fosfato (pH 7.2) a 37°C.

Para interpretar correctamente los resultados obtenidos en este ensayo de liberación hay que tener en cuenta que el clorhidrato de Diltiacem presenta una carga positiva en su estructura. En primer lugar, esta carga y la gran hidrofilia de la molécula localizada en el interior de la matriz polimérica pueden afectar en gran medida a la cinética de hinchamiento del gel por efectos osmóticos.<sup>[16]</sup> Por otra parte, la ionización de los grupos carboxílicos laterales de la macromolécula a pH básico genera puntos de interacción electrostática con la molécula de fármaco cargada con signo opuesto, que deben afectar en gran medida a la cinética de cesión del fármaco.<sup>[47, 48]</sup> Este argumento se ve corroborado por los resultados obtenidos en los ensayos preliminares llevados a cabo para optimizar el método de carga del fármaco en el gel.

La carga de la matriz polimérica se realiza dejándola equilibrarse en una disolución de fármaco de concentración predeterminada. Como primera opción se consideró emplear los geles completamente expandidos (tratados previamente en medio básico de forma que todos los grupos carboxilo estuvieran ionizados) en una disolución de clorhidrato de Diltiacem en agua destilada. Este método no resultaba muy adecuado debido a que los sistemas obtenidos presentaban unas cargas de fármaco erráticas y poco predecibles. Esto es debido, por una parte al pH ácido que presentan las disoluciones de clorhidrato de Diltiacem, y por otra al gran efecto que la concentración de la disolución de carga tenía sobre la concentración final del sistema, que hacían que no se cumplieran las suposiciones hechas en el método de carga. En la Fig. 6 se representa la variación en el grado de hinchamiento del gel ( $Q_{\infty}$ ) en función de la

concentración de la disolución de carga para una muestra del homopolímero de P(MAA). Como se aprecia en la Fig. 6 el valor de  $Q_{\infty}$ , que en agua destilada es de aproximadamente 11, disminuye de forma muy drástica al agregar el clorhidrato de Diltiacem.



**Figura 6.** Efecto de la concentración de la disolución de carga (Diltiacem en agua destilada) en matrices de P(MAA): Derecha: En el grado de hinchamiento del gel. Izquierda: Relación entre la concentración de Diltiacem en el interior del hidrogel y la concentración de la disolución de carga en el exterior.

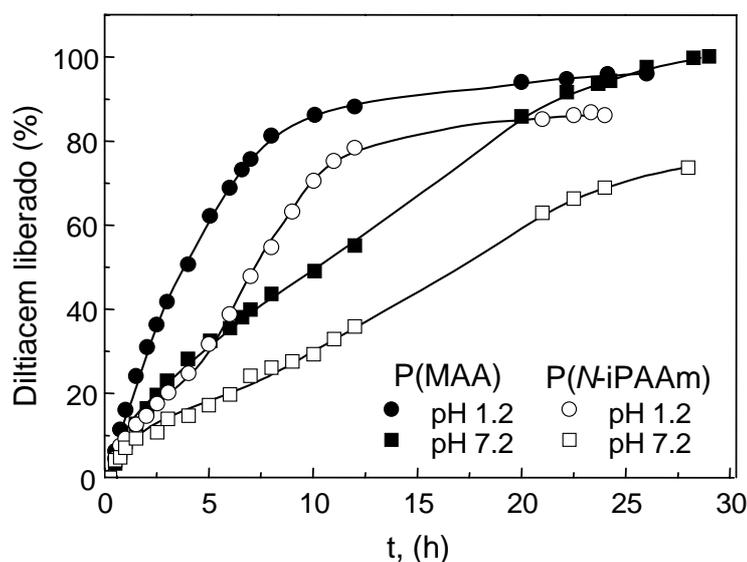
Al ir aumentando la concentración de fármaco, el gel parece recuperar su capacidad de hinchamiento, pero sin alcanzar el valor de  $Q_{\infty}$  en agua destilada. En la Fig. 6 también se representa la relación entre la concentración de la disolución de Diltiacem en el interior del gel y la concentración de Diltiacem en la disolución de carga. Si suponemos que la concentración en el interior de gel equilibrado es similar a la concentración en la disolución de carga, el valor de esta relación debería ser constante e igual a 1.<sup>[7]</sup> Por el contrario en la Fig. 6 se observa como para pequeñas cantidades de fármaco el valor de esta relación es muy alto, lo que indica una concentración mucho mayor en el interior del gel que en la disolución de carga. Este valor va disminuyendo progresivamente al aumentar la concentración de la disolución de carga exterior, hasta que parece alcanzar cierto equilibrio a las mayores concentraciones estudiadas.

La única explicación posible para estos resultados es la existencia de afinidad entre la matriz polimérica y el fármaco. Esta puede ser debida a que la existencia de interacciones electrostáticas entre la matriz polimérica, cargada negativamente, y el fármaco, cargado positivamente, favorece la incorporación de fármaco en la matriz. Estas interacciones, que afectan tanto al grado de hinchamiento como a la liberación del fármaco, presentan una gran importancia<sup>[49, 50]</sup> y puesto que regulan la velocidad y al mecanismo de transporte podrían ser empleadas para modular la cesión del fármaco.<sup>[51]</sup> Este punto de vista es el empleado por Alvarez-Lorenzo et al.<sup>[47]</sup> para controlar la liberación de sustancias de bajo peso

molecular desde geles copolímero de *N*-iPAAm y *N*-Aminopropilmetacrilamida (*N*-APMAm). Estos autores <sup>[47]</sup> emplean en hecho de que la (*N*-APMAm) presenta un grupo amino en su estructura que se protona en medio ácido incorporando una carga positiva, para controlar la liberación de fármacos cargados negativamente.

Como se detallaba en las condiciones experimentales, en el caso del empleo del metanol en las disoluciones de carga para muestras tratadas a pH ácido, no tiene lugar esta dependencia del valor de *Q* con la concentración de Diltiacem en el medio. Por otro lado, la cantidad de Diltiacem incorporado puede estimarse fácilmente conociendo este grado de hinchamiento ya que la concentración en el interior del gel es prácticamente igual a la del medio externo. Esto da lugar a una muy buena repetibilidad en todos los casos por lo que fue el método escogido para la preparación de las muestras empleadas en nuestros estudios.

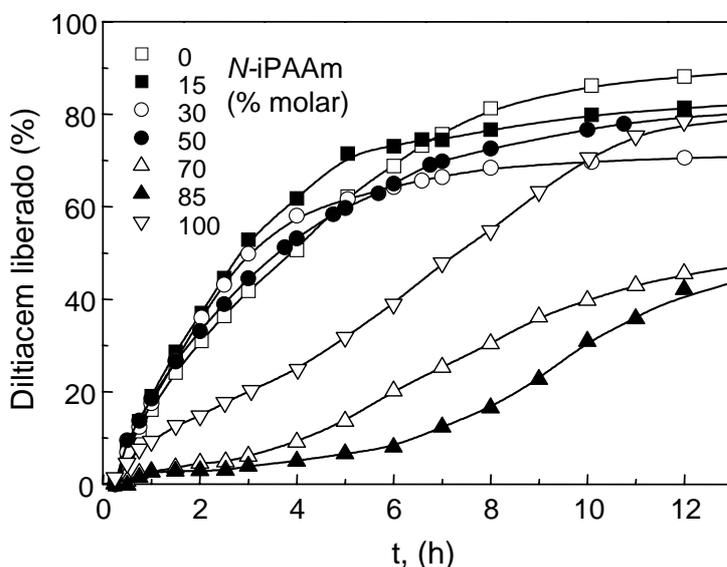
Al analizar los resultados obtenidos para la liberación del fármaco en medio ácido se aprecia la influencia que otros factores presentan en el control de la liberación. En la Fig. 7 se comparan los perfiles de liberación del fármaco desde los homopolímeros de MAA y *N*-iPAAm en función del medio empleado en el ensayo. El aspecto más significativo de esta Fig. 7 es que, en el P(MAA) a pesar de encontrarse en estado colapsado, la liberación del fármaco es más rápida en medio ácido que en medio básico, y en ambos casos la cesión alcanza casi el 100%. La posible explicación de este comportamiento incluye, las interacciones electrostáticas que tienen lugar cuando el gel se encuentra a pH básico como se mencionó anteriormente y la naturaleza más hidrofílica del P(MAA) con respecto a la P(*N*-iPAAm). Como se describió en el capítulo anterior, el grado de hinchamiento en estado colapsado del homopolímero de MAA es mayor que el de los copolímeros en todo el rango de composiciones a pH ácido y a 37°C. Por otra parte, debido a la gran solubilidad del clorhidrato de Diltiacem en agua, la pequeña cantidad de agua que es capaz de penetrar en el sistema puede ser suficiente para que se produzca su cesión.



**Figura 7.** Efecto del pH del medio en las curvas acumuladas de cesión de Diltiacem desde matrices de P(MAA) y P(*N*-iPAAm). Ensayos realizados en HCl 0.1N (pH 1.2) y tampón fosfato (pH 7.2), a 37°C.

Estudiando las curvas de liberación del Diltiacem desde la P(*N*-iPAAm) se puede apreciar claramente la influencia de otro factor en la liberación. A 37°C la *N*-iPAAm se encuentra en estado colapsado, y, probablemente debido a la naturaleza hidrofóbica del colapso, la cesión del fármaco es muy lenta, y parte del fármaco queda retenido en la matriz al finalizar el ensayo.<sup>[48, 52]</sup> En la Fig. 7 se observa como la cesión es más rápida en medio ácido que en medio básico, igual que sucedía en el caso del P(MAA). Puesto que el hinchamiento de la P(*N*-iPAAm) es independiente del pH del medio, este efecto no puede ser debido a la matriz polimérica. Por ello es necesario considerar factores independientes de la naturaleza del polímero, como es la solubilidad del fármaco.<sup>[1]</sup> El Diltiacem es más soluble en medio ácido que en medio básico, por lo que las diferencias encontradas en los perfiles de cesión en los dos medios también pueden ser debidas a este factor.

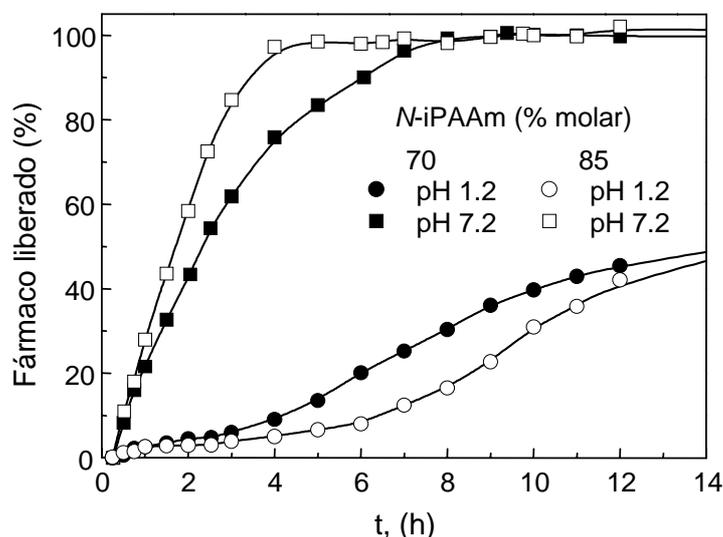
En la Fig. 8 se muestran las curvas de cesión de los copolímeros en medio ácido. Se puede apreciar como se va incrementando la capacidad de los copolímeros de retener el fármaco a pH ácido al aumentar el contenido *N*-iPAAm de la muestra. Esto es probablemente debido a la naturaleza más hidrofóbica del colapso en los copolímeros, que se discutió anteriormente. Como se aprecia en la Fig. 8, el efecto es muy pronunciado en los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm. En los copolímeros con un 85% y un 70% de *N*-iPAAm la cesión es muy lenta en medio ácido.



**Figura 8.** Curvas acumuladas de cesión de Diltiacem en función del tiempo desde matrices de P(MAA), P(*N*-iPAAm) y sus copolímeros. Ensayos realizados en medio HCl (pH 1.2) a 37°C.

Durante el ensayo se comprobó que todas las muestras continúan colapsadas al finalizar el ensayo. La baja cesión del fármaco para los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm puede explicarse por un efecto sinérgico entre el colapso térmico y el pH-dependiente, que no tiene lugar en las demás muestras. En los capítulos anteriores se describió como en estos copolímeros, igual que sucede en todo el rango de composiciones, el hinchamiento presenta una gran dependencia con el pH del medio.

Pero además, en estas muestras tiene lugar un colapso térmico con una temperatura inferior crítica de hinchamiento (LCST) similar a la de la *N*-iPAAm, pero con la diferencia de que sólo tiene lugar en medio ácido. Esto es consecuencia del delicado balance hidrofóbico/hidrofílico que se desplaza en medio ácido a causa de la formación de los complejos por puentes de hidrógeno. Al aumentar el pH del medio tiene lugar la ionización de los grupos carboxílicos, que debido a su gran hidrofilia hacen que se necesite un aumento en la temperatura para que tenga lugar el colapso térmico macroscópico.<sup>[53]</sup> Esto da lugar a que a pH básico estos geles se encuentren expandidos a 37° y tenga lugar la liberación del fármaco. El hecho de que la capacidad de los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm para retener el fármaco en medio ácido sea incluso mejor que la del homopolímero podría ser debido a una mayor incompatibilidad del fármaco con la matriz polimérica de la *N*-iPAAm debido a su diferente balance hidrofóbico/hidrofílico. Todos los efectos descritos se aprecian claramente en la Fig. 9 en la que se representan las curvas de cesión del fármaco desde los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm en función del pH del medio a 37°C. Mientras que a pH ácido ambos hidrogeles se encuentran en estado colapsado y retienen una gran cantidad de fármaco incluso a tiempos muy largos de ensayo, a pH básico tiene lugar la ionización de los grupos carboxílicos. Esto tiene como consecuencia la rotura de los puentes de hidrógeno entre ambos monómeros, así como el desplazamiento del balance hidrofóbico/ hidrofílico del gel que hace que desaparezcan las interacciones hidrofóbicas que dan lugar al colapso térmico. Todo ello provoca un rápido hinchamiento del gel con la consecuente liberación del fármaco en estas condiciones.



**Figura 9.** Efecto del pH del medio empleado en el ensayo de cesión en los perfiles de liberación de los copolímeros con un contenido molar en *N*-iPAAm del 70 y del 85% respectivamente. Los ensayos se llevaron a cabo en HCl 0.1N (pH 1.2) y tampón fosfato (pH 7.2), y a 37°C en todos los casos.

Los resultados obtenidos en estos ensayos demuestran la gran cantidad de parámetros que pueden afectar a la liberación de sustancias de bajo peso molecular desde matrices poliméricas. Puesto que los geles de mayor contenido en *N*-iPAAm son los que ofrecen más posibilidades a la hora de ejercer un

control en la liberación del Diltiacem, desde este momento nos centraremos en estos sistemas para continuar con la investigación.

#### 6.3.2.2. COMPRIMIDOS: EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA

Por todo lo expuesto anteriormente, para estos ensayos se seleccionaron los hidrogeles copolímeros P(*N*-iPAAm-*co*-MAA) con un 85 y un 70% molar de *N*-iPAAm en los que se observa la transición térmica en función del pH. Las láminas obtenidas a partir de estas matrices se pulverizaron tal y como se describió en la metodología experimental, y se obtuvieron distintas fracciones de polvo. Para seleccionar una de las dos matrices poliméricas se llevaron a cabo ensayos preliminares de compresión y velocidad de disgregación de los comprimidos, de forma previa a la carga. Desde el punto de vista de la compresión, ambos polímeros presentan unas propiedades excelentes, pudiéndose obtener comprimidos de características adecuadas para todas las fracciones de polvo ensayadas. Como se describió en las condiciones experimentales se obtuvieron comprimidos cóncavos de 100 mg de peso y 7 mm de diámetro. Mediante un simple examen visual se observa que, en ambos casos todos los comprimidos obtenidos presentan un aspecto agradable y son de color blanco con una superficie lisa y brillante. Los ensayos de resistencia a la fractura de los comprimidos determinaron unos valores de 60-100N en ambos casos. Por el contrario, los ensayos de disgregación si mostraron diferencias entre ambas matrices poliméricas. Estos se llevaron a cabo en las mismas condiciones empleadas en los ensayos de velocidad de cesión a una temperatura de 37°C y en el medio de gradiente de pH. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 9.

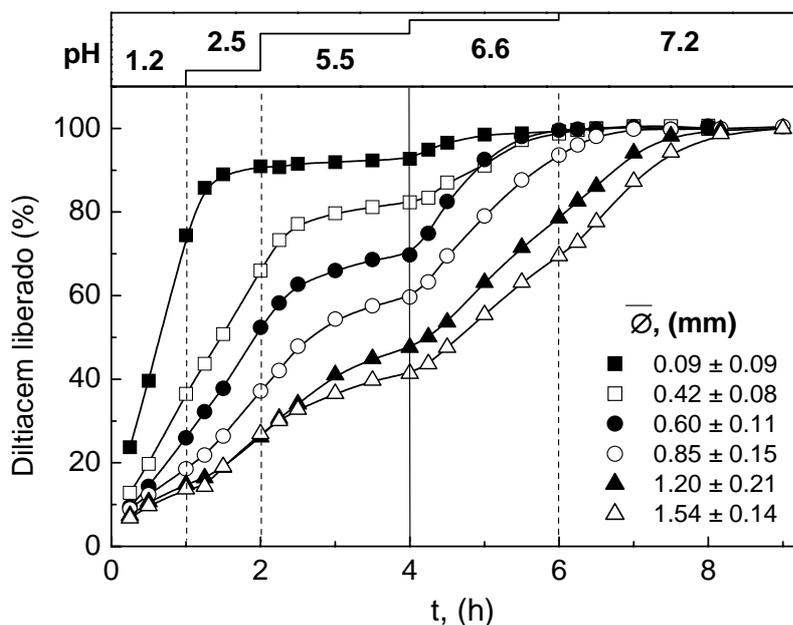
En las descripciones expuestas en la Tabla 9 se aprecia como en el intervalo de pH ácido (1.2 - 5.5), las muestras presentan un colapso termodependiente que se detecta a simple vista por la opacidad de las partículas. Al aumentar el pH a 6.6 las partículas de gel se hinchan, tiene lugar la expansión de las cadenas poliméricas y se vuelven transparentes. Esto es debido a la ionización de los grupos carboxílicos que desplaza el balance hidrofílico/hidrofóbico del que depende la LCST. En este ensayo también se apreció, como era de esperar, la gran influencia del tamaño de partícula en el hinchamiento. Las fracciones de menor tamaño de partícula tienen una elevada superficie específica, lo que incrementa en gran medida la velocidad de hinchamiento, que tiene lugar de forma prácticamente inmediata al pasar a pH básico. Al aumentar el tamaño de partícula disminuye la velocidad de hinchamiento y se va apreciando en las partículas del gel la presencia de un frente de hinchamiento transparente y un corazón colapsado, de color blanco. En los copolímeros con un 85% molar de *N*-iPAAm tiene lugar otro efecto muy interesante: la agregación de las partículas de gel colapsadas, que da lugar a que los comprimidos no se disgreguen a pH ligeramente ácido. Este efecto ha sido descrito anteriormente para microgeles de *N*-iPAAm-*co*-AA,<sup>[54]</sup> y se ha atribuido a interacciones hidrofóbicas entre las partículas. Esto hace que la disgregación del comprimido no tenga lugar hasta alcanzar pHs elevados, y por tanto la expansión de la estructura del gel. Como se describe en la Tabla 9 la disgregación es más lenta a medida que disminuye el tamaño de partícula del gel. Sin embargo, en los geles con un 70% molar de *N*-iPAAm no tiene lugar este

efecto. Estas diferencias encontradas en el comportamiento de disgregación, además de las propiedades de cesión ligeramente mejores, como describíamos en el apartado anterior, nos llevaron a decidimos por el copolímero con un 85% de *N*-iPAAm para efectuar los ensayos de velocidad de disolución en comprimidos cargados con el fármaco.

**Tabla 9:** Resultados obtenidos en el ensayo de velocidad de disgregación de los comprimidos obtenidos a partir de las matrices poliméricas sin fármaco.

<b>Etap</b>	<b>P(N-iPAAm-co-MAA) 70/30</b>	<b>P(N-iPAAm-co-MAA) 85/15</b>
pH 1.2	Comienza inmediatamente la disgregación. Completamente disgregados a los pocos minutos. Partículas del gel dispersas con aspecto blanco, colapsado.	La muestra no se disgrega. Cambios en la forma, con un ligero aumento del tamaño. Aspecto blanco, colapsado.
pH 2.5	No se aprecian cambios significativos.	No se aprecian cambios significativos.
pH 5.5	No se aprecian cambios significativos.	No se aprecian cambios significativos.
pH 6.6	Fracciones de menor tamaño, hinchamiento (transparentes) prácticamente inmediato. Fracciones de mayor tamaño, se aprecia un frente de hinchamiento transparente y un corazón blanco, colapsado en las partículas.	Hinchamiento y disgregación de los comprimidos. Disgregación más lenta a medida que disminuye el tamaño de partícula. Fracciones de menor tamaño, hinchamiento (transparentes) inmediato una vez que se separan del comprimido. Fracciones de mayor tamaño, frente de hinchamiento en las partículas disgregadas
pH 7.2	Continúan las observaciones descritas en el apartado anterior. La desaparición del corazón colapsado, blanco, depende del tamaño de partícula y es más lenta en las fracciones de mayor tamaño.	Continúan las observaciones descritas en el apartado anterior. Completa disgregación de todos los comprimidos. La desaparición del corazón colapsado, blanco, depende del tamaño de partícula y es más lenta en las fracciones de mayor tamaño.

En las Figs. 10 y 11 (b) se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de velocidad de disolución de los comprimidos obtenidos con las fracciones de polvo del copolímero P(*N*-iPAAm-co-MAA) con un contenido de 85% molar de *N*-iPAAm, cargado con el fármaco. La Fig. 10 corresponde a los copolímeros obtenidos a partir de la serie de fracciones de menor tamaño de partícula obtenidas en las dos primeras moliendas (Fracciones 1-6) y la Fig. 11 (b) corresponde a de la serie de fracciones de mayor tamaño de partícula obtenidas en la tercera molienda (Fracciones 6-11) y al disco. En ambas Figs. 10 y 11 (b) se incluye la fracción 6 a efectos comparativos.

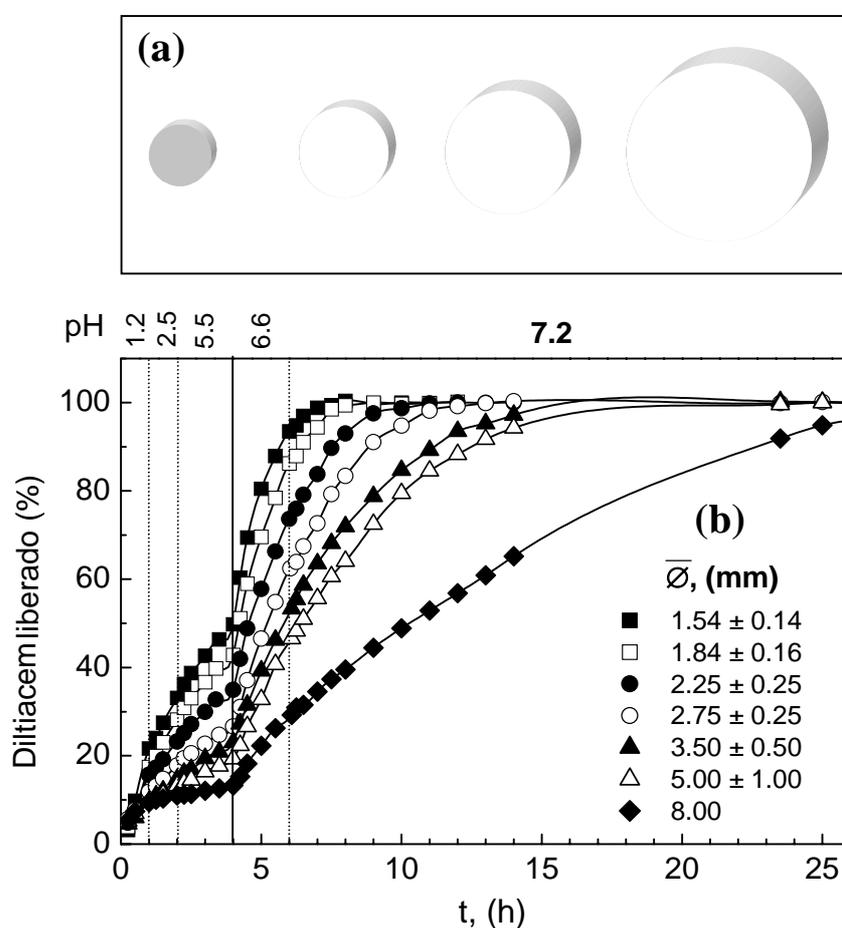


**Figura 10.** Curvas acumuladas de cesión de Diltiacem de comprimidos obtenidos a partir de las fracciones de polvo de menor tamaño de partícula del copolímero  $P(N\text{-iPAAm-co-MAA})$  85/15. El ensayo se realizó a  $37^{\circ}\text{C}$  con un gradiente de pH.

La inspección visual de los comprimidos durante el ensayo de velocidad de cesión nos permitió comprobar que el comportamiento de los comprimidos cargados, era similar al observado en los ensayos de disgregación de los comprimidos del gel sin el fármaco. Los efectos anteriormente descritos también se aprecian en la forma de las curvas de cesión. En las tres primeras etapas del ensayo (pHs 1.2 - 5.5) y a  $37^{\circ}\text{C}$  el gel se encuentra colapsado y los comprimidos no se disgregan, como se aprecia macroscópicamente por el color blanco y la opacidad de los comprimidos. Esto hace que parte del fármaco quede retenido en la matriz polimérica. A partir de pH 6.6, el gel se expande, se hincha y se vuelve transparente, lo que da lugar a la disgregación de los comprimidos y a la liberación del fármaco retenido.

En ambas Figs. 10 y 11 (b) se observa claramente el importante efecto que el tamaño de partícula tiene en los perfiles de liberación del fármaco. Las fracciones de menor tamaño de partícula no son capaces de retener el fármaco y liberan la mayor parte del fármaco en los primeros estadios del ensayo, a pesar de encontrarse el gel en estado colapsado y de que el comprimido no se disgrega. A medida que aumenta el tamaño de partícula se aprecia una disminución gradual en la cantidad de fármaco liberado en las primeras etapas, en las que el gel se encuentra colapsado. Para la interpretación de estos resultados se puede considerar que en medio ácido, a pesar de no estar disgregado el comprimido, el agua es capaz de acceder a los espacios entre partícula y al interior de los geles, como demuestra el aumento del tamaño del comprimido. Pero mientras que el agua entre partículas se encuentra de alguna forma en equilibrio con el medio externo, el agua del interior del gel se encuentra retenida, y no se intercambia tan fácilmente con el

medio externo. Tan sólo el fármaco que se encuentra en las zonas más exteriores del gel puede entrar en contacto con este agua entre partículas y ser cedido al medio externo. Por otro lado este menor tamaño de partícula y la gran superficie específica facilita la entrada de agua al gel, y hace que este alcance antes su estado de equilibrio. A pesar de que la salida del fármaco este impedida el menor tamaño de partícula hace que el fármaco tenga un menor espacio que recorrer hasta alcanzar la superficie de la partícula. Esto está de acuerdo con los resultados obtenidos, ya que las fracciones de menor tamaño de partícula muestran una elevada cesión del fármaco a pH ácido. Al aumentar el tamaño de partícula se disminuye la superficie específica y por tanto la cantidad de fármaco en contacto con el agua entre partículas, y esto hace que disminuya la cesión de fármaco en los primeros estadios, y aumente la cantidad de fármaco retenida en el interior de la matriz polimérica.



**Figura 11.** Curvas acumuladas de cesión de Diltiazem de comprimidos obtenidos a partir de las fracciones de polvo de mayor tamaño de partícula del copolímero P(N-iPAAm-co-MAA) 85/15. El ensayo se realizó a 37°C con un gradiente de pH.

Al aumentar el pH tiene lugar la expansión del gel y la liberación del fármaco que había quedado retenido en la matriz. Como se describió en los ensayos de disgregación, en las fracciones de menor tamaño de partícula la disgregación del comprimido es más lenta, pero el hinchamiento de las partículas es prácticamente inmediato una vez que estas se separan del comprimido. Se comprueba que la cesión de

fármaco finaliza una vez que tiene lugar la completa disgregación del comprimido. Por el contrario, la disgregación del comprimido es más rápida al aumentar el tamaño de partícula, pero, el hinchamiento de las partículas es mucho más lento. En las fracciones de mayor tamaño de partícula, se observa claramente la aparición de un frente de hinchamiento transparente y un corazón colapsado blanco. La inspección visual nos permitió comprobar que la cesión del fármaco no finaliza hasta que el corazón colapsado, de color blanco, desaparece de las partículas del gel. Esto hace que la velocidad de cesión a pH básico disminuya gradualmente al aumentar el tamaño de partícula, debido a que disminuye la velocidad de hinchamiento, lo que aumenta en gran medida la duración del ensayo. En la Fig. 11 (a) se presenta esquemáticamente el aspecto del disco de gel de peso y dimensiones similares a la de los comprimidos, que se preparó para estudiar el efecto del tamaño de partícula en el límite. A pH ácido el disco se encuentra colapsado y blanco. Al pasar a pH 6.6 aparece un frente de hinchamiento en los bordes del disco. A medida que avanza el ensayo tiene lugar un aumento del frente de hinchamiento y la disminución del corazón colapsado. A las 15 horas de ensayo aun se aprecia la existencia del corazón colapsado en el interior de esta muestra con un 40% de fármaco aun retenido. La cesión no finaliza hasta la completa desaparición de este corazón blanco a aproximadamente unas treinta horas de ensayo. Todo ello nos ayuda a explicar los perfiles de liberación en medio básico obtenidos. A este pH la velocidad de cesión del fármaco retenido en el interior de la matriz está controlada por el hinchamiento del gel. La velocidad de hinchamiento también aumenta al aumentar la superficie específica en contacto con el agua, por lo que disminuye gradualmente la velocidad de cesión de fármaco a pH básico al aumentar el tamaño de partícula de los comprimidos.

Todos estos resultados demuestran que los copolímeros con un elevado contenido de *N*-iPAAm nos permiten, mediante la modificación de parámetros sencillos, obtener cinéticas de liberación de fármacos muy diferentes. Un adecuado desarrollo galénico de la formulación nos permitiría optimizar la cinética de cesión y adecuarla a los requerimientos fisiológicos específicos.

#### 6.4. BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] Y. W. Chien, "Novel Drug Delivery Systems", en la serie "Drugs and the Pharmaceutical Sciences" Editor J. Swarbrick. Marcel Dekker. New York, 1992.
- [2] Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2<sup>a</sup> ed. The pharmaceutical press- American pharmaceutical association. 1994
- [3] P. Y. Yeh, P. L. Smith, *Macromol. Symp.*, **2001**, 172, 139.
- [4] S. H. Gehrke, P. I. Lee. "Hydrogels for Drug Delivery", en "Specialized Drug Delivery Systems, Manufacturing and Production Technology". Editor P. Tyle. Marcel Decker, New York, 1990.
- [5] V. Pillany, R. Fassihi, *J. Pharm. Sci.*, **1999**, 88, 1140.
- [6] J. R. Robinson, V. H. Lee, "Controlled Drug Delivery. Fundamentals and Applications", 2<sup>a</sup> ed. Editor J. Swarbrick. Marcel Dekker. New York. 1987.

- [7] Y.H. Bae, T. Okano, S. W. Kim, *Pharm. Res.*, **1991**, 8, 531.
- [8] L. Brannon-Peppas, *Medical Plastics and Biomaterials*, **1997**, 4, 34.
- [9] N. A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, H. Ichikawa, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2000**, 50, 27.
- [10] O. Wichterle, D. Lim, *Nature*, **1960**, 185, 117.
- [11] N. A. Peppas, “Hydrogels in Medicine and Pharmacy”, CRC Press, Boca Raton, FL, 1987.
- [12] K. Park, “Controlled Drug Delivery: Challenges and Strategies”, ACS Press, Washington DC, 1997.
- [13] M. Am Ende, A.G. Mikos, “Diffusión Controlled Delivery of Proteins from Hydrogels and other Hydrophilic Systems”, en “Protein Delivery: Physical Systems”, Editores L. M. Sanders, R. W. Hendren, Plenum Press, New York, 1997.
- [14] A. M. Lowman, N. A. Peppas, “Hydrogels” en “Encyclopedia of Controlled Drug Delivery”. Editor E. Mathiowitz, Wiley, New York, 1999.
- [15] M. E. Byrne, K. Park, N. A. Peppas, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2002**, 54, 149.
- [16] S. W. Kim, Y. H. Bae, T. Okano, *Pharm. Res.*, **1992**, 9, 283.
- [17] Y. Qiu, K. Park, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **2002**, 53, 321.
- [18] V. Pillay, R. Fassihi, *J. Control. Release*, **2000**, 67, 55.
- [19] Y. Osada, J. Gong, *Prog. Polym. Sci.*, **1993**, 18, 187.
- [20] Y. Osada, H. Okuzaki, H. Hori, *Nature*, **1992**, 355, 242.
- [21] A. S. Hoffman, *J. Control. Release*, **1987**, 6, 297.
- [22] H. Feil, Y. H. Bae, S. W. Kim, *J. Memb. Sci.*, **1991**, 64, 283.
- [23] B. Vernon, S. W. Kim, Y. H. Bae, *J. Biomater. Sci. Polymer. Edn.*, **1999**, 10, 183.
- [24] M. Andersson, A. Axelsson, G. Zacchi, *Int. J. Pharm.*, **1997**, 157, 199.
- [25] M. Torres-Lugo, N. A. Peppas, *Macromolecules*, **1999**, 32, 6646.
- [26] N. A. Peppas, J. Klier, *J. Control. Release*, **1991**, 16, 203.
- [27] C. L. Bell, N. A. Peppas, *J. Control. Release*, **1996**, 39, 201.
- [28] S. Y. Kim, Y. M. Lee, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1999**, 74, 1752.
- [29] K. Podual, F. J. Doyle, N. A. Peppas, *J. Control. Release*, **2000**, 67, 9.
- [30] T. Miyata, N. Asami, T. Uragami, *Nature*, **1999**, 399, 766.
- [31] E. Kokufuta, Y. Q. Zhang, T. Tanaka, *Nature*, **1991**, 351, 302.
- [32] D.F. Evans, G. Pye, R. Bramley, A. G. Clark, T. J. Dyson, J. D. Hardcastle, *Gut*, **1988**, 29, 1035.
- [33] A. S. Hoffman, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2002**, 43, 3.
- [34] M. Andersson, A. Axelsson, G. Zachi, *Int. J. Pharm.*, **1997**, 157, 199.
- [35] S. K. Vakkalanka, C. S. Brazel, N. A. Peppas, *J. Biomater. Sci. Polymer. Edn.*, **1996**, 8, 119.

- [36] H.P. Rang, M.M. Dale. "Farmacología". Churchill Livingstone. España. Madrid 1995.
- [37] Catalogo de Especialidades Farmacéuticas: Base de Datos de Medicamentos. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.
- [38] "Martin Dale, The Extra Pharmacopoeia". 31<sup>a</sup> ed. Royal pharmaceutical society of Great Britain. The Pharmaceutical Press. London. 1996.
- [39] "The Merck Index". Merck &Co. 11<sup>a</sup> Edición. 1989.
- [40] P. Colombo, R. Bettini, P. Santi, A. De Ascentiis, N. A. Peppas, *J. Control. Release*, **1996**, 39, 231.
- [41] G. M: Eichenbaum, P. F. Kiser, S.A. Simon, D. Needham, *Macromolecules*, **1998**, 31, 5084.
- [42] "Real Farmacopea Española". Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid. 1998
- [43] "US Pharmacopeia 2000 (XXIV)". US Pharmacopeial Convention. Rockville. 1999
- [44] P. Frutos, C. Pabón, J. L. Lastres, G. Frutos, *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, 49, 1267.
- [45] The European Agency for the Evaluation of Medical Products, ICH Topic Q 2B. Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95). 1996.
- [46] Statgraphics Plus for Windows 3.0, Statistical Graphics Corp.
- [47] C. Alvarez-Lorenzo, A. Concheiro, *J. Control. Release*, **2002**, 80, 247.
- [48] T. L. Lowe, H. Tenhu, H. Tylli, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1999**, 73, 1031.
- [49] A. Jimenez-Kairuz, D. Allemandi, R. H. Manzo, *J. Pharm. Sci.*, **2002**, 91, 267.
- [50] T. Govender, T. Ehtezazi, S. Stolnik, L. Illum, S. S. Davis, *Pham. Res.*, **1999**, 16, 1125.
- [51] S. M. Upadrashta, B. O. Hälund, L. O. Sundelöf, *J. Pharm. Sci.*, **1993**, 82, 1094.
- [52] I. Katime, N. Valderruten, J. R. Quintana, *Polym. Int.*, **2001**, 50, 869.
- [53] M. Shibayama, Y. Fujikawa, S. Nomura, *Macromolecules*, **1996**, 29, 6535.
- [54] K. Kratz, T. Hellweg, W. Eimer, *Colloids and Surfaces Part A.*, **2000**, 170, 137.

## 7. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han preparado hidrogeles basados en *N*-isopropilacrilamida y ácido metacrílico capaces de responder a estímulos del medio. Se han caracterizado empleando diversas técnicas. Los resultados obtenidos pueden ser empleados para la optimización del diseño de estos materiales en aplicaciones específicas como la liberación controlada de fármacos. Las principales conclusiones del trabajo son:

- 1.- La dependencia de la transición vítrea ( $T_g$ ) de los copolímeros con la composición, no puede explicarse mediante un modelo aditivo simple. La representación de esta dependencia de  $T_g$  vs composición tiene una forma de *S* que es característica de sistemas con fuertes interacciones entre las unidades comonoméricas. La existencia de interacciones entre ambos comonómeros también produce pequeños cambios en los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP MAS obtenidos tanto para muestras secas copolímeros como para redes interpenetradas (IPNs). Sin embargo ha sido la aparición de una nueva señal en la zona carbonílica del MAA en los espectros de  $^{13}\text{C}$  PST MAS de muestras hinchadas en metanol lo que ha puesto de manifiesto la existencia de una interacción a mediante puentes de hidrógeno entre ambos monómeros.
- 2.- Los espectros de  $^1\text{H}$  DQ MAS tanto mono- como bidimensionales han permitido llevar a cabo una caracterización de esta interacción a través de puentes de hidrógeno. Por una parte demostraron la existencia de distintos tipos de puentes de hidrógeno en el P(MAA) con diferencias en su estabilidad, así como en la acidez de los protones implicados, que pueden ayudar a explicar los cambios conformacionales que tienen lugar en este polímero con cambios en el pH. Por otro lado, estos experimentos también demostraron la participación de la *N*-iPAAm en la interacción por puentes de hidrógeno que da lugar al colapso de los copolímeros y redes interpenetradas. Los puentes de hidrógeno entre ambas unidades comonoméricas presentan una mayor estabilidad a la temperatura y menores distancias  $^1\text{H}\cdots^1\text{H}$ , que los que tienen lugar en el P(MAA). Esto ha permitido sugerir la existencia de interacciones hidrofóbicas entre ambos comonómeros que dan lugar a la estabilización de los complejos entre ellos.
- 3.- La técnica de  $^1\text{H}$  MAS RMN, en muestras ligeramente hinchadas, ha permitido establecer grandes diferencias en la movilidad de los copolímeros en función del pH y la composición. Mientras que la movilidad de los homopolímeros no se ve afectada por el pH del medio, en los copolímeros se aprecia un marcado incremento en la movilidad al aumentar el pH. Se ha interpretado como consecuencia de la rotura a pH básico de los complejos por puentes de hidrógeno en un entorno hidrofóbico. Los resultados obtenidos están de acuerdo con el comportamiento en forma de *S* de la  $T_g$  frente a la composición de los copolímeros.
- 4.- Mediante los experimentos de  $^1\text{H}$  MAS RMN de muestras hinchadas también se ha podido observar como el agua participa de la movilidad del polímero. En los espectros de muestras tratadas

previamente a pH básico, aparece una única señal para todos los copolímeros cuyo desplazamiento químico depende tanto de la composición de la muestra como de la temperatura. Por el contrario, a pH ácido aparecen dos picos en la zona de resonancia del agua, uno de baja movilidad cuyo desplazamiento no depende de la temperatura y otro de mayor movilidad que no depende de la composición. En la P(*N*-iPAAm), la LCST también da lugar al desdoblamiento del pico de resonancia del agua en dos. Mediante DSC se ha comprobado que a muy bajas concentraciones, el agua actúa como plastificante, disminuyendo la  $T_g$  del polímero. Para concentraciones más elevadas, aparecen endotermas de fusión múltiple que se han atribuido a distintas especies de agua en el hidrogel. Si bien parece que existe una relación entre la magnitud de cada una de las diferentes endotermas y la composición del polímero, se hace difícil hacer una interpretación de estos resultados.

- 5.- Con respecto a los valores de hinchamiento en el equilibrio, los copolímeros son muy sensibles al pH. La región de máximo hinchamiento de los copolímeros se encuentra a pH neutros y básicos en la zona de mayor contenido en *N*-iPAAm. Se ha interpretado como un efecto sinérgico entre la contribución osmótica adicional de los grupos de MAA ionizados a este pH y la mayor flexibilidad de la cadena de *N*-iPAAm. En esta zona de pHs, por encima del  $pK_a$  del MAA, el equilibrio de hinchamiento depende en gran medida del grado de entrecruzamiento químico. Por el contrario, a pHs ácidos tanto el P(MAA) como los copolímeros presentan equilibrios de hinchamiento muy bajos que no dependen del grado de entrecruzamiento químico. El mínimo grado de hinchamiento corresponde a los copolímeros en los que tiene lugar una mayor formación de complejos mediante puentes de hidrógeno entre ambos monómeros, interpretándose como un entrecruzamiento físico adicional de la red.
- 6.- La sensibilidad térmica de los copolímeros no es tan significativa, aunque se ha encontrado un interesante efecto en la zona de los copolímeros ricos en *N*-iPAAm. A pH básico, aunque es posible detectar la LCST mediante DSC, no tiene lugar el colapso macroscópico del gel. Sin embargo, a pH ácido el copolímero pierde la contribución de los grupos carboxílicos ionizados y disminuye su hidrofília y por tanto su hinchamiento, aunque no se colapsa completamente. En estas condiciones un aumento de temperatura da lugar al colapso macroscópico del copolímero a la LCST. Por el contrario, por calorimetría y por resonancia tan sólo se detectó la LCST en las redes interpenetradas a pH básicos debido a la rotura de los puentes de hidrógeno entre los complejos.
- 7.- Respecto a la dinámica de hinchamiento, se han detectado los siguientes comportamientos anómalos: (i) a pH neutro y básico una cinética de absorción muy lenta con curvas de tendencia sigmoideal para algunos de los copolímeros, y (ii) a pH ácido la existencia de un proceso de hinchamiento-deshinchamiento conocido en la literatura como efecto “*overshooting*”. Las curvas sigmoideales a pH neutro se ha interpretado cinéticamente suponiendo que se trata de un proceso autocatalítico. El estado inicial del gel, con gran cantidad de complejos de carácter hidrofóbico, impide el acceso del agua, pero a medida que ésta va penetrando, destruye lentamente los complejos, aumenta la hidrofília

y favorece la entrada de otras moléculas de forma que se produce una aceleración que da lugar a la forma sigmoideal de la curva. El efecto “*overshooting*” se ha interpretado cinéticamente de acuerdo con un esquema de tres reacciones consecutivas, una primera que considera una rápida absorción del agua por el gel, una segunda en la que el medio ácido promueve la reorganización del gel en otro más entrecruzado por puentes de hidrógeno y en consecuencia una tercera que considera la expulsión del agua que sobra hasta alcanzar el nuevo equilibrio. Ambos efectos anómalos (autocatálisis y “*overshooting*”) pueden ser puestos de manifiesto de una forma controlada, regulando la cantidad de puentes de hidrógeno en los geles mediante tratamientos previos a pHs ácido o básico.

- 8.-** Se ha explorado, y en este sentido continúan los estudios, la utilización de estos copolímeros como un posible nuevo sistema para la liberación controlada de sustancias hidrofílicas de bajo peso molecular. Concretamente, la cesión de principios activos mediante activación controlada por el pH en sistemas de administración de fármacos por vía oral. Para ello se eligió el Clorhidrato de Diltiacem como sustancia modelo, que se embebió en el interior de los hidrogeles. Los copolímeros de mayor contenido en *N*-iPAAm resultaron ser los más adecuados para ejercer un control en la liberación de este fármaco permitiendo obtener curvas de cesión muy diversas. Se han obtenido comprimidos que no se disgregan en medio ácido en los que, mediante la modificación del tamaño de partícula, se controla la cinética de liberación del fármaco. Esto es debido a que el colapso de estos copolímeros a 37 °C y pH ácido, les confiere un carácter altamente hidrofóbico que hace que el fármaco quede retenido en su interior, mientras que al incrementar el pH la red se expande y el fármaco es liberado.

