



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Programa de Doctorado en Ciencias con Mención en Química

Obtención de biomateriales a partir de poliésteres sililados derivados de ésteres grasos, con características anfifílicas y fluorescentes

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias con Mención en Química

DANIELA BELÉN ANDRADE ACUÑA
CONCEPCIÓN-CHILE
2018

Profesor Guía: Mohamed Dahrouch
Dpto. de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad de Concepción
Profesor Co-Guía: Susana Sánchez Donoso
Dpto. de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas
Universidad de Concepción

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a las siguientes personas y entidades por el desarrollo de esta tesis doctoral:

En primer lugar, quisiera agradecer a mi familia por el amor y apoyo incondicional, en especial a mi madre por estar en cada uno de mis proyectos de vida, y por todas las oportunidades que me ha brindado. A mi hermano por ser mi pilar fundamental en la vida y mi ejemplo a seguir. Quisiera agradecer encarecidamente a Juan David mi esposo, por toda la fuerza y las palabras de aliento, que sin duda me ayudaron en los momentos de flaqueo y que sin él no hubiese culminado esta tesis doctoral.

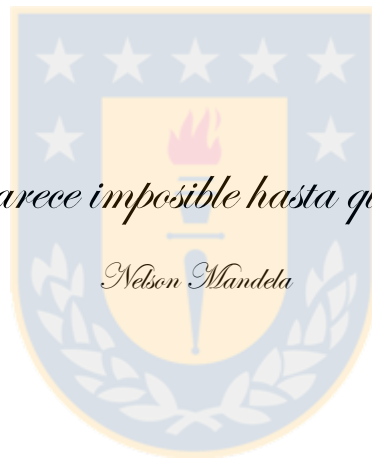
Quisiera agradecer a mis profesores guías Dra. Susana Sánchez y Dr. Mohamed Dahrouch por toda su ayuda, consejos y por sobre todo confiar en mí. Al Dr. Ángel Marcos por permitirme realizar mi pasantía doctoral en el grupo de elastómeros del instituto de ciencias y tecnología de polímeros de Madrid, en especial al Dr. Rodrigo Navarro y Dr. Antonio González y a Mar Fernández por la colaboración en los ensayos de citotoxicidad.

A la Comisión Evaluadora compuesta por los doctores Bruno Urbano, Francisco Muñoz y Mehrdad Yazdani-Pedram Zobeiri por sus correcciones y sugerencias. A los compañeros de laboratorio Claudio Urrutia, Enzo Díaz, Camilo Torres, Monserrat Bustos, a los compañeros de batalla Karla Garrido, Saul Bustamante, Yadiris García, Myleidi Vera, por su compañerismo y buenos momentos. A todo el personal de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Concepción por su buen trato y disposición, en especial a Karin Garcés, por toda la ayuda brindada en la última etapa de esta tesis doctoral.

A la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, CONICYT, por la beca de Doctorado en Chile 2014. A la Dirección de Posgrado de la Universidad de Concepción por el apoyo económico para la asistencia a eventos de divulgación científica.

“Todo parece imposible hasta que se hace”

Nelson Mandela



RESUMEN

El excesivo uso de materiales poliméricos durante las últimas décadas, provenientes de fuentes petroquímicas, ha provocado que el mundo científico centre su atención en el uso de fuentes renovables como punto de partida para la preparación de éstos. Los aceites naturales son un recurso sustentable, de amplia disponibilidad, de bajo costo y considerados biodegradables y/o biocompatibles. Dentro de la gran diversidad de aceites naturales existentes, el más utilizado en la producción de nuevos materiales poliméricos es el aceite de ricino y sus derivados. El undec-10-enoato de metilo es uno de ellos y dentro de sus aplicaciones está la obtención de poliésteres, uno de los materiales de mayor relevancia en la industria textil, plásticos, surfactantes y en aplicaciones biomédicas. Los poliésteres se obtienen mediante reacciones de policondensación, empleando principalmente la reacción de politransesterificación.

Teniendo en cuenta lo anterior, en esta tesis doctoral se obtuvieron poliésteres, mediante policondensación, tanto lineales como reticulados, a partir de derivados sililados del aceite natural undec-10-enoato de metilo. Los poliésteres obtenidos presentaron propiedades anfifílicas y fueron caracterizados mediante: i) resonancia magnética nuclear, para confirmar su estructura polimérica, y ii) análisis térmicos, obteniendo, en todos los casos, altas temperaturas de degradación, y temperaturas de fusión en el rango -26 a 60 °C.

Los poliésteres lineales formaron fibras (confirmadas mediante microscopía de luz polarizada) y los poliésteres entrecruzados crearon geles (ratificados mediante microscopía electrónica de barrido). Los poliésteres lineales, al ser anfifílicos, presentaron la habilidad de autoensamblaje tanto en medio acuoso como en medio apolar, obteniéndose bajas concentraciones micelares críticas y tamaños de partículas a escala nanométrica. Los poliésteres entrecruzados resultaron biocompatibles según la norma ISO 10993-5, y presentaron la capacidad de hincharse en medio acuoso, encapsular y liberar rodamina. Por último, los poliésteres fluorescentes fueron caracterizados mediante microscopía confocal, confirmando la presencia de la sonda cumarina como parte de su estructura.

ABSTRACT

The excessive use of polymeric materials during the last decades, coming from petrochemical sources, has caused that researchers focus their attention on the use of renewable sources as a starting point for their preparation. Natural oils are a sustainable resource, widely available, low cost and considered to be biodegradable and / or biocompatible. Within the great diversity of existing natural oils, the most used in the production of new polymeric materials is castor oil and its derivatives. Methyl undec-10-enoate is one of them and among its applications is obtaining polyesters, one of the most relevant materials in the textile industry, plastics, surfactants and in biomedical applications. Polyesters are obtained by polycondensation reactions, using mostly polytransesterification reaction.

Considering the above information, in this doctoral thesis linear and crosslinked polyesters were synthesized from silylated derivatives of the natural oil undec-10-enoate methyl by polycondensation reactions. The polyesters obtained had amphiphilic properties and were characterized by: i) nuclear magnetic resonance, to confirm their polymeric structure, and ii) thermogravimetric analysis.

Our results show for the synthesized polyesters high degradation (400°C) and melting (-26 to 60°C) temperatures. The linear polyesters formed fibers (confirmed by polarized light microscopy) and the crosslinked polyesters created gels (confirmed by scanning electron microscopy). The linear polyesters, being amphiphilic, showed self-assembly capability in both aqueous and non-polar media, with low critical micellar concentrations and nanoscale particle sizes. The cross-linked polyesters were biocompatible according to ISO 10993-5, and had the ability to swell, encapsulate and release rhodamine in aqueous medium. Finally, the fluorescent polyesters were characterized by confocal microscopy, confirming the presence of the coumarin dye as part of its structure.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN	1
1.1. Materiales derivados del petróleo.....	1
1.2. Aceites naturales.....	1
1.3. Poliésteres	2
1.3.1. Tipos de poliésteres.	3
1.3.2. Obtención de Poliésteres	4
1.4. Modificación del derivado de aceite de ricino (undec-10-enoato de metilo)	5
1.5. Obtención de polímeros anfífilicos por policondensación con polietilenglicol.....	8
1.6. Obtención de polímeros fluorescentes	10
1.7. Formación de fibras y geles	13
1.8. Hipótesis	15
1.9. Objetivos	16
1.9.1. Objetivo general	16
1.9.2. Objetivos específicos	16
CAPÍTULO 2 – METODOLOGÍA	18
2.1. Obtención y caracterización de monómeros sililados	18
2.1.1. Obtención y caracterización del monómero di-éster sililado (MDS)	18
2.1.2. Obtención y caracterización del monómero cíclico tetra-éster sililado (MCTS)	19
2.2. Obtención de poliésteres anfífilicos	20
2.2.1. Obtención y caracterización de poliésteres anfífilicos lineales	20
2.2.2. Obtención y caracterización de poliésteres anfífilicos entrecruzados	24
2.2.3. Poliésteres fluorescentes.....	30
2.2.3.1. Síntesis y caracterización de poliésteres a partir de hidroquinona	30
2.2.3.2. Síntesis y caracterización de poliésteres a partir de cumarina diol	33
CAPÍTULO 3 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38

3.1. Caracterización de monómeros sililados	38
3.2. Caracterización de poliésteres anfifílicos lineales	39
3.2.1. Caracterización mediante cromatografía de permeación en gel (GPC)	40
3.2.2. Caracterización mediante análisis termogravimétricos	42
3.2.3. Formación de fibras	45
3.2.4. Formación de micelas directas e inversas	46
3.3. Caracterización de poliésteres anfifílicos entrecruzados	52
3.3.1. Caracterización mediante análisis termogravimétrico	55
3.3.2. Determinación del grado de entrecruzamiento	57
3.3.3. Caracterización morfológica de la serie PEE	63
3.3.4. Grado de hinchamiento- encapsulación y liberación de Rodamina	65
3.3.5. Estudio de citotoxicidad para la serie PEE	68
3.4. Caracterización de poliésteres fluorescentes	70
3.4.1. Síntesis de poliésteres a partir de hidroquinona	70
3.4.1.1. Poliéster lineal a partir del derivado de hidroquinona (PLHQ)	70
3.4.1.2. Poliéster entrecruzado a partir del derivado de hidroquinona (PEHQ)	72
3.4.2. Síntesis de poliésteres a partir de cumarina	73
3.4.2.1. Síntesis del monómero cumarina diol	73
3.4.2.2. Síntesis de poliésteres entrecruzados fluorescentes (PEEF)	77
CAPÍTULO 4 – CONCLUSIONES	88
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	104
A. Poliésteres anfifílicos lineales	104
1. Espectros de resonancia magnética nuclear para la serie PEL	104
2. Termogramas para la serie PEL	109
3. Determinación de concentración micelar crítica en agua para la serie PEL	110

4.	Determinación de concentración micelar crítica en medio a polar para la serie PEL.	111
B.	Poliésteres anfífilos entrecruzados.....	112
1.	Espectros de resonancia magnética nuclear para la serie PEE.....	112
C.	Poliésteres fluorescentes	118
1.	Espectros de resonancia magnética nuclear para la serie PEEF	118

ÍNDICE DE FIGURAS

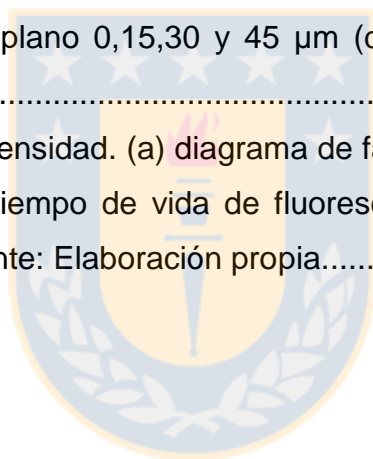
Figura 1.1.	Ricinus communis. Fuente: web.....	1
Figura 1.2.	Estructura de undec-10-enoato de metilo. Fuente: Elaboración propia....	2
Figura 1.3.	Topología de poliésteres. a) Polímero lineal; b) Polímero ramificado; c) Polímero entrecruzado. Fuente: web.....	4
Figura 1.4.	a) Esquema de la reacción de hidrosililación del undec-10-enoato de metilo usando un monómero siloxano lineal y cíclico. b) Estructura del catalizador de Karstedt. Fuente: Elaboración propia.	6
Figura 1.5.	Mecanismo de Chalk Harrod para la hidrosililación de un alqueno. Fuente: Modificado de J. Matinson y colaboradores ²⁶	7
Figura 1.6.	Comportamiento anfífilo de los monómeros ésteres sililados. Fuente: Modificada de Riviere y colaboradores ²⁴	8
Figura 1.7.	a) Ejemplo de formación de micela. b) Encapsulación de pireno en micela. Fuente: modificada de Scott M. Grayson y colaboradores ³⁶	9
Figura 1.8.	Tipos de polímeros fluorescentes. Fuente: Modificada de Yi Zhanga y Jian Yang ¹⁸	10
Figura 1.9.	Fluoresceína, ejemplo de emisores fluorescentes pequeños. Fuente: Modificado de Daniel C. Harris ⁴⁷	11
Figura 1.10.	Proteína verde fluorescente. Fuente: Modificado de Roger Y. Tsien ⁴⁸	11
Figura 1.11.	Imagen de Quantum Dots. Fuente: Modificado de Medints y colaboradores ⁴⁹	12
Figura 1.12.	Estructura de los fluoróforos a) 4-(hidroximetil)-7-(3-hidroxiopropoxi)cumarina b) 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi))dietanol. Fuente: Elaboración propia.	13

Figura 2.1. Esquema de la reacción de hidrosililación para la formación del monómero lineal sililado. Fuente: Modificado de Riviere y colaboradores ²⁴	18
Figura 2.2. Esquema de la reacción de hidrosililación para la formación del monómero cíclico sililado. Fuente: Modificado de Riviere y colaboradores ²⁴	19
Figura 2.3. Esquema de la ruta sintética para la obtención de poliésteres anfifílicos lineales. Fuente: Elaboración propia.	21
Figura 2.4. Esquema ruta sintética para la obtención de poliésteres anfifílicos entrecruzados. Fuente: Elaboración propia.....	25
Figura 2.5. Esquema de síntesis de polímero lineal a base del derivado de hidroquinona. Fuente: Elaboración propia.....	31
Figura 2.6. Esquema de síntesis de polímero entrecruzado a base del derivado de hidroquinona. Fuente: Elaboración propia.....	32
Figura 2.7. Esquema de la ruta sintética de la formación de cumarina diol. Fuente: Modificado de Abraham Joy y colaboradores ⁵⁸	33
Figura 2.8. Esquema de la síntesis de poliésteres fluorescentes a partir de cumarina. Fuente: Elaboración propia.....	36
Figura 3.1. Espectro de resonancia magnética nuclear de ¹³ C del monómero MCTS. Fuente: Elaboración propia.....	38
Figura 3.2. Espectros de resonancia magnética nuclear ¹ H, ¹³ C del poliéster PEL2000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	39
Figura 3.3. a) Masa molar (Mw) versus tiempo de polimerización (h), b) Cromatogramas de PEL1000 a diferentes tiempos (1,2,3 h). Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	41
Figura 3.4. a) Perfil termogravimétrico PEL2000-2 b) Perfil termogravimétrico PEL400-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	43
Figura 3.5. Termogramas obtenidos por DSC de PEL400-2 (—), PEL1000-2 (—), PEL1500-2 (—), PEL2000-2 (—) y PEL3000-2 (—) para: a) Rango de temperatura entre - 50 y 150 °C. b) Rango de temperatura entre -50 y -10 °C. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	44
Figura 3.6. Microfotografías ópticas de fibras observadas mediante microscopía óptica a) PEL1500-2, b) PEL2000-2 y c) PEL3000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	46
Figura 3.7. a) Espectros de excitación con λ emisión a 383 nm de solución acuosa saturada de pireno en presencia de PEL1000-2 a diferentes concentraciones (mg/mL).	

b) Dependencia de la relación de intensidad (I_{337}/I_{334}) de pireno sobre el logaritmo de concentración de PEL1000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	47
Figura 3.8. Imágenes TEM a) PEL1000-2, b) PEL1500-2, c) PEL2000-2, d) PEL3000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores ⁷⁴	49
Figura 3.9. a) Espectros de emisión de una solución cloroformo/metanol insaturado de piranina en presencia de PEL1000-2 a diferentes concentraciones (mg/mL). b) Dependencia de la relación de intensidad (I_{430}/I_{424}) de piranina sobre la concentración de polímero PEL1000-2 (mg / mL). Fuente: Elaboración propia.	50
Figura 3.10. Comparación de la CMC entre micelas directas e inversas, usando las condiciones descritas en metodología. Fuente: Elaboración propia.....	51
Figura 3.11. Diagrama propuesto para la inversión de micela de un medio polar a uno apolar. Fuente: Elaboración propia.....	52
Figura 3.12. Espectro de resonancia magnética nuclear de protón del poliéster PEE2000. El espectro se obtuvo mediante la sonda HR-MAS. Fuente: Elaboración propia.	53
Figura 3.13. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono del PEE2000. El espectro fue tomado usando una sonda de CP-MAS. Fuente: Elaboración propia..	54
Figura 3.14. Perfiles termogravimétricos para la serie PEE. Fuente: Elaboración propia.	55
Figura 3.15. Termogramas obtenidos por DSC para a) la serie PEE en el rango entre 0-100°C b) para PEE400 con un rango vertical ampliado. Fuente: Elaboración propia.	56
Figura 3.16. a) Experimento de doble coherencia cuántica (DQ), del polímero PEE400 con su intensidad de referencia (I_{ref}), y de doble cuanto (I_{DQ}), b) Fracción de polímero no acoplada, defectos de la red, para la serie PEE, c) I_{nDQ} para la serie PEE que entrega información de la estructura de red, es decir, es proporcional a S_b y su respectivo ajuste. Fuente: Elaboración propia.....	60
Figura 3.17. Densidad de entrecruzamiento para la serie PEE. Fuente: Elaboración propia.	61
Figura 3.18. Perfiles de cinética a diferentes presiones de la policondensación para el polímero PEE400, la flecha indica el punto gel teórico ⁷⁵ . Fuente: Elaboración propia.	63

Figura 3.19. Imágenes tomadas mediante SEM a) PEE400, b) PEE1500, c) PEE3000 y d) PEE6000. Fuente: Elaboración propia.	64
Figura 3.20. Imágenes de microscopía de barrido de poros interconectados del polímero PEE6000. Fuente: Elaboración propia.....	64
Figura 3.21. Grado de hinchamiento en medio acuoso, en 24 h a 25°C. Fuente: Elaboración propia.....	66
Figura 3.22. Porcentaje de liberación de rodamina con respecto al tiempo. Fuente: Elaboración propia.....	68
Figura 3.23. Ensayo de citotoxicidad transformando MTT a violeta formazan. Fuente: modificada de Fernández y colaboradores ¹¹⁹	69
Figura 3.24. Ensayo de citotoxicidad usando el método MTT. Fuente: Elaboración propia.	69
Figura 3.25. Espectro de resonancia magnética de ¹ H y ¹³ C del polímero PLHQ. Fuente: Elaboración propia.....	70
Figura 3.26. Gráfica de estudios calorimétricos a) análisis TGA y b) análisis DSC. Fuente: Elaboración propia.....	71
Figura 3.27. Espectro para PEHQ tomado mediante CP-MAS. Fuente: Elaboración propia.	72
Figura 3.28. Gráfica del termograma del poliéster PEHQ. Fuente: Elaboración propia.	73
Figura 3.29. Espectros de resonancia magnética a) de protón y b) carbono para 4-(clorometil)-7-hidroxycumarina. Fuente: Elaboración propia.	74
Figura 3.30. Espectros de resonancia magnética de a) protón y b) carbono para 7-hidroxi- 4-(hidroximetil)cumarina. Fuente: Elaboración propia.....	75
Figura 3.31. Espectros de resonancia magnética de a) protón y b) carbono para 4-(hidroximetil)-7-(3-hidroxipropoxi)cumarina. Fuente: Elaboración propia.	76
Figura 3.32. Espectro de resonancia magnética nuclear (CP-MAS) carbono 13 para PEEF3000. Fuente: Elaboración propia.	77
Figura 3.33. Gráfica de los termogramas de la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia.	78
Figura 3.34. Análisis calorimétrico para la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia	79
Figura 3.35. Gráfica de la capacidad de hinchamiento para la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia.....	81

Figura 3.36. Imágenes de poro de la serie PEEF mediante SEM a) PEEF400 b) PEEF1500 c) PEEF3000. Fuente: Elaboración propia.	81
Figura 3.37. Métodos para análisis de fluorescencia. (a) Método espectral de formación de imágenes para emisión espectral en estado sólido. (b) Imagen de vida de fluorescencia (FLIM) y método de Fazor. Fuente: Modificada de Felipe A. Olate y colaboradores ¹²²	84
Figura 3.38. a) Imágenes espectrales para la serie PEEF, con una excitación a 780 nm, tamaño figura 84.94 x84.94 μm , resolución 1024x1024 pixeles. b) Espectros de emisión obtenidos de imágenes espectrales, cumarina diol (—) PEEF400 (—), PEEF1500 (—), PEEF3000 (—). Fuente: Elaboración propia.	85
Figura 3.39. a) Imágenes de intensidad de la serie PEEF, excitación 780 nm, emisión 415-735, tamaño imagen 353.90x353.90 μm , resolución 1024x1024 pixeles. b) Imagen 3D del poliéster PEEF3000 (izquierda), reconstruida a partir de 45 imágenes a distintos Z se muestra el plano 0,15,30 y 45 μm (derecha) Fuente: Elaboración propia.	86
Figura 3.40. Imágenes de intensidad. (a) diagrama de fazor (b) imagen de intensidad con píxeles resaltados (c). tiempo de vida de fluorescencia de fase, modular y el promedio de ambos (d). Fuente: Elaboración propia.....	87



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Rendimientos de polímeros lineales a las dos h de reacción. Fuente: Elaboración propia.....	20
Tabla 2.2. Rendimientos de polímeros entrecruzados. Fuente: Elaboración propia.	25
Tabla 2.3. Rendimiento de polímeros entrecruzados fluorescentes. Fuente: Elaboración propia.....	35
Tabla 3.1. Masa molar de la unidad repetitiva aproximada (MU), masa molar promedio en masa (M_w), masa molar promedio en número (M_n), grado de polimerización promedio en peso (X_w), y grado de polimerización promedio número (X_n), dispersidad (\mathcal{D}). Fuente: Elaboración propia.....	42
Tabla 3.2. Temperatura de descomposición (DTG), entalpía de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (T_f), grado de cristalinidad (X_c)[78]. Fuente: Elaboración propia.	45
Tabla 3.3. Concentración micelar crítica de micelas directas con su respectivo tamaño de partícula. Fuente: Elaboración propia.	48
Tabla 3.4. Temperatura de descomposición (DTG), entalpía de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (T_f), grado de cristalinidad (X_c)[78] y temperatura de transición vítrea (T_g). Fuente: Elaboración propia.....	57
Tabla 3.5. Exponentes difusionales, para cada poliéster. Fuente: Elaboración propia.....	67
Tabla 3.6. Porcentaje difusión por mecanismo de Fick (F). Fuente: Elaboración propia.....	68
Tabla 3.7. Temperatura de descomposición (DTG), entalpía de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (T_f), grado de cristalinidad (X_c)[78] de la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia.....	80

1.1. Materiales derivados del petróleo

Desde sus inicios, la ciencia de las macromoléculas se ha dedicado a crear materiales poliméricos de alta estabilidad y de bajo costo, que han facilitado la vida de diversas maneras, ya sea a través de plásticos (envases, materiales biomédicos), fibras (industria textil), resinas y/o cauchos. La mayoría de estos materiales son derivados del petróleo cuyo principal problema, desde el punto de vista ambiental, es su alta estabilidad[1]. Los productos obtenidos demoran entre 500 a 600 años en degradarse, lo que provoca un impacto negativo al medio ambiente. Esta situación, en conjunto con la sobreexplotación de un recurso no renovable como es el petróleo ha llevado al mundo científico a centrar sus esfuerzos en sintetizar materiales biocompatibles o biodegradables a partir de fuentes renovables como los aceites naturales[2].

1.2. Aceites naturales

Una de las fuentes renovables más estudiadas en los últimos años, para ser usada en reemplazo de los productos petroquímicos, son los aceites naturales, ya que son una materia prima de bajo costo, biodegradable y al ser un recurso renovable no tóxico puede ser considerado biocompatible[3],[4]. Los aceites naturales han sido utilizados por décadas en la industria química y existe una gran diversidad de ellos. Entre los más conocidos se encuentran el aceite de linaza, canola, girasol y ricino[2].

La planta de donde se extrae el aceite de ricino recibe el nombre científico de *Ricinus communis* (Figura 1.1), pertenece a la familia tártago (*Euphorbiaceae*), es originaria de Asia tropical y África, y se ha naturalizado en numerosos países. En Chile crece de forma natural desde la zona central hacia el norte[5].



Figura 1.1. *Ricinus communis*. Fuente: web.

La química del aceite de ricino se centra en su alto contenido de ácido ricinoleico, el cual presenta en su estructura tres grupos funcionales importantes: (i) un grupo carboxilo que puede proporcionar una amplia gama de esterificaciones, (ii) un único punto de insaturación que puede ser modificado por hidrogenación o epoxidación, y (iii) un grupo hidroxilo que puede ser acetilado, alcoxlado, o bien puede ser eliminado por deshidratación para aumentar el número de insaturaciones del compuesto. Uno, de los muchos derivados del aceite de ricino es el undec-10-enoato de metilo, un compuesto comercial, cuya estructura se muestra en la siguiente figura[6],[7]:

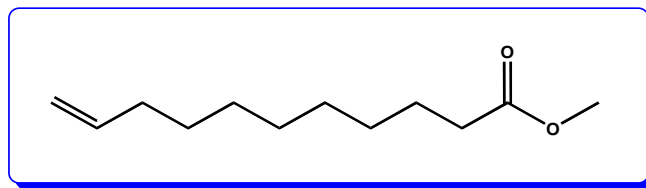


Figura 1.2. Estructura de undec-10-enoato de metilo. Fuente: Elaboración propia.

Este derivado ha sido ampliamente utilizado para producir nuevos materiales poliméricos como poliuretanos, poliamidas y poliésteres, lo cual lo hace apto para ser usado como materia prima en la producción de materiales poliméricos biocompatibles[8–11].

1.3. Poliésteres

Los poliésteres son una categoría de polímeros que contienen en su estructura el grupo funcional éster y fueron desarrollados previo a la segunda guerra mundial. Estos materiales son uno de los primeros polímeros sintéticos en aparecer, debido a que su síntesis se basa en la reacción de esterificación, la cual, era una de las más estudiadas de la época[12]. Si bien, los poliésteres naturales son conocidos desde 1830, ej. cutina[13], el término poliéster generalmente se refiere a los polímeros sintéticos. La utilización de los poliésteres a nivel industrial ha alcanzado gran importancia debido a la amplia variedad de productos obtenidos a partir de ellos, y a que estos presentan propiedades, tales como: alta transparencia, alta elasticidad, resistencia al desgaste, corrosión y a las arrugas, estabilidad química, térmica, dimensional y de forma[14],[15].

1.3.1. Tipos de poliésteres.

Los poliésteres se clasifican de manera general como aromáticos o insaturados, además, de acuerdo con su comportamiento térmico los poliésteres pueden ser clasificados como polímeros *termoplásticos* o *termofijos*:

Los poliésteres termoplásticos son aquellos que tienen la propiedad de deformarse o ser más flexibles a temperaturas relativamente altas, y se endurecen en un estado de transición vítrea cuando se enfrían lo suficiente. La propiedad de los polímeros termoplásticos de soportar altas temperaturas sin degradarse hace que éstos sean considerados reciclables, característica importante a nivel ambiental. Además, estos polímeros después de moldearse pueden recalentarse y formar nuevos productos. Ej. PET, PBT. *Los poliésteres termofijos* son aquellos que no se funden a elevadas temperaturas, sino que se degradan, siendo imposible volver a moldearlos, como por ejemplo la baquelita y caucho vulcanizado[16].

Considerando las propiedades de los monómeros que componen los poliésteres, se puede hablar de *poliésteres anfifílicos*, son aquellos que poseen en su estructura un segmento hidrofílico y un bloque hidrofóbico. Estos compuestos muestran un comportamiento de autoensamblaje molecular característico en solución, y generan estructuras nanométricas (de diferentes formas) que determinan la mayoría de las propiedades relevantes para su uso en materiales, productos farmacéuticos y tecnologías biomédicas. La habilidad que presentan estos polímeros de formar diversas nano-morfologías genera un campo de investigación muy versátil, debido a que los sistemas anfifílicos obtenidos pueden ser adaptados a diferentes aplicaciones. Por tanto, es fundamental el desarrollo de conocimiento básico sobre la relación estructura molecular y comportamiento de autoensamblaje de estos polímeros[17].

Por otro lado, el uso de monómeros que presentan la capacidad de emitir luz permite obtener *poliésteres fluorescentes*. Hoy en día, el interés en el diseño de polímeros fluorescentes se ha impulsado por la creciente demanda de análisis de biomoléculas[18], seguimiento de procesos biológicos[19], visualización de tejidos biológicos y eficacia terapéutica (liberación de fármacos)[20].

Otro tipo de poliésteres se basa en las diferentes estructuras tridimensionales que puedan formar, ya sea fibras o bien geles, las cuales, se forman dependiendo de la topología del polímero que se obtiene (Figura 1.3), y se clasifican[21],[22] en:

a) *Polímeros lineales*: Se forman cuando el monómero que lo origina tiene dos puntos de unión, de modo que la polimerización ocurre en ambos sentidos. Esta clase de polímeros suelen formar fibras, debido a que se alinean y se empaquetan fuertemente.

b) *Polímeros ramificados*: Son aquellos que presentan más de dos puntos de unión y, por tanto, presentan ramificaciones laterales. En este caso no hay formación de fibras, ya que son difíciles de empaquetar, sin embargo, podrían constituir geles debido a que las cadenas laterales pueden generar interacciones entre ellas, formando redes.

c) *Polímeros reticulados*: Son aquellos que poseen estructuras tridimensionales, donde sus cadenas se encuentran unidas unas a otras por enlaces laterales. Estos polímeros no se solubilizan, pero sí son muy deseados para sintetizar geles debido a su estructura de red y a su capacidad de hincharse en medio acuoso.

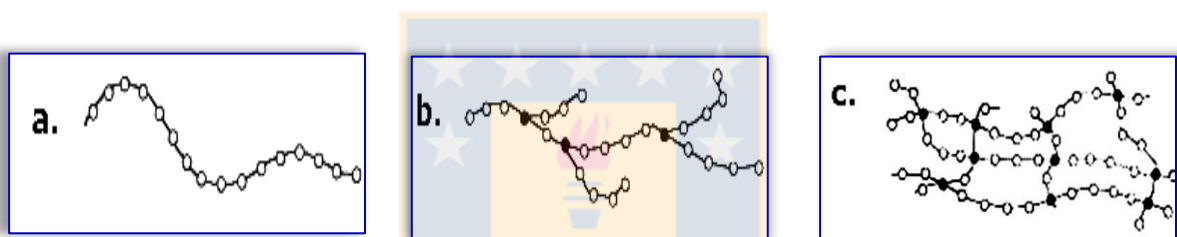


Figura 1.3. Topología de poliésteres. a) Polímero lineal; b) Polímero ramificado; c) Polímero entrecruzado. Fuente: web.

1.3.2. Obtención de Poliésteres

Existen dos rutas sintéticas a nivel industrial para la obtención de poliésteres, ambas son reacciones de policondensación a altas temperaturas que involucran monómeros multifuncionales, es decir, aquellos que en su estructura deben exhibir al menos dos grupos funcionales. La primera ruta es por esterificación, donde el proceso sintético involucra la utilización de un compuesto que presenta en su estructura dos ácidos carboxílicos, los cuales reaccionan frente a un diol. La segunda ruta es por transesterificación, que involucra la reacción entre un diéster frente a un diol, en presencia de un catalizador metálico como el óxido de titanio. Esta última ruta sintética es la más utilizada, ya que presenta varias ventajas. Algunas de ellas son:

- i- Los derivados de éster presentan bajos puntos de fusión en comparación con los ácidos carboxílicos, lo que permite realizar las reacciones a temperaturas menores, sin utilizar solvente lo que permite obtener poliésteres de elevadas masas molares.
- ii- Los monómeros ésteres presentan mayor solubilidad en alcoholes monoméricos.
- iii- Los poliésteres obtenidos presentan mayor grado de pureza.

La reacción de transesterificación es un proceso de equilibrio donde su progreso y el aumento en la masa molar del poliéster, depende de la eficiencia en la eliminación de una molécula pequeña del reactor, en el caso de una transesterificación proveniente de un éster metílico, metanol. Dependiendo del grado deseado de polimerización, diferentes medidas deben tomarse para desplazar el equilibrio hacia la formación de los productos[23].

1.4. Modificación del derivado de aceite de ricino (undec-10-enoato de metilo)

Para sintetizar poliésteres es necesario que los monómeros sean multifuncionales, específicamente para la reacción de transesterificación se requieren dos grupos ésteres. El derivado de aceite de ricino, undec-10-enoato de metilo, presenta en su estructura dos grupos funcionales diferentes, un grupo éster y un doble enlace que puede ser modificado mediante la reacción de hidrosililación. La estrategia propuesta por el grupo de *Riviere* para transformar el undec-10-enoato de metilo en un monómero que presente grupos ésteres metílicos libres, consiste en asociar dos o más moléculas de este compuesto con un grupo siloxano que puede ser lineal o cíclico como se muestra en la figura 1.4a[24,25].

Mediante la reacción de hidrosililación se produce la adición de hidruros de silicio a enlaces insaturados, un método eficiente para la formación de compuestos organosililados y representa una de las reacciones más importantes en la química del silicio[26]. Este proceso es muy utilizado en la industria para producir agentes de acoplamiento de silano y polímeros de silicona tales como aceites, cauchos y resinas. Esta reacción se lleva a cabo mediante una adición anti-Markovnikov, en presencia del catalizador de platino llamado “*catalizador Karstedt*” (Figura 1.4 b), el cual, es un

complejo de platino (0) que contiene ligandos de vinilo-siloxano y exhibe alta actividad, selectividad y, también, una excelente solubilidad en componentes sililados[27].

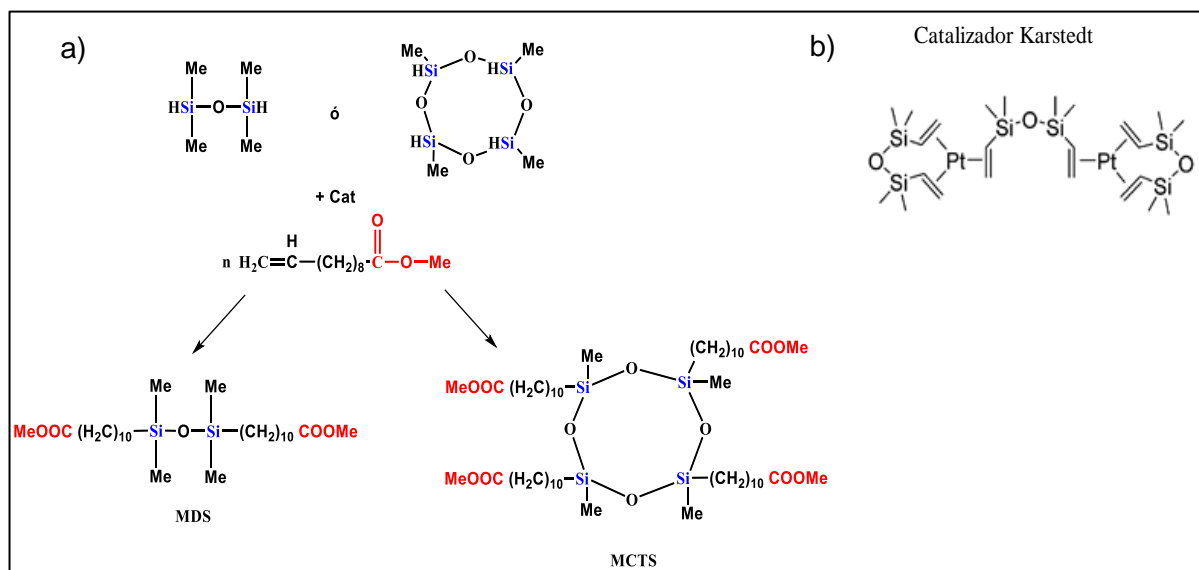


Figura 1.4. a) Esquema de la reacción de hidrosililación del undec-10-enoato de metilo usando un monómero siloxano lineal y cíclico. b) Estructura del catalizador de Karstedt. Fuente: Elaboración propia.

El mecanismo de reacción de hidrosililación depende de la naturaleza del catalizador utilizado. En el caso del catalizador de Karstedt, el ciclo catalítico, propuesto en 1965 por Chalk-Harrod[26] (Figura 1.5), consiste básicamente en una adición oxidativa-eliminación reductiva convencional: primero la adición oxidativa de silanos trisustituídos HSiR_3 al complejo metálico, seguido por la inserción migratoria del alqueno al enlace M-H, para luego someter el complejo metal (silil) (alquilo) resultante a una eliminación reductora mediante la formación del enlace Si-C y la regeneración del complejo metálico.

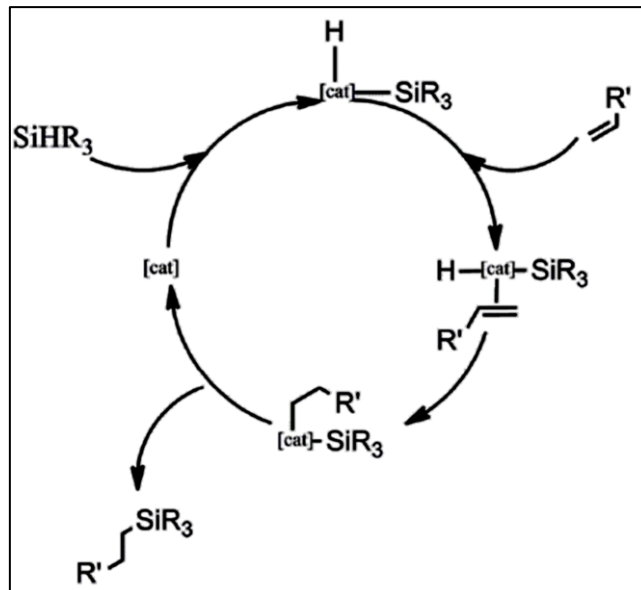


Figura 1.5. Mecanismo de Chalk Harrod para la hidrosililación de un alqueno. Fuente: Modificado de J. Matinson y colaboradores[26].

La modificación del derivado de aceite de ricino (undec-10-enoato de metilo), incorporando moléculas de siloxanos, le proporciona al monómero nuevas propiedades tales como: alta permeabilidad a gases, estabilidad térmica y química, baja temperatura de transición vítrea, baja tensión superficial y una excelente biocompatibilidad[28]. El origen de algunas de estas propiedades reside en la fuerza y flexibilidad del enlace Si-O, la baja fuerza interactiva entre los grupos metílicos geminales y el carácter iónico del enlace de siloxano[28]-[29]. La distancia del enlace Si-O es más corta que la suma de los radios covalentes (1.64 Å comparado con 1.76 Å) lo que le concede un carácter parcial de doble enlace. Además, la barrera de rotación alrededor del eje Si-O es de 2.5 kJ/mol para $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{O}$, y la barrera de linealización del ángulo Si-O-Si es de 1.3 kJ/mol, ambos muy bajos. Lo anterior, hace que la cadena de siloxanos sea extraordinariamente flexible, tanto que el ángulo Si-O-Si (140° - 180°), es mucho más ancho que el ángulo tetraédrico. Muchos autores atribuyen estas características al carácter fuertemente iónico del enlace Si-O, y a la hiperconjugación negativa $(\text{p}(\text{O}) \rightarrow \sigma^*(\text{Si-X}))_\pi$, en la cual X es un átomo electronegativo (O, N, F, Cl) [30],[31].

Es importante destacar que estos monómeros (diéster metílico y tetraéster metílico) presentan comportamiento anfílico y tienen la capacidad de formar nanoesferas o

bien nanopartículas en heptano o etanol, sin necesidad de formar un polímero (Figura 1.6). Donde la cadena del éster graso corresponde al segmento hidrofóbico y el grupo terminal éster ataño al bloque hidrofílico[24].

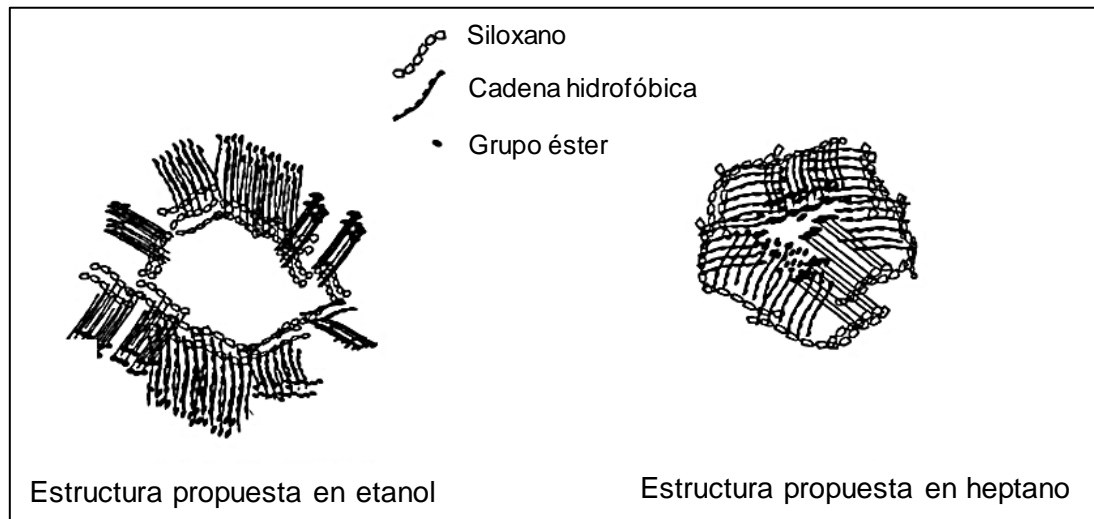


Figura 1.6. Comportamiento anfílico de los monómeros ésteres sililados. Fuente: Modificada de Riviere y colaboradores[24].

1.5. Obtención de polímeros anfílicos por policondensación con polietilenglicol.

Los polímeros anfílicos se obtienen por policondensación entre monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos. Los ésteres sililados descritos anteriormente (bloque hidrofóbico) condensan con dioles hidrofílicos para obtener poliésteres anfílicos. El polietilenglicol (PEG) es un diol comercial que se puede encontrar con diferentes masas molares. Este polímero presenta características y propiedades tales que se encuentra aceptado por la administración de alimentos y medicamentos de Estados Unidos (FDA)[32]. Algunas de las características son: buena solubilidad (medio acuoso u orgánico), habilidad para formar complejos con metales catiónicos, no toxicidad reportada y excelente biocompatibilidad[32,33]. Estas propiedades hacen del PEG un excelente candidato para obtener poliésteres anfílicos que puedan ser usados en el área de biomedicina (liberación de drogas, formación de hidrogeles, etc)[33–35].

Los poliésteres con propiedades anfílicas, pueden organizarse (en medio acuoso) en un núcleo hidrofóbico y en una envoltura hidrofílica generando estructuras conocidas

como “micelas” (Figura 1.7 a)[36]. Esta capacidad de autoensamblaje presenta gran relevancia en el área de los surfactantes y en biomedicina por su rol en la liberación de drogas[37],[38].

La formación de micelas se da por encima de la concentración micelar crítica (CMC), donde las moléculas se agregan espontáneamente en solución acuosa[36]. La CMC puede ser evaluada mediante espectroscopía de fluorescencia, utilizando una molécula hidrofóbica y fluorescente como pireno, que se posiciona en el centro de la micela (Figura 1.7 b), sufriendo un cambio de polaridad, por lo tanto, un cambio en sus propiedades fotoquímicas (corrimiento espectral). La capacidad de formar micelas es relevante, ya que se podría albergar una molécula huésped o bien encapsular analitos deseados para posteriormente ser liberados[39],[40].

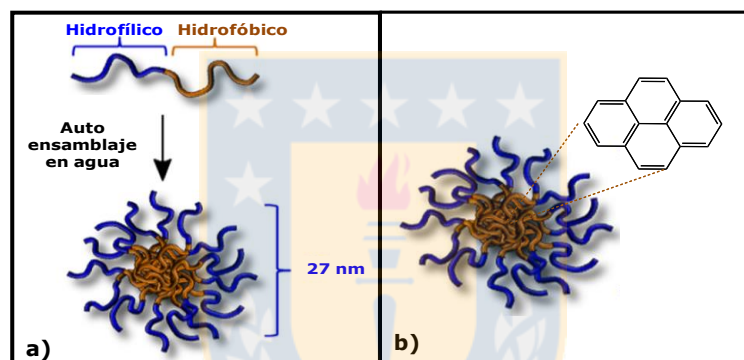


Figura 1.7.a) Ejemplo de formación de micela. b) Encapsulación de pireno en micela. Fuente: modificada de Scott M. Grayson y colaboradores[36].

Laurent y Grayson han reportado[41] la síntesis de homopolímeros anfifílicos que tienen la capacidad de formar estructuras micelares dinámicas, que presentan la propiedad de encapsular y liberar selectivamente moléculas huéspedes, dependiendo de la polaridad del disolvente. Si bien la estructura de los polímeros se ha dilucidado a través de técnicas espectroscópicas, aún se estudia cómo se organizan las moléculas al cambiar de un medio polar a uno no polar[42]. Existe, además, evidencia de la dependencia entre el tamaño de los segmentos, tanto hidrofílicos como hidrofóbicos, y la organización molecular que presentan estas micelas[36],[43].

1.6. Obtención de polímeros fluorescentes

Otro tipo de compuestos de interés en los últimos años son dioles que posean la capacidad de emitir luz, con el fin de obtener poliésteres fluorescentes[44]. La fluorescencia es la luz emitida por un átomo o molécula, posterior a una absorción de energía electromagnética, la cual, surge de la transición desde el estado fundamental (sencillo) al primer singlete excitado[45].

En los últimos 10 años, los polímeros con propiedades fluorescentes han recibido mucha atención, debido a su importancia como biosensores o como materiales fluorescentes. La incorporación de moléculas fluorescentes a materiales poliméricos se puede realizar básicamente por dos vías. Por unión covalente de una molécula fluorescente a la cadena polimérica, o bien a través de encapsulación física de partículas fluorescentes. Cuando la incorporación procede por unión covalente se pueden distinguir dos tipos de polímeros fluorescentes como se muestra en la siguiente figura:

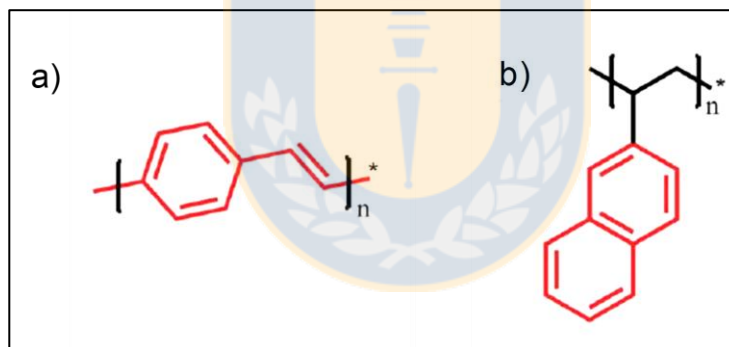


Figura 1.8. Tipos de polímeros fluorescentes. Fuente: Modificada de Yi Zhanga y Jian Yang[18].

- a. El fluoróforo es parte de la cadena principal, el cual puede sufrir apagamiento durante la polimerización.
- b. El grupo fluoróforo puede encontrarse como una ramificación de la cadena principal.

Este tipo de material fluorescente es utilizado como matriz para encapsular drogas con el fin de poder realizar seguimientos de estas, estudiar su comportamiento y visualizar en que órgano o célula se ha liberado[18].

Existen variadas clases de materiales o compuestos que son utilizados como emisores fluorescentes:

- I. Emisores fluorescentes pequeños: Son sondas orgánicas u organometálicas (Figura 1.9), que generalmente consisten en estructuras de anillo π conjugado tal como xantenos, pirenos o cianinas. Estos fluoróforos están disponibles comercialmente y pueden ser adaptados a aplicaciones particulares cambiando la química de sus grupos sustituyentes. El pequeño tamaño de la sonda (~1 nm) lo convierte en una excelente opción para muchas aplicaciones, sobre todo en biología[46].

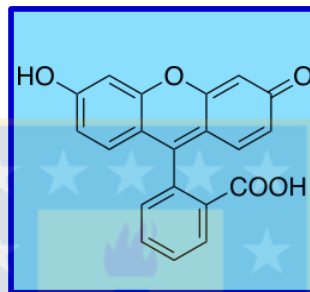


Figura 1.9. Fluoresceína, ejemplo de emisores fluorescentes pequeños. Fuente: Modificado de Daniel C. Harris[47].

- II. Proteínas fluorescentes: De gran interés para los biólogos por su capacidad para indicar los niveles de expresión genética en los sistemas vivos. Aunque su emisión de fluorescencia es similar a las sondas orgánicas, las proteínas fluorescentes son fundamentalmente diferentes de otros marcadores, debido a que el cromóforo se forma al establecerse la estructura terciaria conocida como barril beta. La proteína verde es un ejemplo de este tipo de marcador fluorescente biológico (figura 1.10) [48].

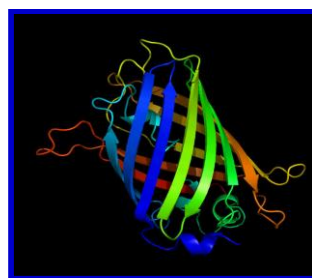


Figura 1.10. Proteína verde fluorescente. Fuente: Modificado de Roger Y. Tsien[48].

III. Quantum Dots (Puntos cuánticos) semiconductores coloidales (QDs). Estas nanopartículas (Figura 1.11) son generalmente fabricadas de PbS, CdSe, u otros semiconductores, su dimensión es entre 2-50 nm, y la emisión que presentan depende de su tamaño. Son usados en el área de optoelectrónica, biomedicina, paneles solares experimentales. etc. Sin embargo, su toxicidad biológica ha restringido su utilización[49].

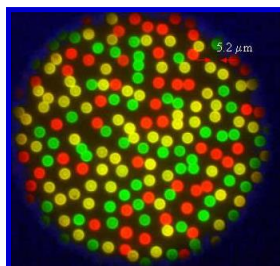


Figura 1.11. Imagen de Quantum Dots. Fuente: modificado de Medints y colaboradores[49].

Cabe destacar que la principal ventaja de utilizar moléculas fluorescentes en la preparación de materiales poliméricos, reside en que tanto la molécula como la nanoestructura que ellas formen (micelas o matrices etc.) estarán dotadas de las características propias de las moléculas fluorescentes, esto implica una alta sensibilidad de detección (rango micro molar) para las moléculas solubles, y para aquellas moléculas capaces de formar matrices tridimensionales, tienen la posibilidad de ser estudiadas por técnicas de microscopía de fluorescencia[50–53]. La microscopía de fluorescencia permite la obtención de imágenes de alta nitidez y contraste, y en su modalidad confocal es posible obtener "secciones ópticas" de la muestra, permitiendo estudios estructurales tridimensionales. Esta técnica además de ser no invasiva, requiere un mínimo de preparación previa en comparación con otras técnicas existentes[54–56].

Algunas de las moléculas que se han utilizado para obtener poliésteres fluorescentes, donde las sondas se encuentran presentes en la cadena principal del polímero se muestra en la figura 1.12.

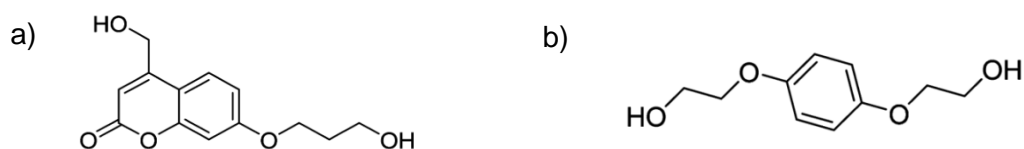


Figura 1.12. Estructura de los fluoróforos a) 4-(hidroximetil)-7-(3-hidroxipropoxi)cumarina b) 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi))dietanol. Fuente: Elaboración propia

La estructura de la molécula 4-(hidroximetil)-7-hidroxycumarina (Figura 1.12a), es conocida como cumarina diol (CUD), pertenece a la familia de las cumarinas (2*H*-1-benzopiran-2-ona) que constan de una amplia clase de sustancias fenólicas que se encuentran en plantas y están conformados por un anillo de benceno y α -pirona fusionados[57]. Esta clase de compuestos presentan diversas ventajas entre los fluoróforos ya existentes: su rendimiento cuántico es relativamente alto, su estructura permite, al sufrir reacciones de policondensación, formar parte de la cadena central y no pierde la habilidad de emitir luz[58]. Además, esta molécula no ha sido reportada como tóxica[59] y es considerada biocompatible, lo que la hace de gran interés como sonda fluorescente[60].

Por otro lado, la 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi)) dietanol (Figura 1.12 b), pertenece a la familia de las hidroquinonas, la cual, es un producto comercial que presenta propiedades de biocompatibilidad similares a CUD. Esta hidroquinona ha sido utilizada por el grupo de Abraham Joy para sintetizar poliésteres, en copolimerización con CUD, con el fin de ayudar a aumentar las propiedades fotoquímicas del poliéster y mejorar sus propiedades mecánicas[58].

1.7. Formación de fibras y geles

Los poliésteres se pueden encontrar en diferentes estructuras tridimensionales, tales como fibras (aplicables en textiles, envases, tecnología médica, etc[61]) así como también geles o hidrogeles, (útiles como dispositivos para la liberación controlada de sustancias farmacológicas, o como biomateriales en ingeniería de tejidos[62]).

Existe una amplia variedad de materiales clasificados como fibras, donde se incluyen productos tanto naturales como sintéticos, de origen orgánicos e inorgánicos. La clasificación de una sustancia como fibra, depende más de su forma que de cualquier

otra propiedad. Una definición corriente exige que su longitud sea al menos 100 veces más que su diámetro. Entre las fibras naturales se encuentran el algodón, la lana y el lino, y algunas fibras sintéticas son el nylon y el tereftalato de polietileno[63].

Por otro lado, con el nombre de gel se designa a un gran número de sistemas coloidales dispares cuyo punto en común es el de poseer, bajo determinadas condiciones, un comportamiento análogo al de los sólidos. Ello implica que los geles poseen una estructura continua a escala macroscópica y presenta cierto grado de permanencia. Además, un gel presenta la propiedad única de incorporar y retener cantidades de disolvente que sobrepasan la proporción del componente básico. Por todo ello, la definición topológica implica que un gel debe comportarse mecánicamente como un sólido cuando se aplica una tensión, en determinado periodo de tiempo[64].

Cuando un gel incorpora en su estructura un disolvente como agua pasa a llamarse hidrogel, y cuando el disolvente utilizado es orgánico lleva el nombre de organogel. La habilidad de incorporar y retener agua en su estructura surge por la presencia de segmentos o grupos funcionales hidrofílicos unidos a la red polimérica, mientras que su resistencia a disolverse surge por la presencia de puntos de entrecruzamiento, o bien de interacciones, dependiendo si es un gel químico (presencia de enlaces covalentes) o físico (interacciones de Van der Waals)[65],[64].

El contenido de agua de un hidrogel determina sus características fisicoquímicas únicas, que pueden asemejarse a las de los tejidos vivos más que cualquier otra clase de biomateriales sintéticos, sus características son: consistencia suave, elástica, y baja tensión interfacial cuando entran en contacto con agua o fluidos biológicos. La estructura porosa del hidrogel permite la carga de analitos (fármacos, fertilizantes, etc.) en su matriz y los protege de entornos hostiles, como la presencia de enzimas o un bajo pH. Además, los hidrogeles pueden controlar la liberación del analito debido a cambios (hinchamiento o degradación) en la estructura del gel en respuesta a estímulos internos o externos[66],[67]. Por esta razón es importante realizar estudios tales como: grado de entrecruzamiento, encapsulación y liberación de analitos, de modo que permita visualizar el porcentaje de liberación. Además, es importante realizar ensayos de grado de hinchamiento para caracterizar de mejor manera los polímeros que formen geles.

El propósito final de esta Tesis Doctoral es la obtención de poliésteres tanto lineales como reticulados a partir de derivados sililados del aceite natural undec-10-enoato de metilo de modo de obtener poliésteres biocompatibles. Se plantea preparar poliésteres anfífilos o fluorescentes. Los polímeros al ser sintetizados con PEG de diferentes masas molares, se espera sea un polímero con propiedades anfífilas. En segunda instancia se obtendrán polímeros fluorescentes, con el fin de ayudar a dilucidar la estructura y organización de los nuevos polímeros. Además, ambos tipos de poliésteres serán clasificados como fibras o geles, mediante las técnicas adecuadas.

Finalmente, la primera parte de esta tesis consistirá en la preparación de monómeros sililados derivados del undec-10-enoato de metilo (monómero lineal y cíclico), los cuales poseen propiedades de biocompatibilidad, la capacidad de organizarse en forma de nanoesferas o nanopartículas, con características hidrofóbicas cuando se incorporan en una estructura polimérica. Posteriormente la asociación de estos monómeros por policondensación con PEG, permitiría la formación de polímeros anfífilos, con estructuras tanto lineales como entrecruzadas, donde se espera obtener fibras cuando sean polímeros lineales y geles cuando sean polímeros reticulados. Sus morfologías serán confirmadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) o por microscopía de luz polarizada (MOP).

La segunda parte del proyecto consistirá en sintetizar poliésteres fluorescentes, a partir de los monómeros antes descritos mediante policondensación con moléculas fluorescente como la hidroquinona y cumarina diol. Los poliésteres resultantes serán caracterizados por microscopía de fluorescencia confocal, para obtener información acerca de la inserción de la molécula fluorescente en la red polimérica, además de información estructural de los nuevos polímeros.

1.8. Hipótesis

La transformación química del undec-10-enoato de metilo, derivado del aceite natural ricino, permite obtener monómeros multifuncionales vía reacción de hidrosililación. Estos monómeros diéster y tetraéster cíclico presentan características hidrofóbicas, que debieran poder condensar con:

I. Dioles hidrofílicos como polietilenglicol de diferentes masas molares, para sintetizar y estudiar poliésteres sililados con propiedades anfífilas, que sean tanto lineales como reticulados.

II. Dioles fluorescentes como cumarina diol (CUD) e hidroquinonas, para sintetizar nuevos poliésteres sililados con la propiedad de emitir luz, que permitirían determinar su organización estructural con técnicas de alta sensibilidad, como la microscopía de fluorescencia confocal.

Estos polímeros podrían ser un punto de partida para la generación de nuevos poliésteres con características biocompatibles deseables en biomateriales.

1.9. Objetivos

1.9.1. Objetivo general

Obtener nuevos poliésteres lineales y reticulados con propiedades anfífilas y/o fluorescentes, a partir del derivado de aceite de ricino undec-10-enoato de metilo, mediante reacciones de policondensación entre ésteres sililados y diferentes alcoholes (polietilenglicol y cumarina diol).

1.9.2. Objetivos específicos

1. Sintetizar tanto el monómero di-éster sililado (MDS) como el monómero cíclico tetra-éster sililado (MCTS) a partir de undec-10-enoato de metilo y caracterizarlos mediante técnicas espectroscópicas. (FT-IR, ^1H y ^{13}C RMN).

2. Sintetizar polímeros anfífilos por policondensación de monómeros sililados tanto lineal como cíclico, con la serie de dioles de polietilenglicol de diferentes largos de cadena (PEG 400; PEG1000; PEG1500; PEG 2000; PEG3000).

3. Caracterizar cada polímero obtenido en el punto 2, con técnicas espectroscópicas adecuadas tales como FT-IR, ^1H -RMN, ^{13}C -RMN. Otros estudios fisicoquímicos tales como cromatografía de exclusión molecular (GPC); análisis calorimétrico (TGA y DSC); microscopía electrónica de transmisión (TEM); microscopía de barrido electrónica (SEM).

4. Realizar estudios de concentración micelar crítica, en agua y en cloroformo, y estudios de tamaño de partícula (DSL).
5. Sintetizar cumarina diol (CUD) y caracterización mediante técnicas espectroscópicas. (FT-IR, ^1H y ^{13}C -RMN).
6. Sintetizar polímeros fluorescentes por policondensación de monómeros sililados tanto lineales como ramificados con moléculas orgánicas fluorescentes, tales como la cumarina diol (CUD), hidroquinona, y la combinación de estas en diferentes proporciones.
7. Caracterizar cada polímero obtenido en el punto 6, por técnicas espectroscópicas tales como FT-IR, RMN ^1H , RMN ^{13}C . Además, estudios fisicoquímicos tales como; análisis calorimétrico (TGA y DSC); microscopía de barrido electrónica (SEM).
8. Preparar fibras y geles, según corresponda, los cuales serán analizados mediante SEM, microscopía óptica (MOP). Los polímeros resultantes del punto 6 serán analizados a través de microscopía confocal de fluorescencia.



2.1. Obtención y caracterización de monómeros sililados

2.1.1. Obtención y caracterización del monómero di-éster sililado (MDS)

La síntesis se llevó a cabo mediante la reacción de hidrosililación (Figura 2.1) entre 0.68 g de 1,1,3,3-tetrametildisiloxano (CAS 3277-26-7, Merck) y 2.0 g de undec-10-enoato de metilo (CAS 111-81-9, Merck), utilizando 0.03 mmol del catalizador Karstedt 1% (platino (0)-1,3-divinil-1,1,3,3-tetrametildisiloxano, CAS 68478-92-2 Sigma Aldrich), en presencia de 4 mL de tolueno (CAS 108-88-3, Merck) seco a 80°C por 4 h, luego se destiló el solvente y purificó en una columna flash con una mezcla de hexano/acetato de etilo 7:3, obteniéndose, previa evaporación del solvente el producto puro 2.36 g, obteniendo un 88% de rendimiento. La estructura de este monómero se confirmó por análisis espectroscópicos FT-IR, ¹H-RMN y ¹³C-RMN.[24]

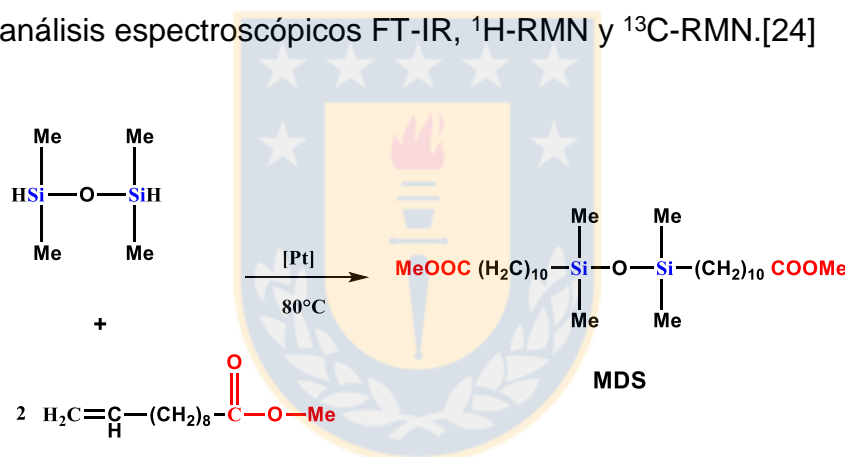


Figura 2.1. Esquema de la reacción de hidrosililación para la formación del monómero lineal sililado. Fuente: Modificado de Riviere y colaboradores[24].

Caracterización de MDS: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 1743 (CO), 1253 (SiMe), 1067–1172 (SiOSi). ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm): 0.05 (s, 12H, CH₃Si); 0.51 (t, 4H, CH₂Si); 1.28 (s, 28H, (CH₂)₇); 1.64 (m, 4H, CH₂CH₂CO); 2.32 (t, 4H, CH₂CO); 3.69 (s, 6H, CH₃O). ¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm): 0.38 (CH₃Si); 18.4 (CH₂Si); 21.0, 22.6, 23.3, 24.9, 29.3, 29.4, 29.5, 33.4 ((CH₂)₈); 34.1 (CH₂-CO); 51.5 (OCH₃); 174 (CO).

2.1.2. Obtención y caracterización del monómero cíclico tetra-éster sililado (MCTS)

La síntesis se llevó a cabo mediante la reacción de hidrosililación (Figura 2.2) entre 0.6 g de 2,4,6,8-tetrametilciclotetrasiloxano (CAS 2370-88-9, Merck) y 2.0 g de undec-10-enoato de metilo (CAS 111-81-9, Merck), utilizando el catalizador Karstedt 1% (platino (0)-1,3-divinil-1,1,3,3-tetrametildisiloxano, CAS 68478-92-2 Sigma Aldrich), en presencia de 2 mL tolueno (CAS 108-88-3, Merck) seco, a 40°C por 6 h, posteriormente se destiló el solvente y el crudo se purificó mediante una columna flash, usando una mezcla de hexano/acetato de etilo 7:3, obteniéndose, previa evaporación del solvente, 2.1 g de producto puro, que corresponde a un 89% de rendimiento [24].

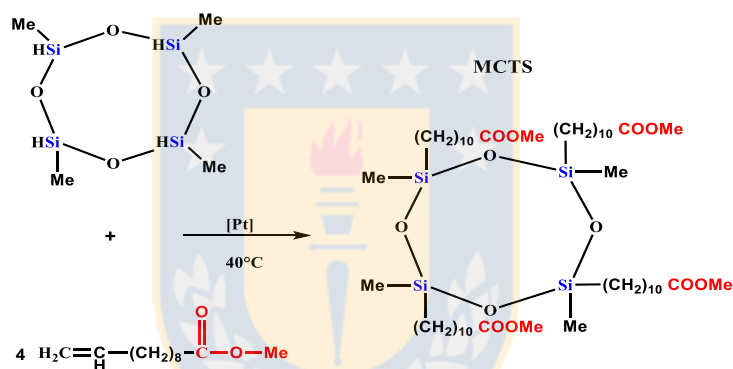


Figura 2.2. Esquema de la reacción de hidrosililación para la formación del monómero cíclico sililado. Fuente: Modificado de Riviere y colaboradores[24].

Las estructuras de ambos monómeros fueron confirmadas por análisis espectroscópico FT-IR usando un espectrómetro Nicolet Magna 550, en tanto, los espectros de RMN ^1H y ^{13}C se obtuvieron usando un Bruker Avance 400 MHz con CDCl_3 como solvente y tetrametilsilano como referencia interna.

Caracterización de MCTS: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 1742 (CO), 1257 (SiMe), 1079–1172 (SiOSi). ^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0.08 (s, 12H, CH_3Si); 0.53 (t, 8H, CH_2Si); 1.28 (s, 56H, $(\text{CH}_2)_7$); 1.64 (m, 8H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$); 2.32 (t, 8H, CH_2CO); 3.69 (s, 12H, CH_3O). ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 0.60 (CH_3Si); 17.2 (CH_2Si); 23.0, 25.0, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 33.2 ($(\text{CH}_2)_8$); 34.1 ($\text{CH}_2\text{-CO}$); 51.6 (OCH_3); 175 (CO).

2.2. Obtención de poliésteres anfifílicos

2.2.1. Obtención y caracterización de poliésteres anfifílicos lineales

Se sintetizaron a partir de la reacción de transesterificación entre el monómero MDS y polietilenglicol con diferentes largos de cadena 400, 1000, 1500, 2000 y 3000 g/mol (CAS 25322-68-3, Merck), los cuales, fueron adquiridos en Merck, de igual forma que el catalizador tetrabutóxido de titanio $Ti(OBu)_4$ (CAS 5593-70-4, Merck)

El procedimiento utilizado fue el mismo para todos los polímeros lineales obtenidos (Figura 2.3), el cual consistió en añadir 0.94 mmol de PEG con 0.03 mmol de $Ti(OBu)_4$ a 0.94 mmol del monómero diéster (MDS) en agitación. La mezcla se calentó a 180°C y la presión se redujo a 0.66 mbar. Cuando se alcanzó la temperatura, esta se mantuvo constante, y se empezó a contabilizar el tiempo de polimerización. La reacción se realizó a tres tiempos diferentes, con el fin de obtener la masa molar mayor (1, 2, 3 h), la polimerización es interrumpida disminuyendo la temperatura, hasta llegar a temperatura ambiente, además, el poliéster no recibe ningún tratamiento posterior. Cabe señalar que, todos los poliésteres presentaron un carácter sólido de aspecto elastómero, excepto el poliéster sintetizado con PEG 400, que resultó ser líquido.

La nomenclatura utilizada para nombrar los diferentes poliésteres lineales (PEL) presenta la masa molar de PEG de partida, seguido del tiempo de polimerización: por ejemplo, PEL400-1, corresponde, al poliéster procedente de polietilenglicol con masa molar de 400 g/mol obtenido después de una hora de polimerización. El rendimiento para cada polímero se presenta en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Rendimientos de polímeros lineales a las dos h de reacción. Fuente: Elaboración propia.

Poliéster	PEL400	PEL1000	PEL1500	PEL2000	PEL3000
Rendimiento (%)	78	75	72	76	74

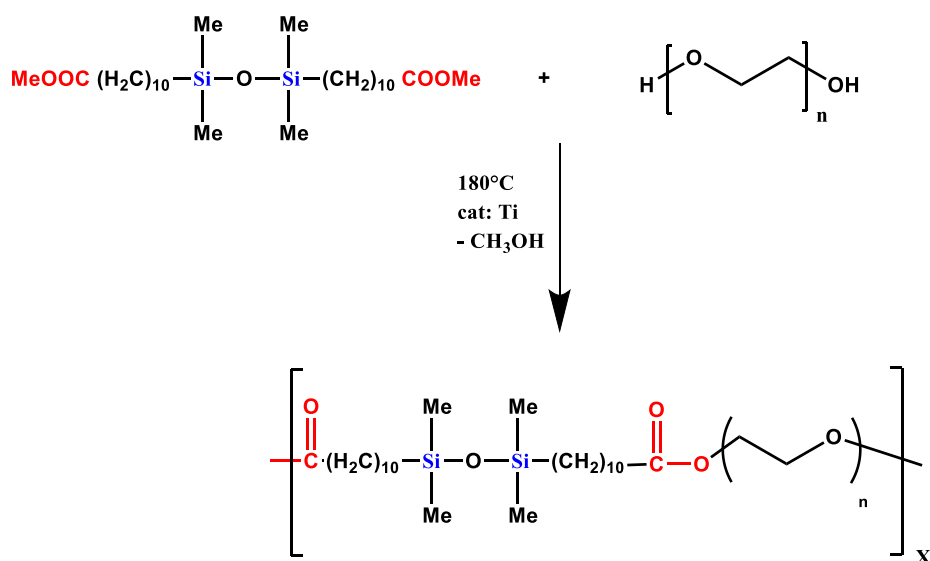


Figura 2.3. Esquema de la ruta sintética para la obtención de poliésteres anfifílicos lineales. Fuente: Elaboración propia.

La caracterización se llevó a cabo mediante $^1\text{H-RMN}$ y ^{13}C usando un espectrómetro Bruker Avance de 400 MHz, con CDCl_3 como disolvente y tetrametilsilano como patrón interno. Los análisis espectroscópico FT-IR se determinaron utilizando un espectrómetro Nicolet Magna 550 y los análisis elementales se realizaron usando un analizador elemental Perkin-Elmer 240C.

Caracterización de PEL400-2 ($X = 18$): FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3506 (OH grupo terminal), 2922–2860 (C–H sp^3), 1736 (C=O), 1113 (C–O). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 0.03 (SiCH_3), 0.5 (SiCH_2), 1.27–1.63 ($(\text{CH}_2)_8$), 2.27 (CH_2CO), 3.67 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.22 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{O}$). $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 0.40 (SiCH_3), 18.4 (CH_2Si), 23.3, 24.9, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 33.5, 34.2 ($(\text{CH}_2)_9$), 69.2 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCO}$), 70.6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 174 (C=O), 70.3, 72.6 ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCO}$). Análisis elemental (%) para $(\text{C}_{44}\text{H}_{88}\text{O}_{13}\text{Si}_2)_x$, teórico: C 60.00, H 10.00; experimental: C 59.55, H 10.37.

Caracterización de PEL1000-2 ($X = 21$): FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3450 (OH grupo terminal), 2922–2863 (C–H sp^3), 1735 (C=O), 1111 (C–O). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3): δ 0.04 (SiCH_3), 0.46 (SiCH_2), 1.23–1.58 ($(\text{CH}_2)_8$), 2.27 (CH_2CO), 3.61 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.2 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{O}$). $^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3): δ 0.62 (SiCH_3), 18.0 (CH_2Si), 22.9, 24.5, 28.7, 28.9, 29.0, 29.1, 29.6, 33.1, 33.8 ($(\text{CH}_2)_9$), 68.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCO}$), 70.1 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 173

(C=O), 69.8,72.2 (HOCH₂CH₂O, OCH₂CH₂OCO). Análisis elemental (%) para (C₇₀H₁₄₀O₂₆Si₂)_x teórico: C 57.85, H 9.64; experimental: C 57.11, H 9.94.

Caracterización de PEL1500-2 (X = 14): FT-IR (KBr) cm⁻¹: 3453 (OH grupo terminal), 2886 (C–H sp³), 1737 (C=O), 1112 (C–O). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.00 (SiCH₃), 0.46 (SiCH₂), 1.23 –1.59 ((CH₂)₈), 2.30 (CH₂CO), 3.62 (OCH₂CH₂O), 4.18 (COCH₂CH₂O). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 0.3 (SiCH₃), 18.4 (CH₂Si), 23.3, 24.9, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 33.5, 34.2 ((CH₂)₉), 68.8 (OCH₂CH₂OCO), 70.1 (OCH₂CH₂O), 173.4 (C=O), 69.9,72.2 (HOCH₂CH₂O, OCH₂CH₂OCO). Análisis elemental (%) para (C₉₄H₁₈₈O₃₈Si₂)_x, teórico: C 56.97, H 9.49; experimental: C 56.22, H 10.01.

Caracterización de PEL2000-2 (X = 12): FT-IR (KBr) cm⁻¹: 3451 (OH grupo terminal), 2887 (C–H sp³), 1738 (C=O), 1111(C–O). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.03 (SiCH₃), 0.48 (SiCH₂), 1.27–1.63 ((CH₂)₈), 2.33 (CH₂CO), 3.66 (OCH₂CH₂O), 4.22 (COCH₂CH₂O). ¹³C-RMN (CDCl₃): δ 0.4 (SiCH₃), 18.4 (CH₂Si), 23.2, 24.9, 29.1, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 33.4, 34.2 ((CH₂)₉), 69.2 (OCH₂CH₂OCO), 70.5 (OCH₂CH₂O), 173.4 (C=O), 71.9,72.6 (HOCH₂CH₂O, OCH₂CH₂OCO). Análisis elemental (%) para (C₁₁₆H₂₃₂O₄₉Si₂)_x, teórico: C 56.49, H 9.42; experimental: C 55.98, H 10.07.

Caracterización de PEL3000-2 (X = 9): FT-IR (KBr) cm⁻¹: 3495 (OH grupo terminal), 2888 (C–H sp³), 1739 (C=O), 1111(C–O). ¹H-RMN (CDCl₃): δ 0.01 (SiCH₃), 0.47 (SiCH₂), 1.24–1.58 ((CH₂)₈), 2.31 (CH₂CO), 3.63 (OCH₂CH₂O), 4.22 (COCH₂CH₂O). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 0.4 (SiCH₃), 18.5 (CH₂Si), 23.4, 24.5, 29.0, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 33.5, 34.3((CH₂)₉), 63.4 (OCH₂CH₂OCO), 70.6 (OCH₂CH₂O), 173.6 (C=O). Análisis elemental (%) para (C₁₆₂H₃₂₄O₇₂Si₂)_x, teórico: C 55.93, H 9.32; experimental: C 55.25, H 9.76.

La cromatografía de permeación en gel (GPC) se realizó usando un instrumento Perkin Elmer Series 200 a 20 °C con un detector de índice de refracción. Todas las pruebas se realizaron con tetrahidrofurano (THF) como eluyente a una velocidad de flujo de 0.5 mL min⁻¹. Se obtuvo una curva de calibración de masa molecular con estándares de poli (estireno) en un intervalo de masa molecular de 580 a 3 200 000 g/mol. La masa promedio en número (Mn) y la masa promedio en masa (Mw) fueron evaluados a partir de estas mediciones.

Los análisis termogravimétricos (TGA) se realizaron usando un instrumento Netzsch TG209 F1 IRIS en cápsulas de platino a velocidades de calentamiento prescritas de

10°Cmin⁻¹ en un rango entre 20 a 500°C bajo un flujo constante de nitrógeno de 20 mL min⁻¹.

El comportamiento calorimétrico se estudió mediante DSC utilizando un calorímetro de barrido diferencial Netzsch DSC 204 F1 Phoenix. Las muestras (aproximadamente 6-9 mg) se colocaron dentro de cápsulas de aluminio y se calentaron bajo un flujo de nitrógeno a 20 mL min⁻¹, variando de 50 a 300°C, a una velocidad de calentamiento de 20°C min⁻¹.

Con el objetivo de minimizar las diferencias en el historial térmico de las muestras, se obtuvieron los termogramas correspondientes, considerando las temperaturas de descomposición detectadas en TGA, de acuerdo con el siguiente programa de temperatura: calentamiento desde 50 hasta 300°C (etapa dinámica), etapa isotérmica a 300°C (estática), enfriamiento hasta -50°C (etapa de enfriamiento dinámico), etapa isotérmica a -50°C (estática) y calentamiento hasta 300°C (dinámico).

Por otro lado, la preparación de las fibras se realizó según el siguiente procedimiento: el polímero se colocó en una placa de vidrio y luego se calentó hasta su fusión. Una vez el polímero estaba en su punto de fusión se retiró la placa del calentador y se sumergió un capilar de vidrio cerrado. Posteriormente, se extrajo el capilar para formar la fibra, que se depositó en otra placa de vidrio, las cuales fueron caracterizadas por MOP (microscopía óptica polarizada) utilizando un microscopio óptico Olympus BX51 equipado con un polarizador Olympus U-TV0.5XC-3 y un controlador de temperatura LinkamT95-PE.

Formación de micelas

a) Formación de micelas directas

El valor de la concentración micelar crítica (CMC) de los poliésteres anfifílicos lineales se determinó mediante espectroscopía de fluorescencia en estado estacionario, usando como sonda fluorescente pireno (129-00-0, Merck). Se usó una solución acuosa saturada de pireno para preparar soluciones de poliésteres entre 0.001 a 0.1 mg mL⁻¹. Los espectros de excitación de pireno se adquirieron usando el espectrómetro de fluorescencia QuantaMaster de Photon Technology International Inc, en el rango de 300 a 370 nm, con una longitud de onda de emisión de 383 nm. La

CMC de la serie se obtuvo a partir del gráfico relación de intensidad de fluorescencia 337/334 nm frente al logaritmo de la concentración de poliéster[68].

b) Formación de micelas inversas

El valor de la concentración micelar crítica (CMC) de los poliésteres anfifílicos lineales se logró mediante espectroscopía de fluorescencia en estado estacionario usando piranina (8-hidroxipireno-1, 3, 6-trisulfonato de sodio) como sonda fluorescente (6358-69-6, Sigma Aldrich). Se usó una solución cloroformo/metanol 9:1 (67-66-3; 67-56-1, Merck), respectivamente, con una cantidad micrométrica de la sonda, para preparar soluciones de poliésteres entre 0.005 a 0.9 mg mL⁻¹. Los espectros de emisión de piranina se adquirieron usando el espectrómetro de fluorescencia QuantaMaster de Photon Technology International Inc. en el rango de 410 a 460 nm, con una longitud de onda de excitación de 406 nm. La CMC de la serie se obtuvo a partir del gráfico relación de intensidad de fluorescencia 430/424 nm frente a la concentración de poliéster.

Ambas micelas fueron estudiadas mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) la cual se llevó a cabo utilizando un instrumento JEOL 1200EXII con un voltaje de activación de 120 kV. Para la preparación de la muestra, se colocó una gota de cada solución de polímero sobre una rejilla de cobre revestida con carbono, seguido de tinción con solución de acetato de uranilo al 2% (p/v) y secado a temperatura ambiente. El diámetro hidrodinámico de las partículas micelares se obtuvo mediante dispersión dinámica de la luz (DLS) usando un instrumento Brookhaven 90Plus. Se aplicó un láser de 35 mW a 532 nm.

2.2.2 Obtención y caracterización de poliésteres anfifílicos entrecruzados

Se sintetizaron a partir de la reacción de transesterificación entre el monómero MCTS y polietilenglicol con diferentes largos de cadena 400, 1000, 1500, 2000, 3000, 6000g/mol (CAS 25322-68-3, Merck) los cuales fueron adquiridos en Merck, de igual forma que el catalizador tetrabutóxido de titanio de titanio Ti(OBu)₄ (CAS 5593-70-4, Merck)

El procedimiento utilizado fue el mismo para todos los polímeros entrecruzados obtenidos (Figura 2.4). Este consistió en añadir 1.88 mmol de PEG con 0.03 mmol de

Ti(OBu)₄ a 0.94 mmol del monómero de tetraéster (MCTS) en agitación. La mezcla se calentó a 180°C y la presión se redujo a 3.0x10⁻² mbar. Cuando la temperatura se alcanzó, se mantuvo a este valor por 1 h, pasado este tiempo la polimerización es interrumpida disminuyendo la temperatura, para luego lavar los poliésteres con cloroformo. Estos polímeros serán designados con la abreviatura de “PEE”, que indica que es un poliéster entrecruzado, seguido de la masa molecular de PEG utilizado, ejemplo PEE400. El rendimiento para cada polímero se presenta en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Rendimientos de polímeros entrecruzados. Fuente: Elaboración propia.

Poliéster	PEE400	PEE1000	PEE1500	PEE2000	PEE3000	PEE6000
Rendimiento(%)	80	81	87	90	97	89

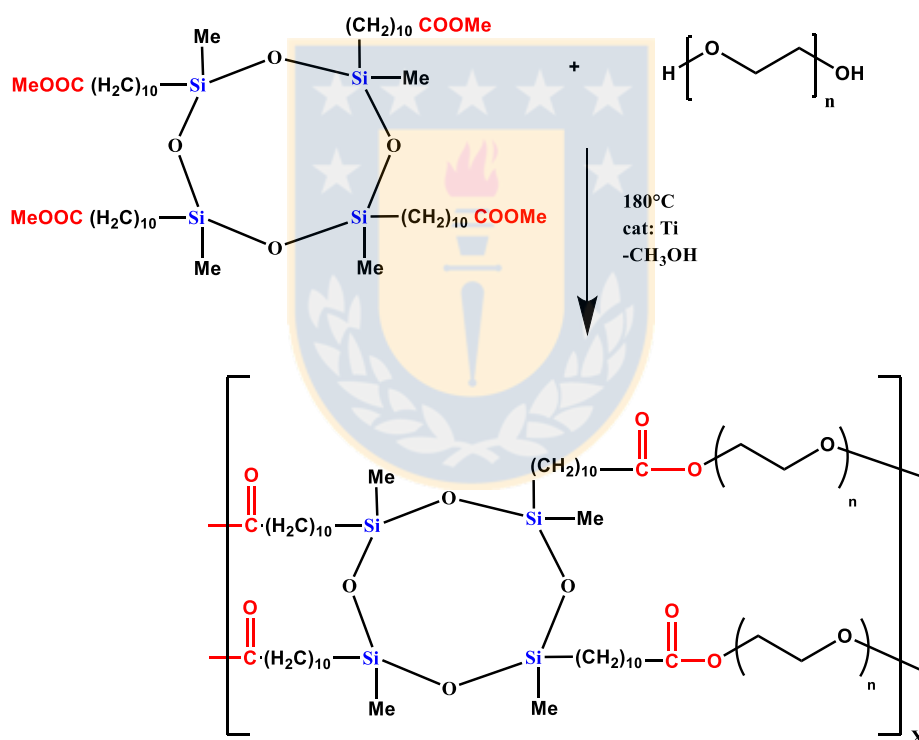


Figura 2.4. Esquema ruta sintética para la obtención de poliésteres anfifílicos entrecruzados. Fuente: Elaboración propia.

La caracterización de ¹H-RMN se llevó a cabo mediante HR-MAS utilizando un espectrómetro Bruker Avance de 400 MHz, con D₂O como disolvente y tetrametilsilano como patrón interno. Por otro lado, ¹³C y ²⁹Si, se llevaron a cabo mediante CP-MAS, utilizando un espectrómetro Bruker Avance 400 MHz equipado con un imán superconductor de 89 mm de diámetro y 9.4 T de diámetro (Larmor frecuencias para

^{13}C y ^{29}Si con frecuencias de resonancia de 100.62 y 79.49 MHz, respectivamente). El ancho de pulso de 90° fue de 3.5-4.5 μs y, en todos los casos, se usó un desacoplamiento de protones de alta potencia. Todos los decaimientos de libre inducción se sometieron a transformación de Fourier estándar. Los cambios químicos se referenciaron externamente a TMS. Los espectros ^{13}C CP-MAS RMN se adquirieron con un tiempo de contacto de CP de 1 ms y un retardo de reciclado de 4 s y los espectros de RMN de ^{29}Si CP-MAS se obtuvieron con un tiempo de contacto de CP de 4 ms y un retardo de reciclaje de 3 s. La velocidad de rotación (MAS) fue de 9 kHz y NS = 2000 en todos los casos. Por otra parte, los análisis espectroscópicos FT-IR se determinaron utilizando un espectrómetro Nicolet Magna 550, y los análisis elementales se realizaron usando un analizador elemental Perkin-Elmer 240C.

Caracterización de PEE400: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3435 (OH grupo terminal), 2861 (C–H sp^3), 1739 (C=O), 1093 (C–O). HR-MAS ^1H (D_2O): δ 0.03 (Si-CH₃), 0.41 (Si-CH₂-), 0.90 (-CH₂-), 1.64 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.58 (O-CO-CH₂), 3.96 (OCH₂CH₂O), 4.91 (COOCH₂CH₂). CP-MAS ^{13}C : δ 0.52 (Si-CH₃), 18.2 (Si-CH₂-), 26.1 (-CH₂-), 30.7 (O-CO-CH₂-CH₂), 64.3 (O-CO-CH₂), 71.6 (OCH₂CH₂O), 172 (CO), ^{29}Si -20.4. Análisis elemental (%) para ($\text{C}_{84}\text{H}_{164}\text{O}_{28}\text{Si}_4$), teórico: C 58.20, H 9.500; experimental: C 55.85, H 9.820.

Caracterización de PEE1000: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3433 (OH grupo terminal), 2865 (C–H sp^3), 1736 (C=O), 1105 (C–O). HR-MAS ^1H (D_2O): δ 0.09 (Si-CH₃), 0.58 (Si-CH₂-), 1.34 (-CH₂-), 1.59 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.36 (O-CO-CH₂), 3.72 (OCH₂CH₂O), 4.77 (COOCH₂CH₂). CP-MAS ^{13}C : δ 0.54 (Si-CH₃), 18.2 (Si-CH₂-), 26.1 (-CH₂-), 30.7 (O-CO-CH₂-CH₂), 64.4 (O-CO-CH₂), 71.6 (OCH₂CH₂O), 174 (CO), ^{29}Si -20.4. Análisis elemental (%) para ($\text{C}_{136}\text{H}_{268}\text{O}_{54}\text{Si}_4$), teórico: C 56.70, H 9.300; experimental: C 52.01, H 9.390.

Caracterización de PEE 1500: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3442 (OH grupo terminal), 2884 (C–H sp^3), 1739 (C=O), 1110(C–O). HR-MAS ^1H (D_2O): δ 0.12 (Si-CH₃), 0.62 (Si-CH₂-), 1.37 (-CH₂-), 1.65 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.40 (O-CO-CH₂), 3.76 (OCH₂CH₂O), 4.83 (COOCH₂CH₂). CP-MAS ^{13}C : δ 0.53 (Si-CH₃), 18.3 (Si-CH₂-), 26.0 (-CH₂-), 30.7 (O-CO-CH₂-CH₂), 64.4 (O-CO-CH₂), 72.9 (OCH₂CH₂O), 174 (CO), ^{29}Si -20.4. Análisis elemental (%) para ($\text{C}_{184}\text{H}_{364}\text{O}_{78}\text{Si}_4$), teórico: C 56.20, H 9.250; experimental: C 51.02, H 9.200.

Caracterización de PEE2000: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3442 (OH grupo terminal), 2885 (C–H sp^3), 1738 (C=O), 1110 (C–O). HR-MAS ^1H (D_2O): δ 0.02 (Si-CH₃), 0.49 (Si-CH₂-), 1.25 (-CH₂-), 1.53 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.23 (O-CO-CH₂), 3.64 (OCH₂CH₂O), 4.91 (COOCH₂CH₂). CP-MAS ^{13}C : δ 0.47 (Si-CH₃), 18.2 (Si-CH₂-), 26.0 (-CH₂-), 30.7 (O-CO-CH₂-CH₂), 64.4 (O-CO-CH₂), 71.6 (OCH₂CH₂O), 174 (CO), ^{29}Si -20.3. Análisis elemental (%) para ($\text{C}_{228}\text{H}_{452}\text{O}_{100}\text{Si}_4$), teórico: C 55.80, H 9.200; experimental: C 54.21, H 9.420.

Caracterización de PEE3000: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3441 (OH grupo terminal), 2886 (C–H sp^3), 1738 (C=O), 1110 (C–O). HR-MAS ^1H (D_2O): δ 0.03 (Si-CH₃), 0.50 (Si-CH₂-), 1.26 (-CH₂-), 1.54 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.25 (O-CO-CH₂), 3.65 (OCH₂CH₂O), 4.73 (COOCH₂CH₂). CP-MAS ^{13}C : δ 0.52 (Si-CH₃), 18.3 (Si-CH₂-), 26.0 (-CH₂-), 30.7 (O-CO-CH₂-CH₂), 64.4 (O-CO-CH₂), 71.6 (OCH₂CH₂O), 174 (CO), ^{29}Si -20.4. Análisis elemental (%) para ($\text{C}_{320}\text{H}_{636}\text{O}_{146}\text{Si}_4$), teórico: C 55.55, H 9.20; experimental: C 53.98, H 9.580.

Caracterización PEE6000: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3434 (OH grupo terminal), 2888 (C–H sp^3), 1739 (C=O), 1111(C–O). HR-MAS ^1H (D_2O): δ 0.04 (Si-CH₃), 0.52 (Si-CH₂-), 1.27 (-CH₂-), 1.55 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.26 (O-CO-CH₂), 3.67 (OCH₂CH₂O), 4.73 (COOCH₂CH₂). CP-MAS ^{13}C : δ 0.41 (Si-CH₃), 18.3 (Si-CH₂-), 25.9 (-CH₂-), 30.6 (O-CO-CH₂-CH₂), 64.2 (O-CO-CH₂), 71.4 (OCH₂CH₂O), 174 (CO), ^{29}Si -20.3. Análisis elemental (%) para ($\text{C}_{592}\text{H}_{1180}\text{O}_{282}\text{Si}_4$), teórico: C 55.00, H 9.14; experimental: C 54.33, H 9.00.

Los análisis termogravimétricos (TGA) se realizaron usando un instrumento TGA/SDTA 851e METTLER TOLEDO en cápsulas de platino a velocidades de calentamiento prescritas de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ en un rango de 20 a 500°C con un flujo constante de N_2 (20 mL min^{-1}).

El comportamiento calorimétrico se estudió mediante DSC utilizando un calorímetro de barrido diferencial METTLER TOLEDO modelo DSC822e. Las muestras (aproximadamente 10-12 mg) se colocaron dentro de cápsulas de aluminio y se calentaron bajo un flujo de nitrógeno a 20 mL min^{-1} .

Con el objetivo de minimizar las diferencias en el historial térmico de las muestras, se obtuvieron los termogramas correspondientes, considerando las temperaturas de descomposición detectadas en TGA, de acuerdo con el siguiente programa de temperatura: calentamiento desde -90°C hasta 100°C (etapa dinámica), etapa isotérmica a 100°C (estática), enfriamiento hasta -90°C (etapa de enfriamiento dinámico), etapa isotérmica a -90°C (estática) y calentamiento hasta 100°C (dinámico).

La densidad de entrecruzamiento se determinó mediante experimentos basados en resonancia magnética nuclear de protones, que permite obtener la densidad de entrecruzamiento a partir de la constante de acoplamiento dipolar. Las mediciones de ^1H -RMN en el dominio del tiempo se realizaron en un espectrómetro Bruker Minispec mq20 de campo bajo a una frecuencia de resonancia de protones de 20 MHz (0.5 T) con pulsos de 90° de 3 μs de longitud y un tiempo muerto de 12 μs . La temperatura de la muestra se controló con un calentador BVT3000. Para evitar la degradación, las muestras fueron selladas a la llama en tubos de RMN de 8 mm en condiciones de vacío. Se realizaron experimentos de RMN de doble cuantificación a 80°C para asegurar una dinámica lo suficientemente rápida como para completar el promedio segmentario sobre todas las conformaciones de cadena posibles en la escala de tiempo impuesta por el experimento de RMN[69].

La superficie de los poliésteres fue determinada mediante microscopía electrónica de barrido usando un equipo HITACHI SU800 Scanning electron microscope, previo hinchamiento de cada poliéster y posterior liofilización de las muestras. Las muestras fueron montadas en soportes de aluminio con cinta de doble cara adhesiva y luego recubiertas con una capa metálica con oro. La morfología de los poliésteres fue examinada a una emisión de campo de 3 kV y a magnificaciones de 50 a 500x.

Para verificar el grado de toxicidad de los poliésteres entrecruzados se realizó un ensayo indirecto con el reactivo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolio), conocido como ensayo de citotoxicidad MTT, el procedimiento fue el siguiente: se dispuso de 5 mL de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) y se colocaron en un mezclador de rodillos a 37°C . El medio se retiró en diferentes períodos de tiempo (1, 2, 7, 14 y 21 días) y se sustituyeron por otros 5 mL de medio nuevo. Todos los extractos se obtuvieron en condiciones estériles. Se sembraron

células de fibroblastos dérmicos humanos con una densidad de 9104 células/mL en medio completo en una placa de cultivo estéril de 96 pocillos y se incubaron hasta la confluencia. Luego, el medio se reemplazó con el extracto eluido correspondiente y se incubó a 37°C durante 24 h. Se preparó una solución de MTT en DMEN caliente (0.5 mg/mL) y las placas se incubaron a 37°C durante 4 h. Se eliminó el exceso de medio y MTT, y se añadió dimetilsulfóxido (DMSO) a todos los pocillos para solubilizar el MTT absorbido por las células. Esto se mezcló durante 10 minutos y la absorbancia se midió con un detector BIOTEK HT SYNERGY usando una longitud de onda de prueba de 570 nm y una longitud de onda de referencia de 630 nm[70].

Los análisis termogravimétricos (TGA y DSC), experimentos de resonancia nuclear (CP-MAS) y resonancia magnética de bajo campo, se llevaron a cabo en el grupo de elastómeros, en cuanto al ensayo de citotoxicidad se realizaron en el laboratorio de biomateriales, ambos pertenecientes al Instituto de Ciencias y Tecnología de Polímeros (ICTP), Madrid, España.

Grado de hinchamiento- Encapsulación y liberación de Rodamina

Con el fin de tener una caracterización completa y conocer mejor las propiedades de estos nuevos poliésteres, se realizaron los siguientes experimentos: Grado de hinchamiento, encapsulación y liberación de rodamina.

El estudio de grado hinchamiento se llevó a cabo en medio acuoso. Para cada poliéster entrecruzado se pesaron 50 mg por triplicado, y se colocaron en un exceso de disolvente durante 24 horas en agitación a 130 rpm, luego, se eliminó el exceso de disolvente y se registró el peso de hinchamiento. El grado de hinchamiento se calculó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 1. S_w : grado de hinchamiento, W_s : peso del polímero hinchado, W_d : peso del polímero seco

$$S_w = \frac{W_s - W_d}{W_d}$$

Por otra parte, para los experimentos de encapsulación usando rodamina, se utilizó el siguiente protocolo experimental: Se añadieron 50 mg de cada PEE se adicionó 1.2 mL de solución de rodamina con una concentración conocida y se incubaron a 25°C

durante 24 horas con agitación constante a 130 rpm. La liberación de rodamina de PEE se llevó a cabo utilizando bolsas de diálisis que retienen Mw 12.000 o más (D9652-100FT Sigma Aldrich). La solución de diálisis utilizada fue PBS (P4417 Sigma) a pH 7.4 y la liberación se siguió durante 100 horas, midiendo la absorbancia cada hora usando un coeficiente de extinción de 10.1×10^4 ($M^{-1}cm^{-1}$)[71],[72].

2.2.3. Poliésteres fluorescentes

2.2.3.1. Síntesis y caracterización de poliésteres a partir de hidroquinona

a) *Poliéster lineal a partir del derivado de hidroquinona*

El poliéster lineal a base del derivado de hidroquinona (**PLHQ**) se sintetizó a partir de la reacción de transesterificación (Figura 2.5) entre el monómero MDS y 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi))dietanol (CAS 104-38-1 Sigma Aldrich), el catalizador tetrabutoxido de titanio $Ti(OBu)_4$ (CAS 5593-70-4), el procedimiento consistió en añadir 0.94 mmol de hidroquinona con 0.03 mmol de $Ti(OBu)_4$ a 0.94 mmol del monómero diéster (MDS) en agitación. La mezcla fue calentada a $180^\circ C$ y la presión se redujo a 0.66 mbar. Cuando la temperatura fue alcanzada, se mantuvo en este valor, y el tiempo de polimerización comenzó, la polimerización es interrumpida disminuyendo la temperatura y el poliéster no recibe tratamiento posterior. La reacción se dejó por 2 h y se obtuvo un rendimiento de 75%.

La caracterización se llevó a cabo mediante 1H -RMN y ^{13}C -RMN usando un espectrómetro Bruker Avance de 400 MHz, con $CDCl_3$ como disolvente y tetrametilsilano como patrón interno. Y los análisis espectroscópico FT-IR se determinaron mediante un espectrómetro Nicolet Magna 550.

Caracterización de PLHQ (X = 41). FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3448 (OH grupo terminal), 2856 (C-H sp^3), 1736 (C=O), 1065 (C-O). RMN 1H ($CDCl_3$): δ 0.05 (Si-CH₃), 0.52 (Si-CH₂-), 1.28 (-CH₂-), 1.67 (O-CO-CH₂-CH₂), 2.37 (O-CO-CH₂) 4.13 (COOCH₂CH₂O) 4.43 (COOCH₂CH₂O) 6.87 (ar). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ 0.44 (Si-CH₃), 18.5 (Si-CH₂-), 23.3, 25.0, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 33.5, 34.2 (-CH₂-), 62.7 (COOCH₂CH₂O), 66.7 (COOCH₂CH₂O), 115 (ar o,m), 153(ar, p) 174 (CO).

La cromatografía de permeación en gel (GPC) se realizó usando un instrumento Perkin Elmer Series 200, a 20°C con un detector de índice de refracción, usando tetrahidrofurano (THF) como eluyente a una velocidad de flujo de 0.5 mL min⁻¹. La masa en número promedio (Mn) y la masa promedio en masa (Mw) fueron determinados a partir de esta medición. Los análisis termogravimétricos (TGA) se realizaron usando un instrumento Netzsch TG209 F1 IRIS en cápsulas de platino a velocidades de calentamiento prescritas de 10°C min⁻¹ en un rango de 20 a 500°C bajo un flujo constante de nitrógeno (20 mL min⁻¹).

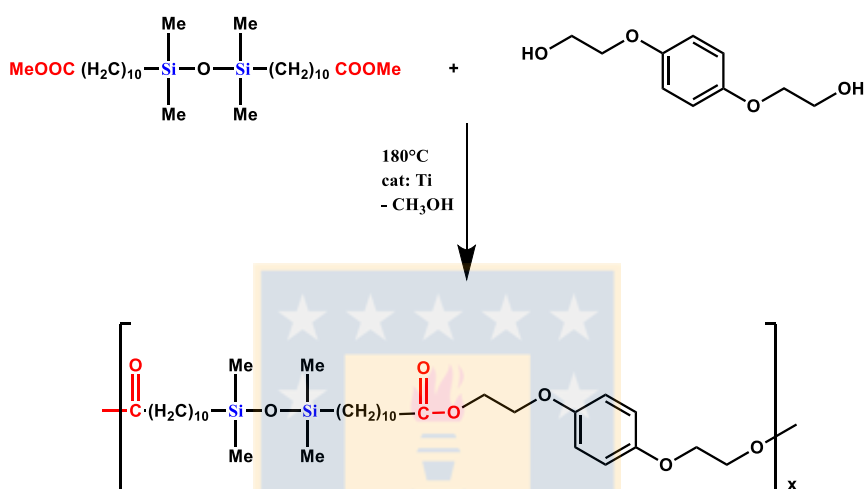


Figura 2.5. Esquema de síntesis de polímero lineal a base del derivado de hidroquinona. Fuente: Elaboración propia.

b) Poliéster entrecruzado a base del derivado de hidroquinona

El poliéster entrecruzado a base de hidroquinona (**PEHQ**) se sintetizó a partir de la reacción de transesterificación (Figura 2.6) entre el monómero MCTS, 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi))dietanol (CAS 104-38-1 Sigma Aldrich), y el catalizador tetrabutóxido de titanio Ti(OBu)₄ (CAS 5593-70-4 Merck), el procedimiento fue el siguiente: se añadió 1.88 mmol del derivado de hidroquinona con 0.03 mmol de Ti(OBu)₄ a 0.94 mmol del monómero tetraéster (MCTS) en agitación. La mezcla fue calentada a 180°C y la presión se redujo a 0.66 mbar. Cuando la temperatura se alcanzó, se mantuvo, y el tiempo de polimerización comenzó, hasta gelificación, la polimerización es interrumpida disminuyendo la temperatura, para luego ser lavado con cloroformo. El rendimiento obtenido fue de 79%.

El espectrograma de ^{13}C se llevó a cabo mediante CP-MAS utilizando un espectrómetro Bruker Avance 400 MHz equipado con un imán superconductor de 89 mm de diámetro y 9.4 T de diámetro (^{13}C con frecuencias de resonancia de 100.62) El ancho de pulso de 90° fue de 3.5-4.5 μs y, en todos los casos, se usó un desacoplamiento de protones de alta potencia. Todos los decaimientos de libre inducción se sometieron a transformación de Fourier estándar. Los cambios químicos se referenciaron externamente a TMS. Los espectros ^{13}C CP-MAS RMN se adquirieron con un tiempo de contacto de CP de 1 ms y un retardo de reciclado de 4 s. La velocidad de rotación (MAS) fue de 9 kHz y NS = 2000. Los análisis espectroscópico FT-IR se determinaron utilizando un espectrómetro Nicolet Magna 550.

Caracterización de PEHQ: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3461 (OH grupo terminal), 2926–2858 (C–H sp^3), 1742 (C=O), 1092 (C–O). CP-MAS ^{13}C : δ 0.57 (Si-CH₃), 18.3 (Si-CH₂-), 25.9, 30.7, 34.6 (-CH₂-), 63.8 (COO-CH₂-CH₂-O), 67.0 (COO-CH₂-CH₂-O), 116 (ar, m, o) 153 (ar, p), 174 (CO).

Los análisis termogravimétricos (TGA) se realizaron usando un instrumento Netzsch TG209 F1 IRIS en cápsulas de platino a velocidades de calentamiento prescritas de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ en un rango de 20 a 500°C bajo un flujo constante de nitrógeno (20 mL min^{-1}).

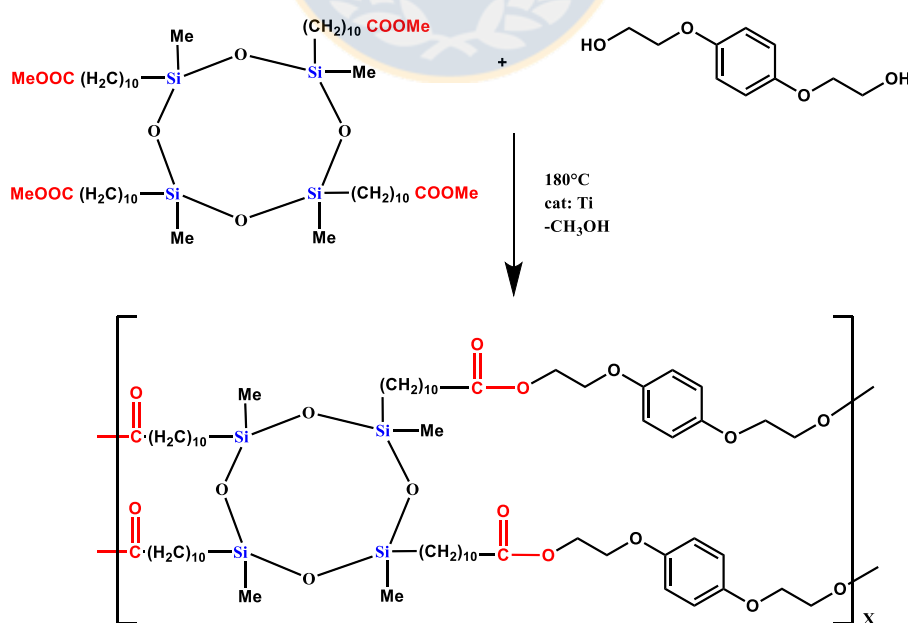


Figura 2.6. Esquema de síntesis de polímero entrecruzado a base del derivado de hidroquinona. Fuente: Elaboración propia.

2.2.3.2. Síntesis y caracterización de poliésteres a partir de cumarina diol

Síntesis y caracterización de cumarina diol

La síntesis del monómero cumarina diol se llevó a cabo, mediante la ruta sintética mostrada en la figura 2.7, siguiendo el protocolo de Abraham Joy[58], y modificando el primer y tercer paso de la reacción[73].

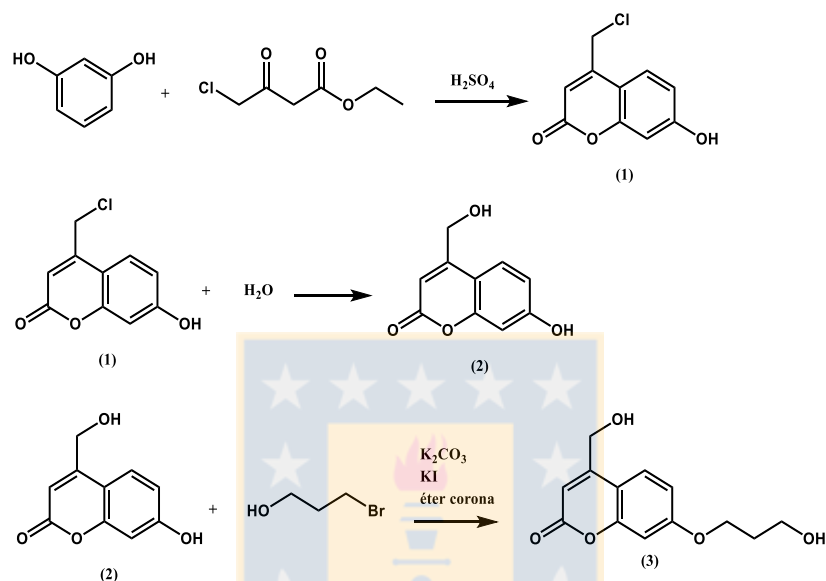


Figura 2.7. Esquema de la ruta sintética de la formación de cumarina diol. Fuente: Modificado de Abraham Joy y colaboradores[58].

El primer paso de reacción consistió en adicionar un equivalente de resorcinol (CAS 108-46-3, Merck) en 45 mL de ácido sulfúrico previamente enfriado, una vez disuelto el resorcinol se adicionó lentamente 1.2 equivalentes de 4-cloroacetato de etilo (CAS 638-07-3, Sigma Aldrich), procurando que la temperatura se mantenga entre 0-4°C. Una vez terminada la adición se dejó por 5 h en agitación, posteriormente se vierte en 350 g de agua hielo en constante agitación, el producto se filtró y se lavó con abundante agua fría. El crudo se secó y recrystalizó con una solución de etanol/agua 1:9, respectivamente. El rendimiento obtenido fue de 79.5%, esta molécula fue caracterizada mediante ^1H y ^{13}C -RMN.

Caracterización de 4-(clorometil)-7-hidroxycumarina: ^1H -NMR (DMSO- d_6) δ (ppm): 4.93 (d, 2H, CH_2Cl); 6.40 (s, 1H); 6.74 (d, 1H); 6.81 (dd, 1H); 7.65 (d, 1H,); 10.7 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO) δ (ppm): 41.8, 103, 110, 112, 114, 127, 151, 156, 161, 162 (CO).

Para la obtención de 7-hidroxi-4-(hidroximetil)cumarina (segundo paso) se adicionaron 2.0 g del producto obtenido en el primer paso a 200 mL de agua, este se dejó a reflujo por 3 días en constante agitación. Una vez transcurrido este tiempo se llevó a temperatura ambiente, donde se observó la formación de agujas blanquecinas. El rendimiento fue del 83% de rendimiento. Este producto se caracterizó mediante ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

Caracterización de 7-hidroxi-4-(hidroximetil)cumarina: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ (ppm): 4.69 (d, 2H, CH_2Cl); 6.23 (s, 1H); 6.72 (d, 1H); 7.49 (dd, 1H); 7.52 (d, 1H); 10.5 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO) δ (ppm): 59.5, 103, 107, 110, 113, 126, 155, 157, 161, 161 (CO).

Finalmente, para obtener la cumarina diol deseada se sometió el producto obtenido del paso 2 a una reacción de Williamson, según el siguiente procedimiento: se tomó un equivalente de 7-hidroxi-4-(hidroximetil)cumarina y se solubilizó en 10 mL de butanona (CAS 78-93-3) y se dejó en agitación por 2 h con 2 equivalentes de K_2CO_3 (CAS: 584-08-7, Merck) y de KI (CAS: 7681-11-0, Merck) en presencia de éter corona. Una vez transcurrido el tiempo se adicionaron 2 equivalentes de bromopropanol (CAS 627-18-9, Sigma Aldrich) gota a gota. Terminada la adición, se dejó a reflujo por 24 h. el producto final se recristalizó en hexano/acetato de etilo 1:4, obteniéndose así un sólido blanco con un rendimiento del 32%, el producto se caracterizó mediante ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

Caracterización de 4-(hidroximetil)-7-(3-hidroxipropoxi)cumarina: ^1H NMR (DMSO- d_6) δ (ppm): 1.88 (m, 2H); 3.55 (c, 2H); 4.14 (t, 2H); 4.58 (t, 1H, OH); 4.71 (d, 2H, CH_2Cl); 5.61 (t, 1H, OH); 6.29 (s, 1H); 6.94 (d, 1H); 6.97 (dd, 1H); 7.59 (d, 1H); 10.5 (s, 1H). ^{13}C NMR (DMSO) δ (ppm): 32.3, 57.6, 59.5, 65.8, 102, 108, 111, 113, 126, 155, 157, 161, 162 (CO).

Síntesis y caracterización de poliésteres entrecruzados a partir de cumarina diol

Los poliésteres entrecruzados fluorescentes (PEEF) se sintetizaron a partir de la reacción de transesterificación (Figura 2.8) entre el monómero MCTS, cumarina diol y polietilenglicol con diferentes largos de cadena 400, 1500, 3000, g/mol (CAS 25322-68-3, Merck), los cuales fueron adquiridos en Merck, de igual forma que el catalizador tetrabutóxido de titanio $\text{Ti}(\text{O}i\text{Bu})_4$ (CAS 5593-70-4, Merck)

El procedimiento consistió en añadir 0.5 equivalentes de cumarina diol, 1.5 equivalentes de PEGn con 1 equivalente de monómero de tetraéster (MCTS) y luego dos gotas del catalizador $Ti(OBu)_4$ en constante agitación. Posteriormente se calentó el sistema a $180^\circ C$ y la presión se redujo a 0.66 mbar. Cuando se alcanzó la temperatura, esta fue mantenida por 2 h. La polimerización se interrumpe una vez transcurrido el tiempo disminuyendo la temperatura, para luego ser lavado con cloroformo en primera instancia, y luego con acetato de sodio. El rendimiento de estos poliésteres se muestra en la tabla 2.3.

Tabla 2.3. Rendimiento de polímeros entrecruzados fluorescentes. Fuente: Elaboración propia.

Poliéster	PEEF400	PEEF1500	PEEF3000
Rendimiento %	83	85	86

La caracterización estructural se llevó a cabo mediante CP-MAS ^{13}C utilizando un espectrómetro Bruker Avance 400 MHz. Y los análisis espectroscópicos FT-IR se determinaron utilizando un espectrómetro Nicolet Magna 550.

Caracterización de PEEF400: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3434 (OH grupo terminal), 2859 (C–H sp^3), 1740 (C=O), 1086 (C–O). CP-MAS ^{13}C : δ 26.7, 32.6, 34.5, 39.1, 43.3, 72.7, 78.5, 80.0, 80.4, 100, 181.

Caracterización de PEEF1500: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3444 (OH grupo terminal), 2884 (C–H sp^3), 1736 (C=O), 1112 (C–O). CP-MAS ^{13}C : δ 26.8, 32.7, 34.6, 39.2, 42.8, 73.0, 80.0, 100, 179.

Caracterización de PEEF3000: FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3444 (OH grupo terminal), 2884 (C–H sp^3), 1736 (C=O), 1112 (C–O). CP-MAS ^{13}C : δ 26.6, 32.6, 34.5, 39.1, 43.2, 73.7, 79.9, 100, 159, 181.

Los análisis termogravimétricos (TGA) se realizaron usando un instrumento Netzsch TG209 F1 IRIS en cápsulas de platino a velocidades de calentamiento prescritas de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, en un rango de 20 a 500°C , bajo un flujo constante de nitrógeno (20 mL min^{-1}). El comportamiento calorimétrico se estudió mediante DSC utilizando un calorímetro de barrido diferencial Netzsch DSC 204 F1 Phoenix. Las muestras (aproximadamente 6-9 mg) se colocaron dentro de cápsulas de aluminio y se calentaron bajo un flujo de nitrógeno a 20 mL min^{-1} , variando de -50 a 100°C , a una velocidad de calentamiento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Por otro lado, el grado de hinchamiento de estos polímeros se realizó usando la metodología presentada en la sección 2.2.2, además, se utilizó microscopía electrónica de barrido para visualizar los poros de las redes formadas cuando se encuentran hinchados. Para ello se hincharon los materiales y posteriormente se liofilizaron, para luego ser vistos a través de espectrómetro de barrido electrónico JEOL modelo JSH 6380LV.

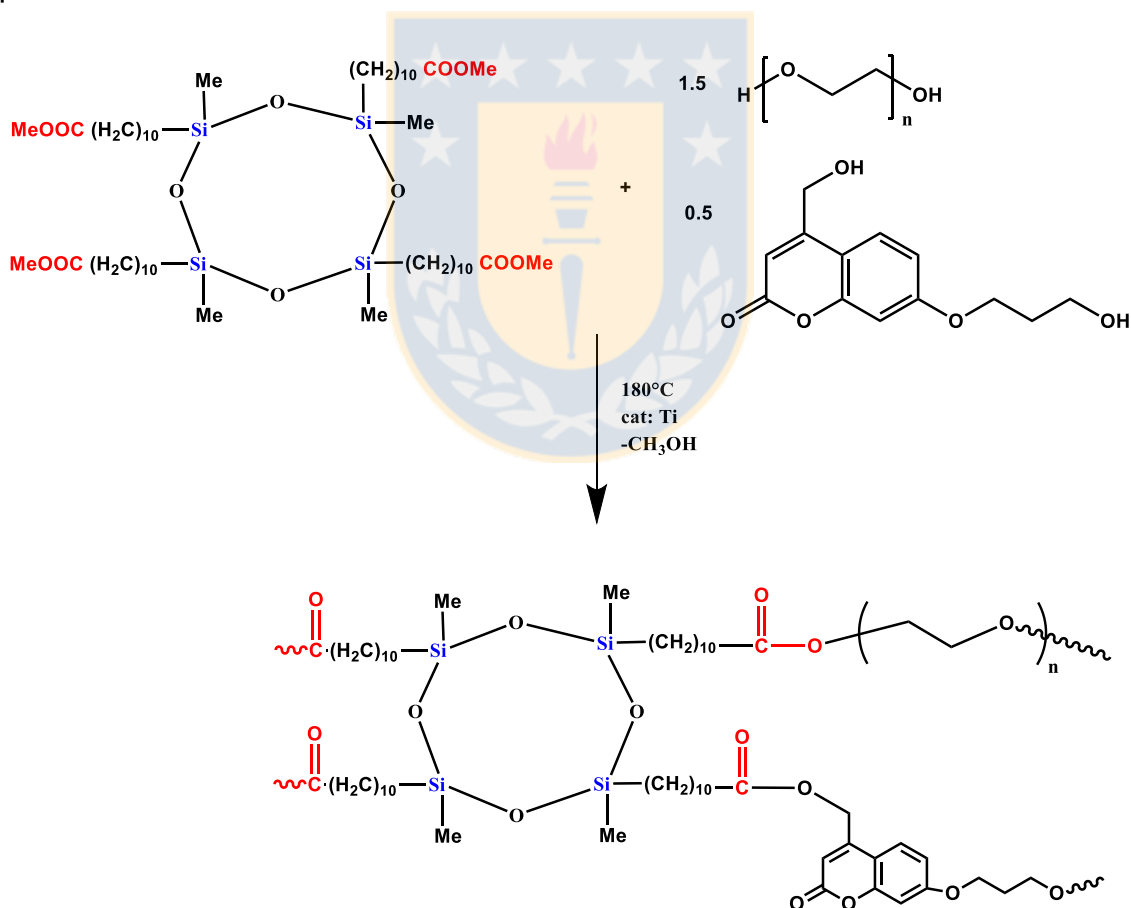


Figura 2.8. Esquema de la síntesis de poliésteres fluorescentes a partir de cumarina. Fuente: Elaboración propia.

Estudios de microscopía de fluorescencia confocal

Para la caracterización de las propiedades fluorescentes de los polímeros se midió el espectro de emisión (utilizando imágenes espectrales) y el tiempo de vida de fluorescencia (utilizando imágenes de tiempo de vida de fluorescencia). Ambos parámetros fueron comparados con la sonda (cumarina diol) en solución.

Las imágenes espectrales y los datos de tiempo de vida fueron adquiridos en el Laboratorio de Fluorescencia Dinámica de la Universidad de California, USA. Se utilizó un microscopio espectral Zeiss LSM 710 NLO y como fuente de excitación un láser titaniun-zafiro (Coherent, Chameleon Ultra II, 80 MHz) sintonizado a 780 nm para la excitación de dos fotones. Un objetivo de 40X de inmersión de agua fue usado en todos los casos. Para la adquisición de las imágenes espectrales se utilizó el software del instrumento Zeiss Zen 2011 y para las imágenes de tiempo de vida, además se utilizó software SimFCS (Laboratorio de Fluorescencia Dinámica, Irvine, CA) y una tarjeta de adquisición FLIM Box (ISS, Illinois, USA).

Las imágenes espectrales están formadas por 32 imágenes en el rango de emisión (415-727 nm) en bandas de 9.75 nm. Las imágenes de 1024x1024 y el espectro de la muestra se obtuvo utilizando el software Sim FCS desarrollado en el Laboratorio de Dinámica de Fluorescencia (Irvine, CA, EUA), que, para el caso de muestras homogéneas, normaliza y promedia el espectro de cada píxel. El análisis de las imágenes FLIM se realizó utilizando la representación de fasores y el software SimFCS (Laboratorio de Fluorescencia Dinámica, Irvine, CA).

La preparación de la muestra consistió en hidratar una muestra de cada polímero (PEEF400, PEEF1500, PEEF3000) con tampón PBS pH 7.4 durante toda la noche en cubetas de microscopía para luego ser medidos a temperatura ambiente.

3.1. Caracterización de monómeros sililados

Los monómeros sililados fueron sintetizados según lo reportado por el grupo de Riviere[24]. La caracterización mediante RMN permite confirmar la estructura de los monómeros lineal y cíclico, ambos espectros presentan las mismas señales características: la señal en 17.22 ppm en el RMN de carbono 13, la cual, corresponde al enlace Si-CH₂, señal que confirma la reacción de hidrosililación, la señal a 51.44 ppm atribuida al metoxilo terminal, la cual, será de importancia en las reacciones de policondensación. A modo de ejemplo, se presenta en la figura 3.1 el espectro de resonancia magnética nuclear de carbono 13 del monómero MCTS.

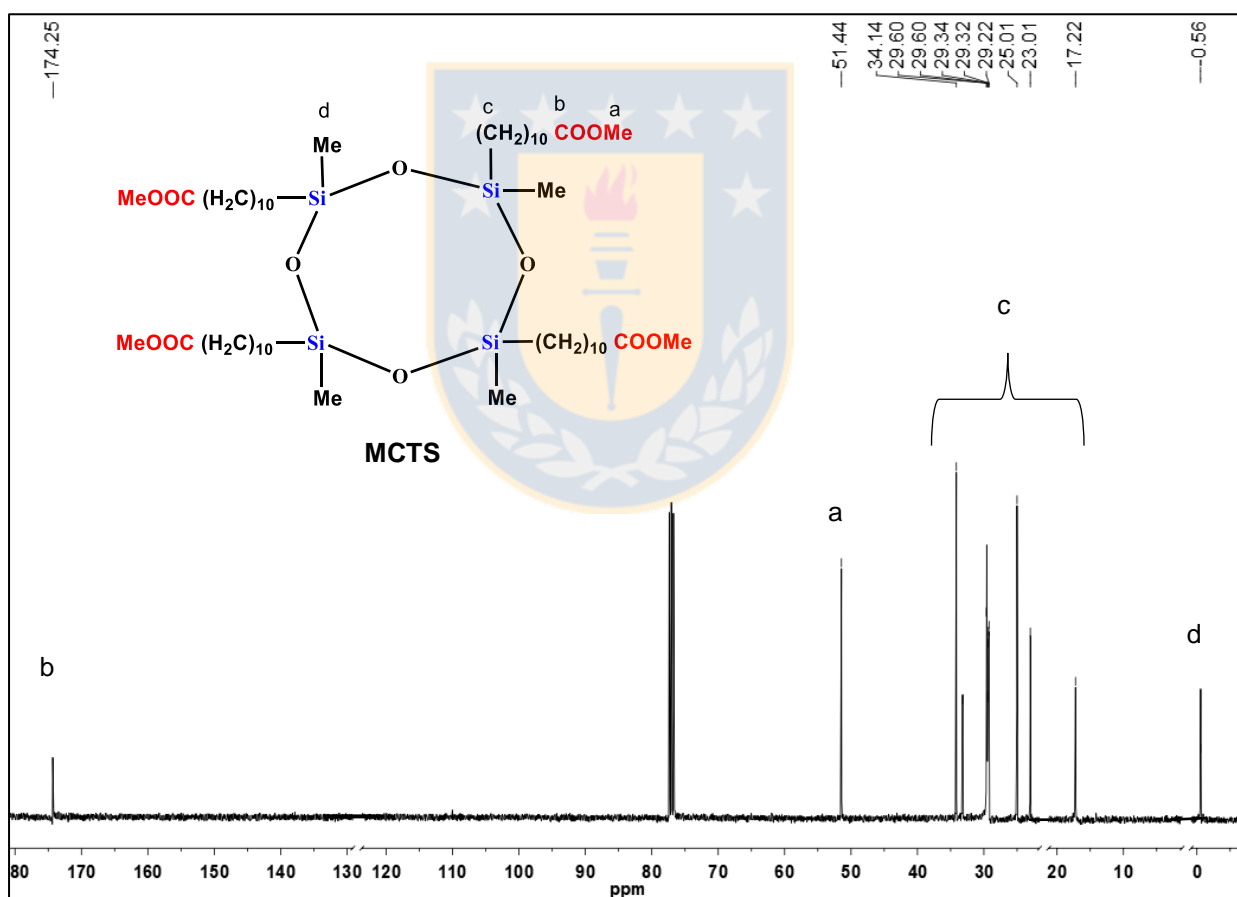


Figura 3.1. Espectro de resonancia magnética nuclear de ¹³C del monómero MCTS. Fuente: Elaboración propia.

3.2. Caracterización de poliésteres anfifílicos lineales

Los poliésteres anfifílicos lineales se sintetizaron mediante una reacción de policondensación entre monómero disiloxano (MDS) y polietilenglicol de diferentes masas molares, obteniéndose 5 polímeros con rendimientos entre 74-78%. Los cuales se caracterizaron estructuralmente por resonancia magnética nuclear, estos espectros presentan señales similares para los 5 polímeros, debido a que solo se diferencian en el largo del segmento hidrofílico correspondiente a PEG. La figura 3.2 A, muestra el espectro de protón ^1H del poliéster lineal obtenido a partir de polietilenglicol con masa molar 2000 g/mol luego de 2 h de reacción (PEL2000-2) donde, se observan dos señales características del polímero, la primera a 3.66 ppm, que corresponde a la señal de la unidad repetitiva del segmento hidrofílico ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$) y la segunda a 4.23 ppm que se aduce a la unión entre el éster del monómero MDS y el alcohol perteneciente a PEG ($-\text{COOCH}_2-$).

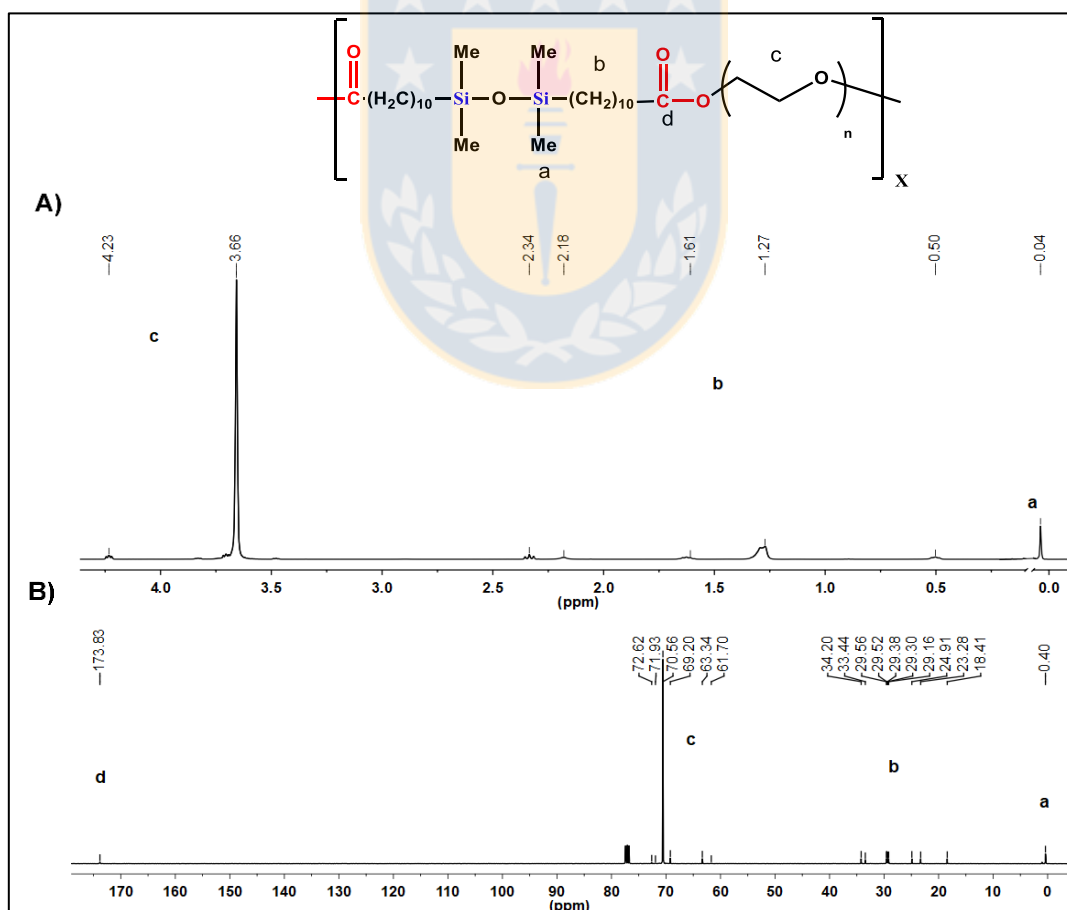


Figura 3.2. Espectros de resonancia magnética nuclear ^1H , ^{13}C del poliéster PEL2000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores[74].

Por otra parte, en el espectro de carbono 13 (figura 3.2 B) se observa que desaparece la señal correspondiente al metoxilo terminal (51.44 ppm), indicativo de la unión entre el monómero diéster sililado y el alcohol polietilenglicol, mediante policondensación, formando el poliéster deseado.

3.2.1. Caracterización mediante cromatografía de permeación en gel (GPC)

La policondensación necesita mayores tiempos de reacción para obtener altas masas molares[75], para visualizar o controlar el crecimiento de las cadenas poliméricas se realizaron estudios de cromatografía de permeación en gel, durante el tiempo de polimerización.

En la figura 3.3 se observa la gráfica del tiempo de polimerización (1-3 h) versus masa molar. Inicialmente se aprecia un aumento en los valores de M_w , sin embargo, después de las dos horas de reacción, se aprecia una disminución. Este comportamiento se puede explicar por la diferencia de polaridad entre los monómeros, donde PEG es el segmento hidrofílico, y MDS es el bloque hidrofóbico. A medida que avanza la reacción de polimerización, es de esperar que cambie la polaridad del polímero en crecimiento, y afecte la adición del siguiente monómero. Esta baja miscibilidad resultante entre los reactivos interfiere en la interacción entre los grupos reaccionantes, afectando el crecimiento del polímero y la consecuente disminución en la masa molar.

Otra posible explicación de este resultado está relacionada con la temperatura de trabajo (180°C), que puede producir una ruptura térmica de los poliésteres e inducir la formación de oligómeros, como se puede apreciar en la figura 3.3 a. Los cromatogramas de GPC presentan los mismos perfiles y la misma tendencia para los diferentes polímeros, a modo de ejemplo se muestran los cromatogramas del poliéster PEL1000 (Figura 3.3 b).

De este estudio se determinó que el tiempo de reacción óptimo es de 2 h, ya que se obtienen las mayores masas molares para cada poliéster sintetizado. Además, todos los resultados obtenidos a partir de este ensayo (M_n y M_w) se encuentran tabulados en la tabla 3.1.

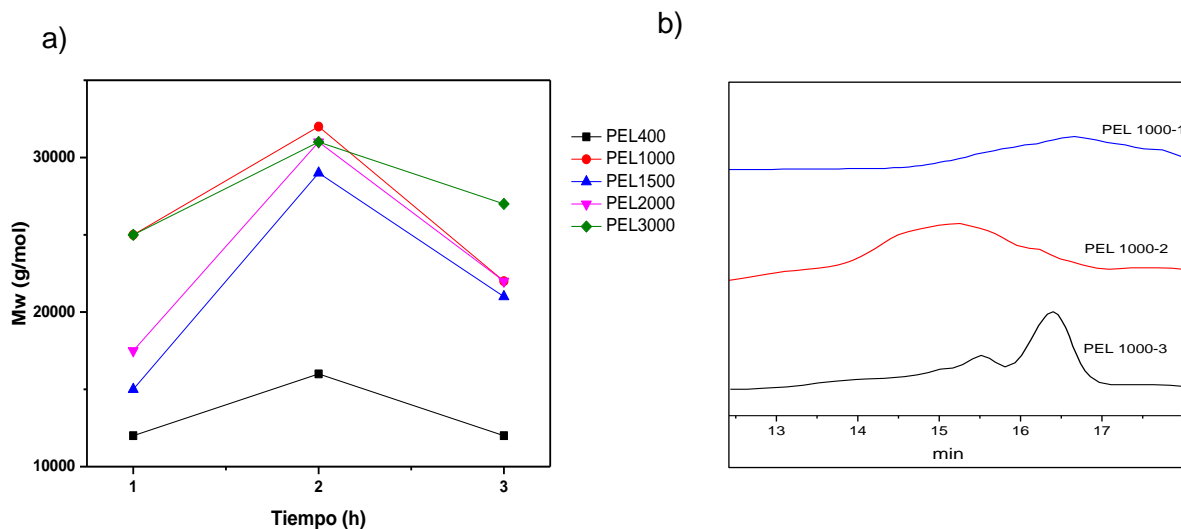


Figura 3.3. a) Masa molar (M_w) versus tiempo de polimerización (h), b) Cromatogramas de PEL1000 a diferentes tiempos (1,2,3 h). Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores[74].

Por otra parte, en la figura 3.3 también se puede apreciar que, a cualquier tiempo de reacción, no existe correlación entre la masa molar del monómero PEG y el poliéster en crecimiento. Por lo tanto, en lugar de usar el parámetro de masa molar para comparar los diferentes poliésteres, se utilizó el grado de polimerización (X_w) (Tabla 3.1), ya que indica cuántas unidades repetitivas se encuentran en el polímero y se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$X_w = \frac{M_w}{MU}$$

Donde M_w corresponde a la masa molar promedio en masa y M_u es la masa molar de la unidad repetitiva aproximada.

El mayor valor del grado de polimerización (X_w) se encontró para los poliésteres PEL400-2 y PEL1000-2 (tabla 3.1). Para los poliésteres derivados de los monómeros PEG 1500, 2000 y 3000, se observó una caída significativa en el grado de polimerización, este comportamiento podría explicarse por la razón mencionada anteriormente, es decir, el aumento simultáneo en la masa molar y la polaridad de los monómeros PEG, que provoca una disminución en la miscibilidad con el monómero hidrofóbico MDS. Por otro lado, la dispersidad, indica que todos los poliésteres

obtenidos presentan una amplia dispersión en la distribución de masa molares de los polímeros.

Tabla 3.1. Masa molar de la unidad repetitiva aproximada (MU), masa molar promedio en masa (Mw), masa molar promedio en número (Mn), grado de polimerización promedio en peso (Xw), y grado de polimerización promedio número (Xn), dispersidad (\bar{D}). Fuente: Elaboración propia.

Poliéster	MU (g/mol)	Mw (g/mol)	$X_w = \frac{M_w}{M_U}$	Mn (g/mol)	$X_n = \frac{M_n}{MU}$	$\bar{D} = \frac{M_w}{M_n}$
PEL400-2	900	15900	17.7	6800	7.6	2.3
PEL1000-2	1500	31800	21.2	19300	12.9	1.6
PEL1500-2	2000	28500	14.3	10500	5.3	2.7
PEL2000-2	2500	31000	12.4	13000	5.2	2.4
PEL3000-2	3500	31000	8.9	17300	4.9	1.8

3.2.2. Caracterización mediante análisis termogravimétricos

Las propiedades de estabilidad térmica de los poliésteres se determinaron por termogravimetría, este análisis se realizó para los poliésteres que presentaron mayor masa molar. La serie en general presenta una alta estabilidad térmica, en comparación con el monómero di-siloxano (MDS), ya que poseen temperaturas de descomposición por sobre 400°C (ver figura 3.4 y anexo A-2).

Los poliésteres PEL1500-2, PEL2000-2 y PEL3000-2 presentan una leve disminución en su temperatura de descomposición con respecto al monómero PEG correspondiente, a modo de ejemplo se presenta en la figura 3.4 (a), el perfil de descomposición del poliéster PEL2000-2. En contraste, los poliésteres PEL400-2 y PEL1000-2 presentaron una estabilidad mayor o igual que su respectivo monómero PEG, a modo de ejemplo se presenta en la Figura 3.4 b el perfil de PEL400-2. Este comportamiento se podría deber a que PEL400-2 y PEL1000-2 presentan el segmento hidrofílico de menor masa molar. Además, es importante destacar que todos los perfiles muestran una pérdida de masa única para todos los poliésteres (anexoA-2).

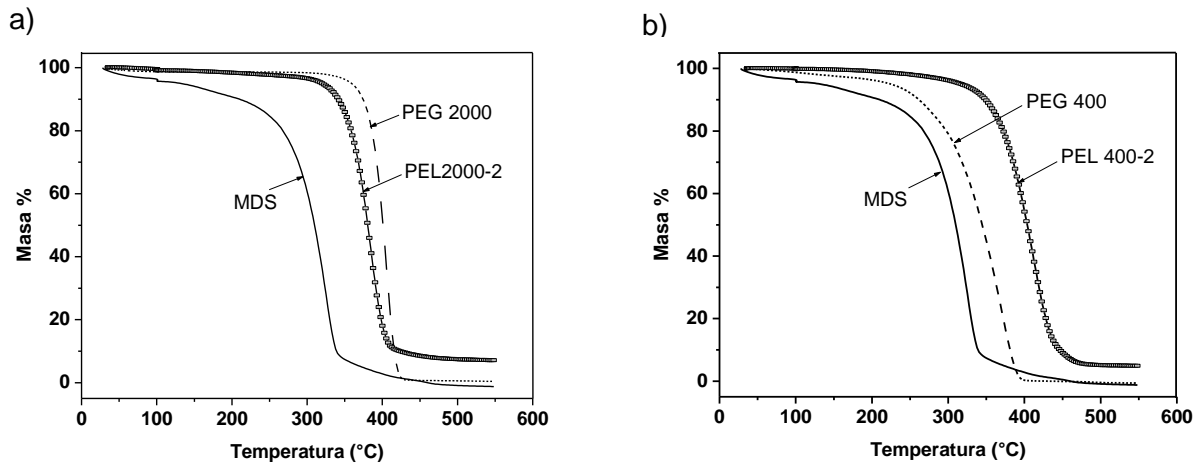


Figura 3.4. a) Perfil termogravimétrico PEL2000-2 b) Perfil termogravimétrico PEL400-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores[74].

Asimismo, de las gráficas se determinan las masas residuales que están alrededor del 5%, cuando la degradación de los poliésteres alcanza aproximadamente 400°C. Es sabido, que en reacciones de materiales híbridos orgánico-inorgánicos con siloxano, los productos obtenidos a alta temperatura son sílice inorgánica (SiO_2) y oxycarburos de silicio ($\text{SiC}_x\text{O}_{4-x}$), debido a la escisión de enlaces Si-C y C-C y un proceso de mineralización[76,77].

Los datos de estabilidad térmica indican que la incorporación del éster graso en el poliéster no perturbó las propiedades térmicas de PEG. Por lo tanto, estos nuevos poliésteres pueden ser usados en aplicaciones que requieran el uso de altas temperaturas.

El análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC) es la técnica más usada para detectar transiciones endotérmicas y exotérmicas en materiales poliméricos. La figura 3.5 muestra los termogramas obtenidos para la serie PEL. En ella se pueden observar señales endotérmicas claras, que representan la fusión del polímero. A partir de estos termogramas, se determinaron los valores de calor de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (T_f) y grado de cristalinidad (X_c) para cada polímero. Cabe señalar que este último se determinó según la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 2} \quad X_c = \frac{\Delta H_{\text{polimero}}}{\Delta H_{\text{PEG}}} \times 100$$

Donde el valor ΔH_{PEG} fue de 197 J/g[78]

Los valores se presentan en la tabla 3.2 junto con la temperatura de descomposición (DTG) de los experimentos de TGA.

Los parámetros, ΔH_{fus} y T_f , aumentan a medida que la masa molar del segmento hidrofílico es mayor. Estos resultados son consistentes con un aumento de la cristalinidad del polímero, es decir, se necesita mayor energía para romper el orden de los cristales de los nuevos polímeros, a medida que crece la longitud del bloque hidrofílico. La cristalinidad de los nuevos poliésteres se puede explicar por la presencia de dipolos permanentes generados por el segmento hidrofílico, el cual, aumenta en una cadena más larga[79]. Además, del elevado número de conformaciones posibles, produce una gran cantidad de dipolos inducidos. Por lo tanto, las interacciones dipolares están involucradas en diferentes segmentos de la cadena, causando la formación de cristales y su agregación.

El comportamiento calorimétrico, descrito anteriormente, es concordante con la textura y la solubilidad obtenida para los poliésteres sintetizados: El poliéster PEL400-2 es un líquido viscoso soluble en n-hexano, mientras que PEL1000-2, PEL1500-2, PEL2000-2 y PEL3000-2 son polímeros sólidos de aspecto elastómero solubles en agua y etanol. Estas observaciones se pueden considerar como consecuencias directas de la mayor polaridad del segmento de PEG a medida que aumentan sus masas molares.

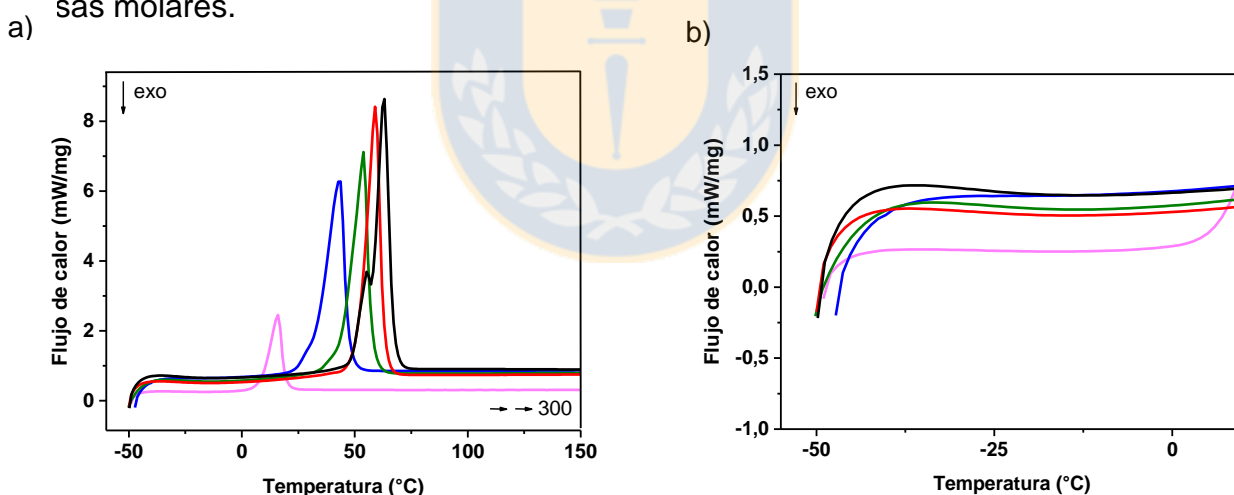


Figura 3.5. Termogramas obtenidos por DSC de PEL400-2 (—), PEL1000-2 (—), PEL1500-2 (—), PEL2000-2 (—) y PEL3000-2 (—) para: a) Rango de temperatura entre - 50 y 150 °C. b) Rango de temperatura entre -50 y -10 °C. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores[74].

Para detectar otros procesos de transición en los poliésteres y considerando el tamaño de las señales de fusión, se analizaron los termogramas entre -50°C y 10°C, (figura

3.5 b). Se obtuvo curvas planas y no se observaron picos de transición vítrea en este rango de temperatura. Esto puede deberse a que la T_g de los poliésteres se encuentre a temperaturas menores a -50°C, considerando que el polietilenglicol, dependiendo de su masa molar puede tener una T_g en un rango entre -98°C a -17°C[80,81].

Por otro lado, como la transición vítrea es el resultado de movimientos moleculares tales como rotaciones internas y deslizamiento molecular. Las cadenas macromoleculares en los poliésteres PEL se encuentran empaquetadas, lo que podría impedir los movimientos moleculares[64]. La ausencia de grupos laterales voluminosos y los átomos de oxígeno electronegativos presentes en los grupos SiO(Me)₂, COO y (CH₂CH₂O)_n, favorecería las interacciones intermoleculares y disminuiría el volumen libre de las cadenas de poliésteres, impidiendo así una transición vítrea.

Tabla 3.2. Temperatura de descomposición (DTG), entalpía de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (T_f), grado de cristalinidad (X_c)[78]. Fuente: Elaboración propia.

Polímero	DTg (°C)	ΔH_{fus} (J/g)	T _f (°C)	X _c
PEL400-2	415	43.9	16.0	22.3
PEL1000-2	401	166.9	43.2	84.7
PEL1500-2	400	167.7	53.9	85.2
PEL2000-2	403	171.9	59.1	87.3
PEL3000-2	402	194.1	62.8	98.5

3.2.3. Formación de fibras

Los polímeros anfífilicos al ser lineales pueden formar fibras que podrían tener varias aplicaciones en ingeniería de tejidos[82–84]. Las fibras se obtuvieron con los polímeros PEL1500-2, PEL2000-2 y PEL3000-2, las cuales fueron estudiadas

mediante imágenes de microscopía óptica como se muestran en la figura 3.6. El poliéster PEL 1000-2 no formó fibra, por su baja temperatura de fusión (43°C) y a su baja cristalinidad, (tabla 3.2).

Los poliésteres PEL2000-2 (figura 3.6 b) y PEL3000-2 (figura 3.6c) mostraron fibras con forma y diámetro uniformes de 70 y 200 μm , respectivamente. Sin embargo, en el caso de PEL1500-2 (Figura 3.6 a), las fibras formadas son de diámetro y forma irregulares, probablemente debido a un punto de fusión aún bastante bajo. Por otro lado, es interesante analizar la diferencia de grosor entre las fibras obtenidas de los poliésteres PEL2000-2 y PEL3000-2, ya que, las masas molares son similares. Una posible explicación puede ser que la longitud de PEG en el poliéster PEL3000-2 es mayor que la del poliéster PE2000-2, por ende, los dipolos permanentes deberían aumentar y favorecer un mejor empaquetamiento.

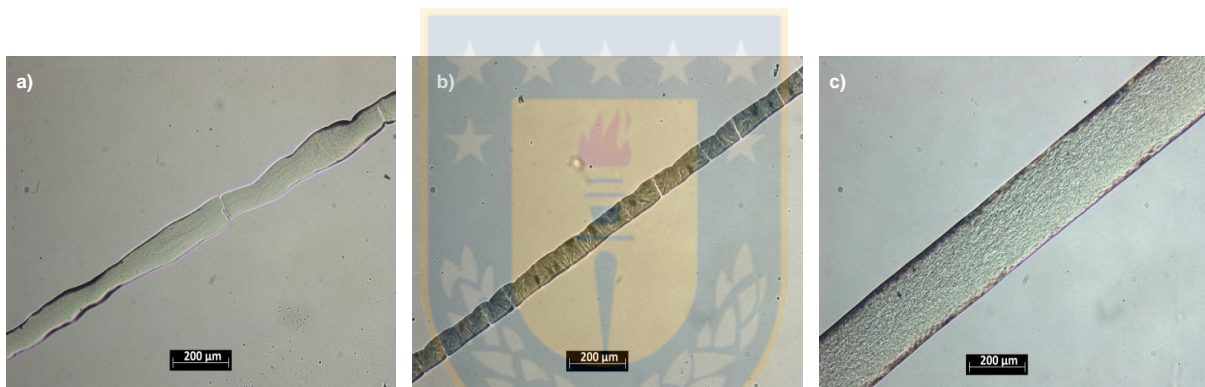


Figura 3.6. Microfotografías ópticas de fibras observadas mediante microscopía óptica a) PEL1500-2, b) PEL2000-2 y c) PEL3000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores[74].

3.2.4. Formación de micelas directas e inversas

El estudio de formación de micelas directas se realizó con los poliésteres PEL1000-2, PEL1500-2, PEL2000-2 y PEL3000-2. El poliéster PEL400-2 no se pudo analizar debido a su insolubilidad en agua. La metodología utilizada para estudiar el comportamiento anfífilico de los poliésteres en agua es conocida y radica en la incorporación de una sonda fluorescente apolar (como el pireno) en el núcleo de las micelas a medida que se forman. Una vez incorporada, se busca detectar un cambio espectral que permita determinar la concentración micelar crítica[40,85,86].

Tal concentración micelar crítica (CMC) se halló utilizando la relación de longitud de onda de excitación a 337 y 334 nm (I_{337} / I_{334}), y a una longitud de onda de emisión de 390 nm del pireno [24,68], versus el logaritmo de la concentración de polímero. En la figura 3.7 a se muestra el espectro de excitación de pireno en soluciones que contienen concentraciones crecientes de PEL1000-2. A medida que aumenta la concentración de polímero, se observa un desplazamiento en la longitud de onda del pico mayor desde 334 nm a 337 nm. Por otro lado, en la figura 3.7 b se puede observar el punto de intersección que determina la concentración micelar crítica. Los poliésteres PEL1500-2, PEL2000-2 y PEL3000-2 exhiben un comportamiento similar, y sus espectros se pueden ver en el anexo A-3.

La CMC obtenida para cada polímero se muestra en la tabla 3.3. En ella se aprecia un rango de concentraciones entre 0.0062 y 0.0094 mg/mL, lo que indica que las micelas directas se forman a bajas concentraciones de polímero. Los valores de la CMC obtenidos se incrementan a medida que el largo de cadena del monómero PEG aumenta. En efecto, datos bibliográficos indican que a medida que aumenta la hidrofobicidad, la CMC disminuye [68,82,87]. En concordancia con esto, el poliéster PEL1000-2 presenta el mayor porcentaje de hidrofobicidad y el menor valor de CMC en toda la serie. Este comportamiento sugiere que la interacción entre el poliéster y el medio acuoso es baja, lo que provoca la formación de un centro apolar y, por lo tanto, la formación de micelas.

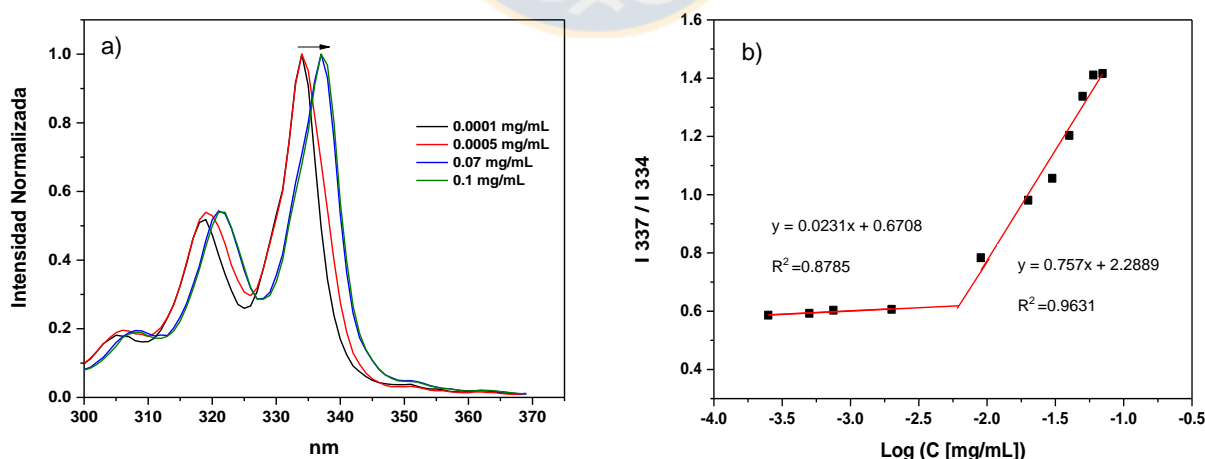


Figura 3.7. a) Espectros de excitación con λ emisión a 383 nm de solución acuosa saturada de pireno en presencia de PEL1000-2 a diferentes concentraciones (mg/mL). b) Dependencia de la relación de intensidad (I_{337} / I_{334}) de pireno sobre el logaritmo de concentración de PEL1000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores [74].

Tabla 3.3. Concentración micelar crítica de micelas directas con su respectivo tamaño de partícula. Fuente: Elaboración propia.

POLIÉSTER	Micelas directas			Micelas inversas	
	Hidrofobicidad ^a (%)	CMC (mg/mL)	Tamaño de partícula (nm)	CMC (mg/mL)	Tamaño de partícula (nm)
PEL1000-2	33	0.0062	70 ± 0.4	0.087	116 ± 5
PEL1500-2	25	0.0064	125 ± 4	0.057	85 ± 3
PEL2000-2	20	0.0070	150 ± 8	0.033	61 ± 2
PEL3000-2	14	0.0094	190 ± 4	0.012	52 ± 5

a. Porcentaje de hidrofobicidad calculado teóricamente considerando masa molar del poliéster y masa molar del segmento hidrofóbico.

Por otro lado, el tamaño de las micelas se determinó utilizando la técnica de dispersión dinámica de la luz (DLS), usando concentraciones por sobre la CMC respectiva de cada polímero. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3.3. En ella se puede apreciar un incremento del diámetro de las micelas a medida que la masa molar de PEG es mayor. Una posible explicación para esta tendencia es que la conformación del polímero depende significativamente de las interacciones polímero-disolvente, es decir, a medida que aumenta la masa molar del PEG, la afinidad intermolecular entre el agua y los segmentos hidrofílicos de los polímeros se ve favorecida[88], lo que promueve la movilidad de las cadenas de los poliésteres, y provoca un mayor tamaño de la micela.

Para visualizar la forma de los agregados micelares se utilizó la microscopía electrónica de transmisión (TEM). En la figura 3.8 se muestran los resultados de TEM para esta serie de poliésteres. En ella se observan agregados esféricos para todos los poliésteres en estudio, lo cual, era esperable según la literatura[25,89], debido a que las micelas esféricas presentan mayor superficie de contacto con el medio, de modo que el segmento hidrofílico interacciona con las moléculas de agua, protegiendo al segmento hidrofóbico[90], la esfericidad también depende de la concentración[88] y del procedimiento realizado a las muestras para tomar las imágenes TEM[68,91].

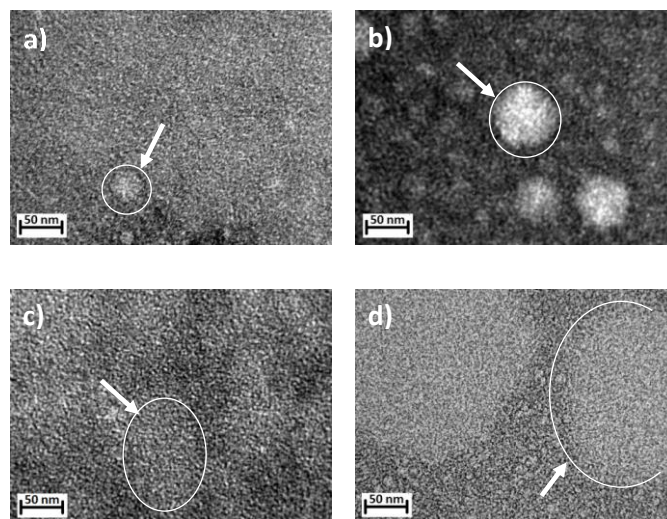


Figura 3.8. Imágenes TEM a) PEL1000-2, b) PEL1500-2, c) PEL2000-2, d) PEL3000-2. Fuente: D. Andrade, M. Dahrouch, S. Sánchez y colaboradores[74].

Una vez determinada la CMC en medio polar, se procedió a realizar estudios en solventes apolares, con el fin de caracterizar y determinar su comportamiento en la formación de micelas inversas. Para ello, se utilizó la misma serie de polímeros, con el fin de corroborar el comportamiento anfílico de esta serie de poliésteres. Si bien existe una amplia gama de estudios de micelas inversas[92–96], la metodología no está descrita en detalle en la literatura. Teniendo en cuenta esto, se procedió a realizar un estudio de micelas inversas utilizando una metodología similar a la antes descrita para micelas directas, es decir, ocupando la sonda fluorescente piranina. Esta sonda polar se incorpora en el centro de la micela inversa, generando un corrimiento del espectro de emisión hacia el azul.

La elección del solvente se realizó considerando que este debe ser miscible con pequeñas cantidades de solvente polar, de tal manera que se promueva la formación de micelas inversas[93,96]. Esto debido a la existencia de los segmentos hidrofílicos en los polímeros en estudio que representan la mayor proporción en la serie PEL. Por lo anterior, se determinó la CMC usando una mezcla de cloroformo/metanol en una proporción 9:1, respectivamente[88].

La concentración micelar crítica se determinó mediante la relación de intensidad de emisión a longitudes de onda 430/424 nm utilizando una longitud de excitación a 406 nm, en función de la concentración de poliéster. A diferencia de las micelas directas,

las cuales, presentaban un desplazamiento hacia el rojo, en las micelas inversas el corrimiento se visualiza hacia el azul (Figura 3.9 a). En la figura 3.9 b se puede apreciar el punto de intersección que permitió determinar la concentración micelar crítica. Estos valores se encuentran tabulados en la tabla 3.3 (columna 4) donde el rango encontrado para la formación de micelas inversas fue entre 0.087 y 0.012 mg/mL.

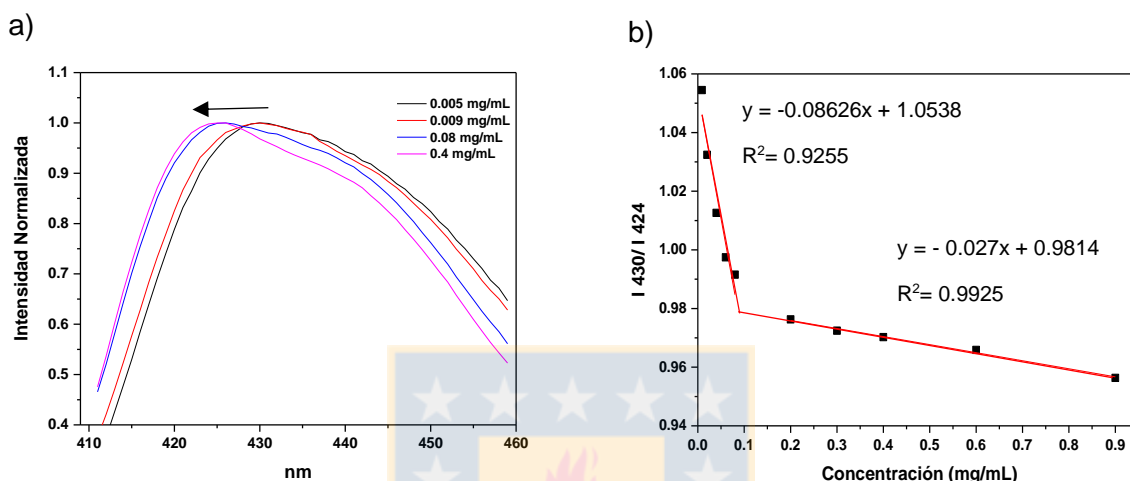


Figura 3.9. a) Espectros de emisión de una solución cloroformo/metanol saturado de piranina en presencia de PEL1000-2 a diferentes concentraciones (mg/mL). b) Dependencia de la relación de intensidad (I_{430} / I_{424}) de piranina sobre la concentración de polímero PEL1000-2 (mg / mL). Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 3.3 se puede observar que a medida que aumenta la masa molar del segmento hidrofílico, disminuyen los valores de la CMC inversa. Esta tendencia puede deberse a la baja afinidad entre el segmento PEG y el solvente apolar, lo que implicaría que, a menor porcentaje de segmento hidrofóbico, menor será el valor de la CMC inversa (tabla 3.3 columna 4). Este efecto se ve reflejado en una disminución en el tamaño de partícula de la micela con respecto a la masa molar del segmento PEG (Tabla 3.3 columna 5). La disminución del tamaño de partícula va desde 116 nm a 52 nm para las masas molares de PEG 1000 y 3000, respectivamente. Por otro lado, no se logró visualizar las micelas inversas mediante estudios de TEM, posiblemente debido a la preparación de la muestra.

Por otra parte, la figura 3.10 muestra a modo de comparación los resultados de micelas directas e inversas. En ella se graficó la CMC en ambos casos con respecto a cada polímero. Se puede ver, que la CMC de micelas directas aumenta levemente a medida que se incrementa la masa molar del segmento hidrofílico, a diferencia de las micelas inversas, donde la CMC presenta una disminución marcada. Estos resultados se pueden explicar mediante la relación polímero solvente. En el caso de micelas inversas la relación polímero/solvente apolar genera un mayor efecto solvofóbico, atribuida al aumento en la masa molar del segmento PEG, provocando una disminución marcada en la CMC inversa, en cambio, en las micelas directas el porcentaje de hidrofobia disminuye en la serie, por ende, no hay un incremento pronunciado en la CMC directa.

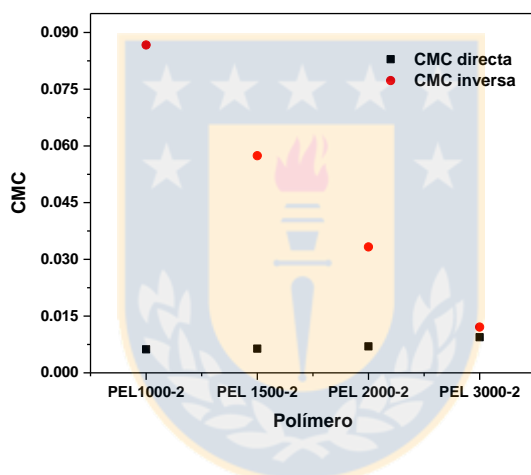


Figura 3.10. Comparación de la CMC entre micelas directas e inversas, usando las condiciones descritas en metodología. Fuente: Elaboración propia.

Además, en la gráfica se puede observar que en el caso del poliéster PEL3000-2 la CMC directa e inversa son similares. Esto puede deberse a que este es un polímero con relación hidrofílica/hidrofóbica de 86/14% respectivamente, lo que implicaría la mayor CMC directa y la menor CMC inversa. En cuanto al tamaño de micela, existe una diferencia marcada, donde las directas presentan un tamaño de 190 nm y las inversas de 52 nm. El mayor tamaño de las micelas directas sugiere que el segmento hidrofílico (PEG) tiene libertad de movimiento (puede expandirse), y generar una micela de mayor diámetro. Por otro lado, al formarse la micela en medio apolar, el bloque de PEG se encuentra en el centro de la micela sin libertad de movimiento y

probablemente formando un ovillo, y por lo tanto es de esperarse una micela de menor tamaño (Figura 3.11).

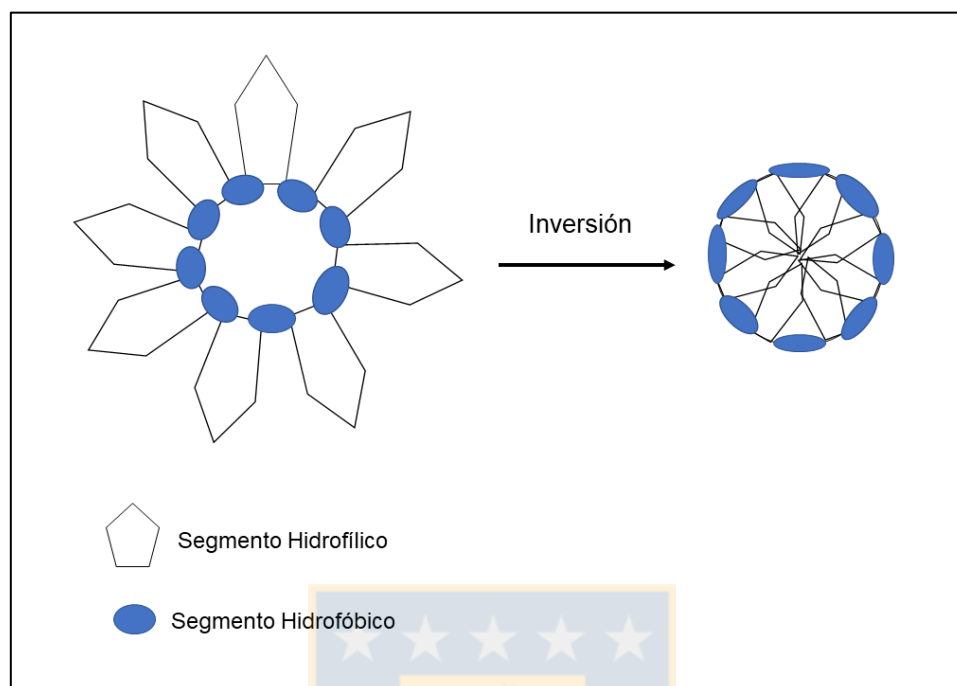


Figura 3.11. Diagrama propuesto para la inversión de micela de un medio polar a uno apolar. Fuente: Elaboración propia.

3.3. Caracterización de poliésteres anfifílicos entrecruzados

Los poliésteres anfifílicos entrecruzados (PEE) se sintetizaron mediante policondensación entre el monómero MCTS y PEG con diferentes masas molares, obteniéndose 6 polímeros con rendimientos entre 80-97%. Estos poliésteres fueron caracterizados mediante resonancia magnética nuclear de giro de ángulo mágico de alta resolución (HR-MAS) y polarización cruzada de giro de ángulo mágico (CP-MAS), ya que son entrecruzados (insolubles), para obtener el espectro de protón se utilizó la sonda HR-MAS y CP-MAS para los espectros de carbono y silicio. Debido a que todos los espectros presentan las mismas señales, ejemplificaremos los resultados con el poliéster PEE2000.

En la figura 3.12 en el espectro de protón del poliéster PEE2000, dos señales indican la formación del poliéster, i) la señal a 4.72 ppm que indica la formación del enlace $-\text{COOCH}_2-$. ii) la señal a 3.65 ppm corresponde al bloque de PEG ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$).

También se pueden observar las señales características de la cadena carbonada del monómero MCTS en el rango 0.02-2.23 ppm.

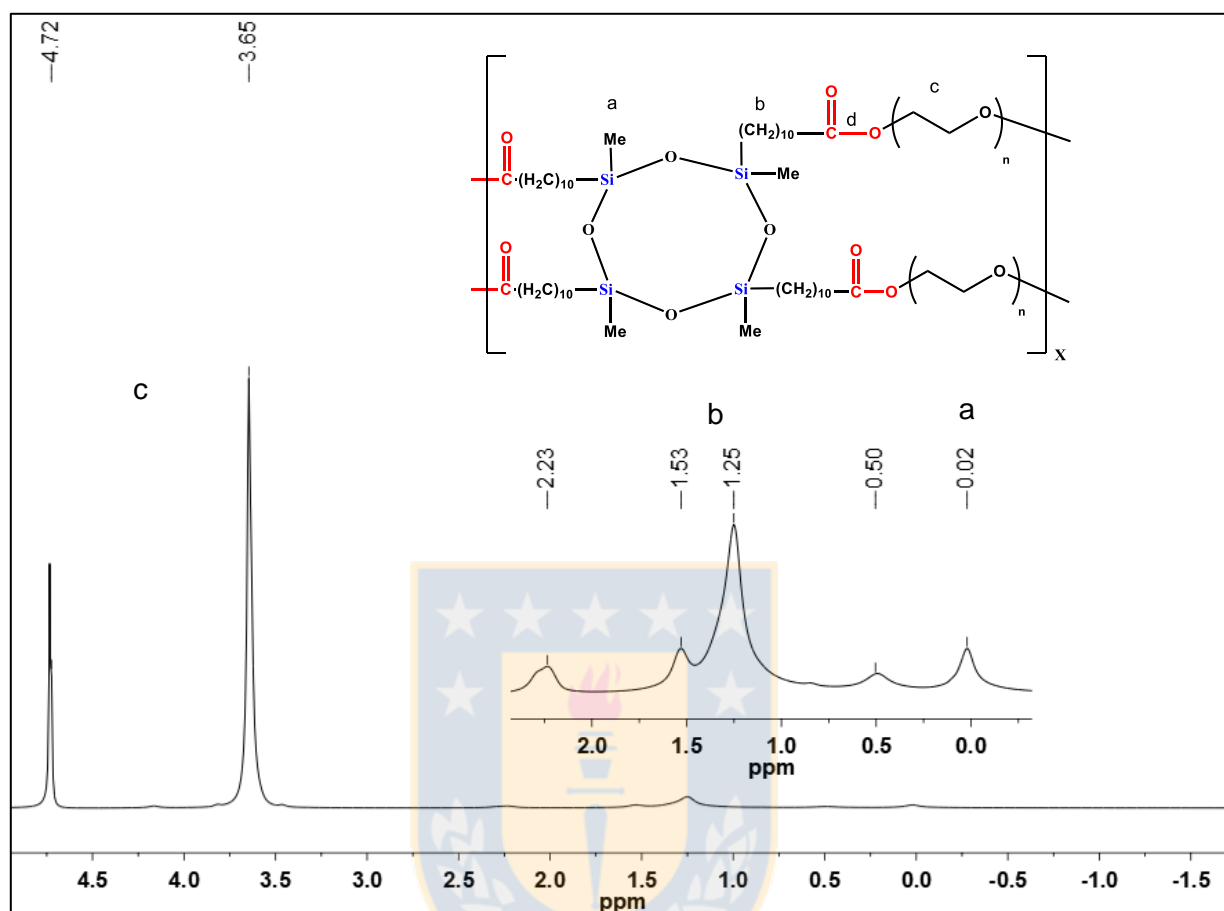


Figura 3.12. Espectro de resonancia magnética nuclear de protón del poliéster PEE2000. El espectro se obtuvo mediante la sonda HR-MAS. Fuente: Elaboración propia.

En la figura 3.13 se presentan los espectros de ¹³C y ³²Si del poliéster PEE2000, donde se confirma la reacción de transesterificación, por la desaparición de la señal a 51.44 ppm (¹³C), correspondiente al metoxilo terminal del monómero sililado. Además, se observan las señales características del poliéster: 64.38 ppm correspondiente a COOCH₂CH₂, y la señal intensa a 71.63 ppm aportada por los carbonos del bloque de PEG (-CH₂CH₂O-). Por otro lado, el espectro de silicio muestra una única señal a -20.34 ppm característica de los grupos siloxanos.

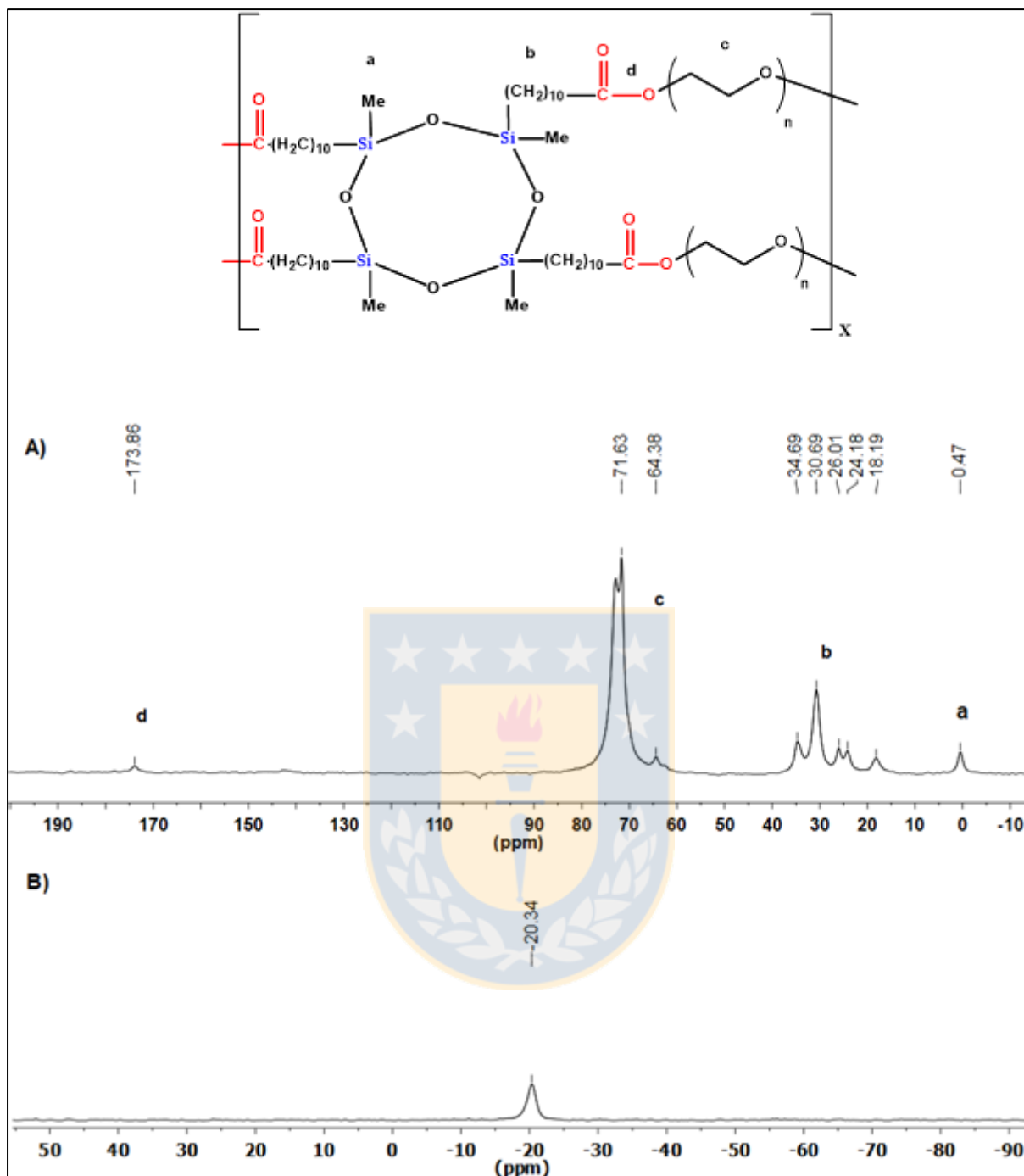
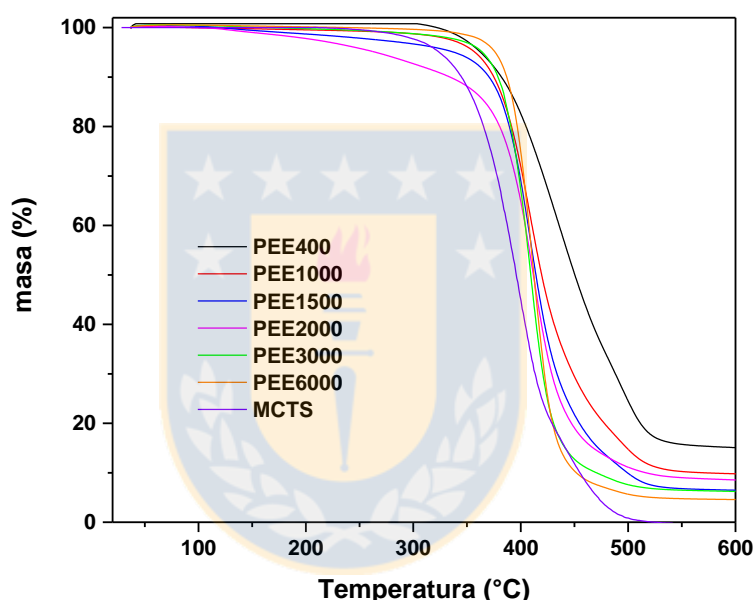


Figura 3.13. Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono del PEE2000. El espectro fue tomado usando una sonda de CP-MAS. Fuente: Elaboración propia.

3.3.1. Caracterización mediante análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico de los poliésteres anfifílicos entrecruzados (Figura 3.14) muestra que las temperaturas de descomposición, si bien no siguen una clara tendencia, presentan una temperatura de degradación promedio por sobre los 400°C. Si se compara con los polímeros lineales esta temperatura de degradación promedio es mayor en unos 10 a 15°C aproximadamente (tabla 3.4). Esta mayor estabilidad térmica de los poliésteres anfifílicos entrecruzados, puede deberse a la reticulación de las cadenas poliméricas. Cabe señalar que dicha estabilidad comparada con los monómeros iniciales se mantiene en el caso de PEG y aumenta levemente en



comparación a MCTS después de la reacción de policondensación, además, el porcentaje de masa residual es de un 5 a 15%, cuando la degradación de los poliésteres alcanza aproximadamente 400 °C.

Figura 3.14. Perfiles termogravimétricos para la serie PEE. Fuente: Elaboración propia.

Para la detección de las transiciones endotérmicas se realizaron análisis mediante DSC, en un rango de temperatura entre -90°C a 100°C (Figura 3.15 a). Se determinó el punto de fusión (T_f), la temperatura de transición vítrea (T_g), la entalpía de fusión (ΔH_{fus}), y se calculó el grado de cristalinidad (X_c) para cada poliéster. Estos valores muestran el comportamiento térmico de estos polímeros, los cuales, presentan un

estado semi-cristalino. La presencia del segmento PEG contribuye al polímero un comportamiento cristalino, que se ve reflejado en el aumento del punto de fusión a medida que aumenta la masa molar de PEG. Esto provoca un incremento en el grado de cristalinidad. PEE6000 y PEE400 corresponde a los poliésteres con mayor y menor grado de cristalinidad respectivamente. El poliéster PEE400 presenta un intervalo de reblandecimiento, ya que, a temperatura ambiente se encuentra en un estado de aspecto elastómero y no líquido, como se esperaría por su T_f de -27°C , (Figura 3.15 b) [64,97].

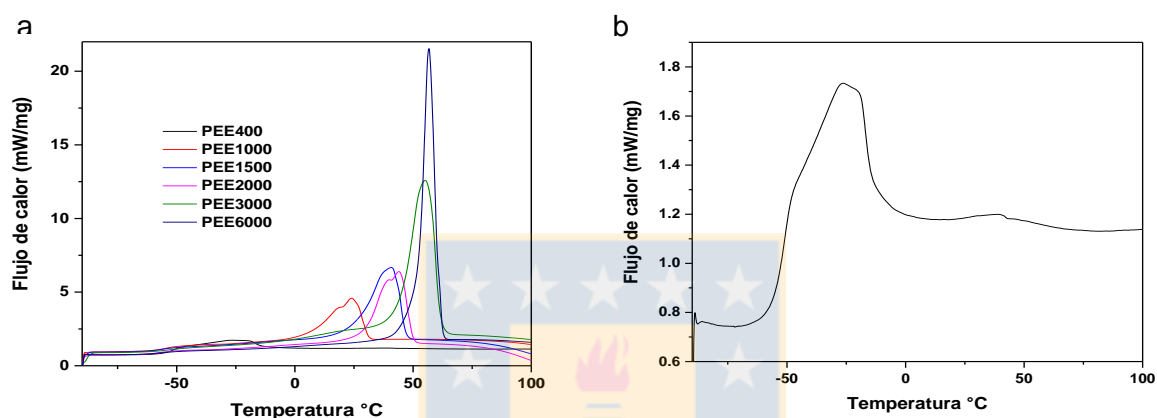


Figura 3.15. Termogramas obtenidos por DSC para a) la serie PEE en el rango entre $0-100^{\circ}\text{C}$ b) para PEE400 con un rango vertical ampliado. Fuente: Elaboración propia.

La zona amorfa de estos poliésteres se ve reflejada en las temperaturas de transición vítrea (T_g), que se encuentran en el rango entre -51 a -54.91°C , que se mantiene prácticamente constante. Estos valores de T_g son un poco más altos en comparación a los reportados para PEG[81] y más bajos que el monómero MCTS (-2.6°C). Cabe señalar que este tipo de poliésteres presenta un comportamiento elástico o un estado elástico, debido a la alta masa molar entre nudos, establecida por el largo de cadena de PEG[64].

A continuación, se muestra una tabla resumen con los datos obtenidos, a partir de los análisis de TGA y DSC, donde el grado de cristalinidad se calculó según la ecuación 2 de la sección 3.2.2

Tabla 3.4. Temperatura de descomposición (DTG), entalpía de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (T_f), grado de cristalinidad (X_c)[78] y temperatura de transición vítrea (T_g). Fuente: Elaboración propia.

Polímero	DTG (°C)	ΔH_{fus} (J/g)	T_f (°C)	X_c	T_g
PEE400	434	57.4	-27.4	29.2	-51.78
PEE1000	409	60.9	23.9	31.0	-52.78
PEE1500	410	85.1	40.8	43.2	-54.91
PEE2000	412	86.0	44.0	43.6	-54.54
PEE3000	411	92.0	55.1	46.7	-52.04
PEE6000	411	133	56.8	67.8	-51.48

3.3.2. Determinación del grado de entrecruzamiento

Una de las propiedades más importantes en los poliésteres reticulados, es el grado de entrecruzamiento. Para determinar esta propiedad los modelos más usados son los de Frenkel-Flory-Rehner[98–102], y el de Mooney Rivlin[103]. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado experimentos de protón de doble coherencia cuántica (DQ), que permiten la determinación de la densidad de entrecruzamiento a partir del parámetro “Constante de acoplamiento dipolar residual”, sin necesidad de asumir ningún modelo estructural o dinámico[104–107]. En polímeros lineales y en ausencia de restricciones topológicas, el movimiento de las cadenas es isotrópico, por lo que la constante de acoplamiento dipolar es nula. La presencia de restricciones topológicas (entrecruzamientos o entrelazamientos) produce una cierta anisotropía en el movimiento de las cadenas que causan acoplamientos dipolares residuales (D_{res}). Utilizando el valor D_{res} es posible obtener el parámetro de orden (S_b) que se relaciona directamente con la densidad de entrecruzamiento según la siguiente ecuación:

$$S_b = k \frac{D_{res}}{D_{stat}}$$

Donde: D_{stat} : Constante de acoplamiento dipolar estático: K : Factor que depende de los movimientos y acoplamientos intra-segmentales[69].

El cociente k/D_{stat} es posible obtenerlo mediante simulaciones atomísticas, que a la fecha solo se han realizado para estructuras sencillas como el caucho natural. Así, el parámetro de orden S_b , solo es posible relacionarlo cualitativamente con la densidad de entrecruzamiento mediante D_{res} , independientemente de la dinámica segmental y sin necesidad de asumir un modelo en específico. Cabe señalar que al comparar polímeros con igual estructura química, la diferencia en las distribución de D_{res} se debe a la estructura de la red[107,108].

Para medir D_{res} se utiliza el experimento de doble coherencia cuántica (DQ), que nos entrega dos señales: Intensidad de referencia (I_{ref}), e intensidad de doble cuanto (I_{DQ}). Ambas señales contienen información estructural y dinámica[109]. A tiempos de excitación cortos (τ_{DQ}), la intensidad de doble cuanto es creciente, debido a que contiene la información de la mitad de los órdenes cuánticos excitados, provenientes de los segmentos acoplados dipolarmente (segmentos elásticamente activos pertenecientes a la red). A tiempos de excitación (τ_{DQ}) mayores se observa el decaimiento de dicha señal, debido a factores dinámicos. Por otra parte, I_{ref} contiene la información de la otra mitad de los órdenes cuánticos excitados, relacionados tanto con los segmentos de cadena acoplados como con los no acoplados dipolarmente, y que se relacionan con los defectos de la red elásticamente no activos (cadenas colgantes o lazos que poseen un movimiento isotrópico).

Para el estudio del entrecruzamiento de las redes es necesario obtener la información estructural, y eliminar la dinámica (dada por la estructura y concentración de defectos en estas redes), pues esta última no da información alguna sobre la estructura y distribución de masas molares entre nudos.

La separación de la información estructural y dinámica requiere de un proceso de normalización, por el que se identifican y se sustraen todos aquellos segmentos no acoplados dipolarmente. La intensidad de DQ normalizada, I_{nDQ} , es el cociente entre I_{DQ} y la intensidad total de todos los segmentos acoplados, $I_{\Sigma MQ}$

$$I_{nDQ} = \frac{I_{DQ}}{I \Sigma MQ}$$

Para obtener $I \Sigma MQ$ se debe sumar la intensidad de los segmentos acoplados, la cual, se encuentra repartida entre las dos componentes obtenidas experimentalmente, I_{DQ} e I_{ref} , y restar la intensidad de los segmentos no acoplados dipolarmente. La fracción de polímero no acoplada (defectos de la red), presenta una relajación exponencial mucho más lenta que los segmentos acoplados dipolarmente y por ello es fácilmente reconocible. En la representación gráfica de $I_{ref} - I_{DQ}$ versus τ_{DQ} , la parte final de la curva se ajusta a una exponencial, que representa la fracción de defectos de la intensidad total. Una vez obtenida la fracción de defectos se puede calcular $I \Sigma MQ$:

$$I_{\Sigma MQ} = I_{DQ} + I_{ref} - m e^{-\tau_{DQ}/T_2^*}$$

donde m es la fracción de defectos no acoplados dipolarmente y T_2^* su tiempo de relajación característico. Mediante este procesamiento matemático se puede obtener la gráfica I_{nDQ} versus τ , que es una curva creciente, totalmente independiente de los movimientos segmentales (dinámica segmental) y que depende exclusivamente de la constante de acoplamiento dipolar, relacionada directamente con entrecruzamiento de la red. I_{nDQ} es una función independiente de la temperatura, únicamente contiene información codificada de la estructura de red. Esta función creciente debe alcanzar un valor constante de 0.5, puesto que I_{DQ} solo contiene información de la mitad de los órdenes cuánticos excitados. Por tanto, I_{nDQ} está dominada por las interacciones dipolares relacionadas con la estructura de red, es decir, es proporcional a S_b . A partir de la gráfica I_{nDQ} v/s τ (ms) se puede evaluar las interacciones dipolares ajustándola a una función de distribución típica (distribución gaussiana o gamma)[106–109].

La figura 3.16 muestra los resultados de los experimentos de doble coherencia cuántica para la serie PEE. La figura 3.16 a muestra, a modo de ejemplo, el experimento de doble coherencia cuántica del poliéster PEE400, en ella se observa las señales de Intensidad de referencia (I_{ref}), e intensidad de doble cuanto (I_{DQ}).

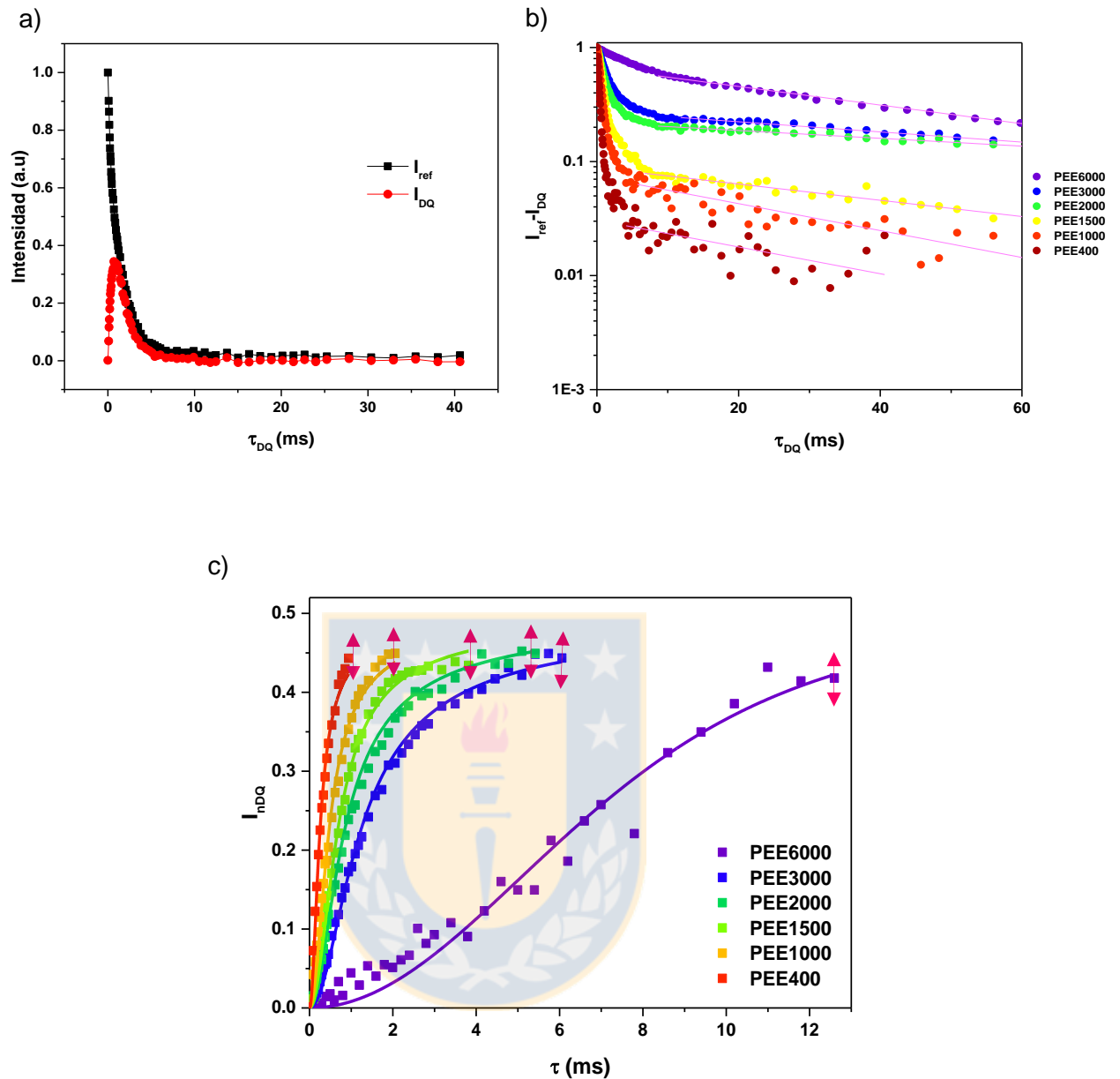


Figura 3.16. a) Experimento de doble coherencia cuántica (DQ), del polímero PEE400 con su intensidad de referencia (I_{ref}), y de doble cuanto (I_{DQ}), b) Fracción de polímero no acoplada, defectos de la red, para la serie PEE, c) I_{nDQ} para la serie PEE que entrega información de la estructura de red, es decir, es proporcional a S_b y su respectivo ajuste. Fuente: Elaboración propia.

De la figura 3.16 b se determinó el porcentaje de defectos presentes en la red polimérica de cada poliéster, obteniéndose valores en el rango de 0 – 0.7%. Los poliésteres que presentan mayor y menor porcentaje de grupos terminales son PEE6000 y PEE400 respectivamente. Este parámetro tiene directa relación con el grado de entrecruzamiento que presenta esta serie de polímeros, y confirma la presencia de una red tridimensional en cada polímero. Para las curvas $I_{NDQ} V/s \tau$ (ms) (Figura 3.16 c), se realizó un ajuste gaussiano segmentado para determinar D_{res} , el cual, es directamente proporcional a la densidad de entrecruzamiento, e inversamente proporcional a la masa molar entre nudos. En la figura 3.17 se grafican los valores D_{res} para la serie de polímeros entrecruzados. Donde el poliéster que presenta mayor grado de entrecruzamiento es PEE400, un resultado esperable considerando que es el poliéster que presenta el menor largo de cadena de PEG, y por lo tanto genera una menor masa molecular entre nudos (M_c)[107]. A medida que aumenta la masa molar del segmento hidrofílico, la masa molar entre nudos va aumentando, y como consecuencia, el grado de entrecruzamiento va disminuyendo generando poliésteres elásticos. Por lo tanto, el poliéster con menor grado de entrecruzamiento es PEE6000. Cabe señalar que esta técnica permite conocer cómo se cambia la densidad de entrecruzamiento cuando se tiene una serie con la misma estructura química. Otro punto a destacar, es que a diferencia de otros polímeros entrecruzados, éstos presentan altas masas molares entre nudos, lo cual da a lugar a materiales muy elásticos, incluso sin forma definida[110].

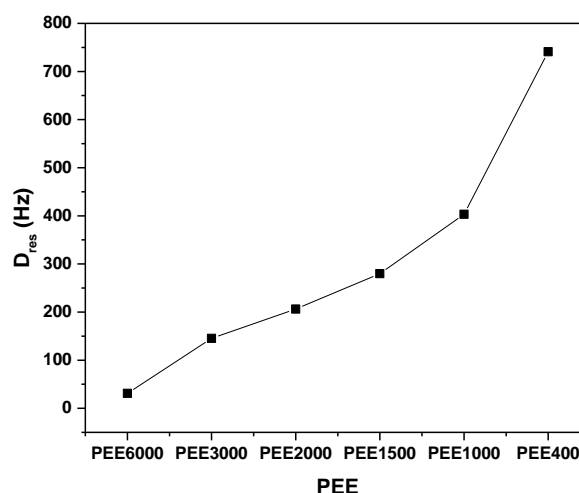


Figura 3.17. Densidad de entrecruzamiento para la serie PEE. Fuente: Elaboración propia.

Esta técnica no solo determina la densidad de entrecruzamiento de una serie de polímeros, sino que también permite realizar experimentos de cinética, para evaluar el tiempo de reacción, y la influencia de la presión en la generación de la red (en el caso de transesterificaciones). Lo anterior, permite obtener el grado de entrecruzamiento deseado.

Utilizando la ecuación de Carothers, es posible calcular un valor teórico del punto gel para un determinado polímero[75]. El valor calculado para toda la serie fue de 75%. Esto significa que el cambio de estado provocado por la gelificación ocurre cuando la reacción a llegado al 75% de conversión. Sin embargo, en el punto gel la reacción no necesariamente a finalizado, lo cual fue corroborado mediante estudios de cinéticas de reacción[64,75,108,111].

En la figura 3.18 se muestran las cinéticas de conversión para PEE400, bajo diferentes condiciones de presión, a temperatura constante de 185°C. Cuando la reacción procede sin vacío no se alcanza el equilibrio en el tiempo de estudio (6 h). La aplicación de vacío medio no cambió significativamente en el perfil, por lo que se disminuyó la presión del sistema después de las 3 h de reacción, hasta llegar a equilibrio. El último experimento se realizó con alto vacío llegando al equilibrio y generando la red más entrecruzada para este poliéster. A partir de este experimento se determinó que el tiempo de reacción necesario para obtener la red más entrecruzada corresponde a 1 h después de apreciar el “punto gel” a una presión de 0.03 mbar. Por esta razón todos los poliésteres fueron sintetizados bajo estas condiciones.

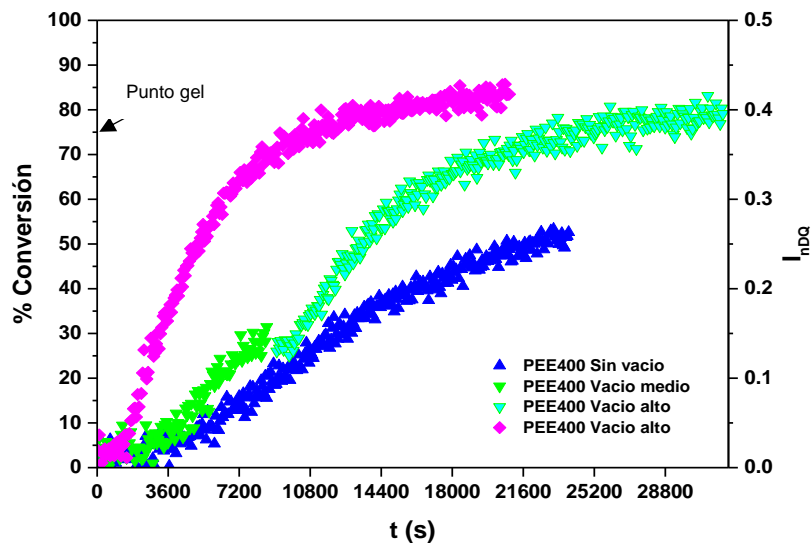


Figura 3.18. Perfiles de cinética a diferentes presiones de la policondensación para el polímero PEE400, la flecha indica el punto gel teórico[75]. Fuente: Elaboración propia.

3.3.3. Caracterización morfológica de la serie PEE

Para caracterizar la morfología de los poliésteres sintetizados, se tomaron imágenes de microscopía electrónica de barrido, la preparación de la muestra consistió en hinchar un trozo de poliéster en agua para luego liofilizarlo. Con esta metodología se espera que la estructura del hidrogel hinchado se mantenga una vez liofilizado. Para PEE400 se observó una morfología lisa y compacta (Figura 3.19 a). A medida que se aumentó el largo de la cadena del segmento hidrofílico se observó remanentes de poros, esto se puede deber a que la presión de liofilización fue muy baja, y el material, cerró parcialmente sus poros. El único poliéster en el cual se logró visualizar poros bien definidos fue PEE6000. Con poros de diferentes tamaños, entre 40-400 μm (Figura 3.19 d).

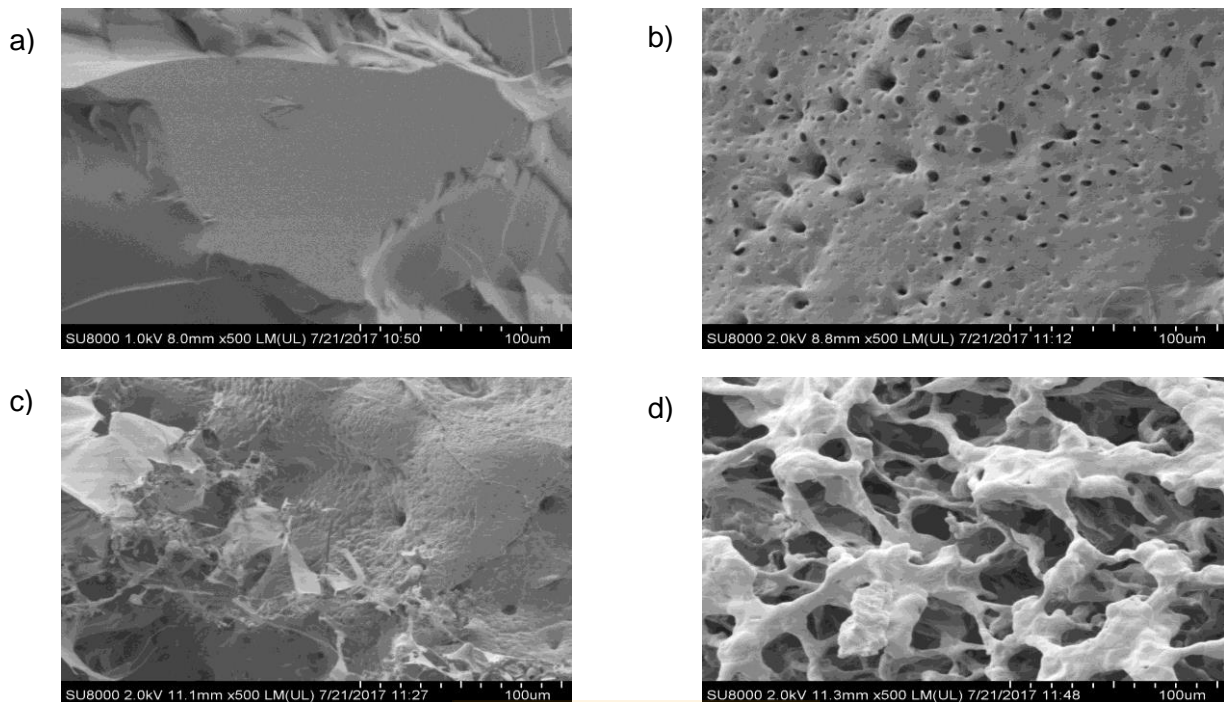


Figura 3.19. Imágenes tomadas mediante SEM a) PEE400, b) PEE1500, c) PEE3000 y d) PEE6000. Fuente: Elaboración propia.

En la muestra de PEE6000 hinchado en agua, también se puede apreciar cavidades interconectadas producto del hinchamiento (Figura 3.20). A diferencia de otros hidrogeles encontrados en literatura este material se ve completamente poroso, y no presenta zonas compactas o lisas como se muestra en los poliésteres PEE400, PEE1500[112,113].

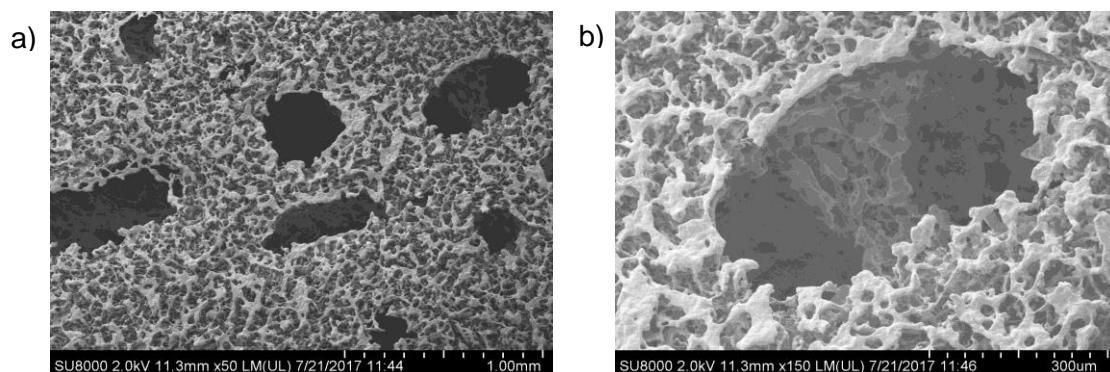


Figura 3.20. Imágenes de microscopía de barrido de poros interconectados del polímero PEE6000. Fuente: Elaboración propia.

3.3.4. Grado de hinchamiento- encapsulación y liberación de Rodamina

Las posibles aplicaciones que presentan esta clase de poliésteres pueden ser muy variadas, por ello se caracterizó la capacidad de hinchamiento en medio acuoso durante 24 h. Cabe señalar que esta clase de polímeros puede hincharse tanto en medio acuoso como en medio orgánico apolar, debido a su propiedad anfifílica, sin embargo, ya que se espera que sean biocompatibles, se enfocó el estudio en medio acuoso con el fin de un posible uso biomédico. La capacidad de hinchamiento se relaciona con la densidad de entrecruzamiento, ya que, mientras mayor sea el grado de entrecruzamiento menor será la capacidad de retener agua, y por ende menor tamaño de poro tendrá la red. Por otro lado, a medida que aumenta la masa molar entre nudos el grado de entrecruzamiento es menor[114,115]. En la figura 3.21 se puede apreciar como el poliéster PEE400 es el polímero con menor grado de hinchamiento y PEE6000 es el que presenta mayor capacidad para retener agua. El rango del grado de hinchamiento en 24 h es entre 2-12 g de agua/g de polímero.

Una vez determinado el grado de hinchamiento, se procedió a estimar la capacidad de encapsulación, utilizando rodamina B. Esta molécula es muy utilizada en ensayos de liberación[71], por su pequeño tamaño (M_n : 479.02 g/mol), alta solubilidad, y por ser un compuesto coloreado (rojo), esta propiedad permite seguirla fácilmente mediante espectroscopia de UV- visible[71]. La capacidad de encapsulamiento determinada fue de 74% para PEE400, siendo el polímero con menor capacidad de encapsulación, 83% para PEE1500, 90 % para PEE3000 y PEE6000 es el poliéster de mayor capacidad de encapsulación con un 100%. Cabe señalar que este ensayo se realizó solo para los poliésteres PEE400, PEE1500, PEE3000 y PEE6000.

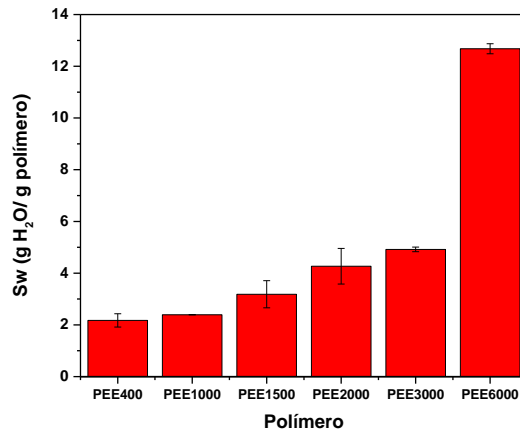


Figura 3.21. Grado de hinchamiento en medio acuoso, en 24 h a 25°C. Fuente: Elaboración propia.

Una vez encapsulada la rodamina se procedió a realizar la liberación de esta durante 100 h. La absorbancia se midió en un intervalo de tiempo de 30 min al inicio de la liberación, para luego medir cada 1h (los primeros días) y finalmente se midió cada 4 h. Para así obtener el porcentaje de liberación acumulado de rodamina. En la figura 3.22 se puede apreciar una clara tendencia con respecto al grado de entrecruzamiento, y por ende con la masa molar del segmento hidrofílico (PEG). Los polímeros que presentan mayor grado de entrecruzamiento (PEE400, PEE1500) exhiben bajas velocidades de liberación con alrededor de un 15% de rodamina liberada. Lo anterior, podría deberse al tamaño de poro, ya que es menor en comparación a los demás polímeros, provocando que la zona de contacto sea mínima, lo que implicaría una importante interacción entre el analito y la red, induciendo una lenta liberación. Para los poliésteres con menor grado de entrecruzamiento presentan porcentajes de liberación considerables, donde PEE6000 es el único que llega a equilibrio. Es importante señalar que, este tipo de experimento se podría ajustar a un modelo de difusión, sin embargo, no es posible debido a que estos polímeros no presentan geometría determinada, además, no existe la suficiente información para aplicar un modelo de sistemas portadores (carriers) como éstos[116,117]. Sin embargo, suponiendo que las muestras presentan una geometría esférica se puede ajustar a la siguiente ecuación desarrollada por Peppas[118].

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = kt^n$$

Donde Mt corresponde a la masa de rodamina liberada en un tiempo t , M_{∞} es la masa de rodamina en tiempo infinito, k es la constante de difusión, y n es el exponente difusional. Ajustando los datos a esta ecuación se determinó los exponentes difusionales, mediante la pendiente, para cada poliéster, los cuales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3.5. Exponentes difusionales, para cada poliéster. Fuente: Elaboración propia.

Poliéster	n	Mecanismos de liberación
PEE400	0.457	anómalo
PEE1500	0.653	anómalo
PEE3000	0.847	anómalo
PEE6000	0.433	Difusión

Estos resultados indican que los poliésteres PEE400, PEE1500 y PEE3000 presentan mecanismos de difusión anómalos, es decir, hay contribución tanto de la relajación de las cadenas poliméricas como del mecanismo de difusión de Fick. Por otra parte, si se ajustan los datos de las cinéticas a una ecuación que no considere la geometría de las muestras, se puede obtener el porcentaje de difusión por el mecanismo de Fick. Para ello, los datos se deben ajustar a la siguiente ecuación[119]:

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = k_1t^n + k_2t^{2n}$$

Donde el primer término de la ecuación corresponde a la contribución del mecanismo de difusión de Fick y el segundo término indica el aporte de la relajación de las cadenas. Si se utiliza un valor de $n = 0.43$ (valor determinado mediante el diámetro y el espesor de la muestra) se puede calcular el porcentaje en el cual contribuye el mecanismo de difusión de Fick (Tabla 3.6), usando la siguiente ecuación:

$$F = \frac{1}{1 + \frac{K_2}{K_1}t^n}$$

Tabla 3.6. Porcentaje difusión por mecanismo de Fick (F). Fuente: Elaboración propia.

Poliéster	% mecanismo de difusión
PEE400	84.5
PEE1500	11.9
PEE3000	0.03
PEE6000	100

Los datos obtenidos son concordantes con el ajuste anterior, siendo el poliéster PEE6000 el único polímero que se ajusta a un mecanismo de difusión de Fick. Cabe señalar, que estos resultados no son definitivos y que hace falta experimentar y ahondar más en las cinéticas de liberación.

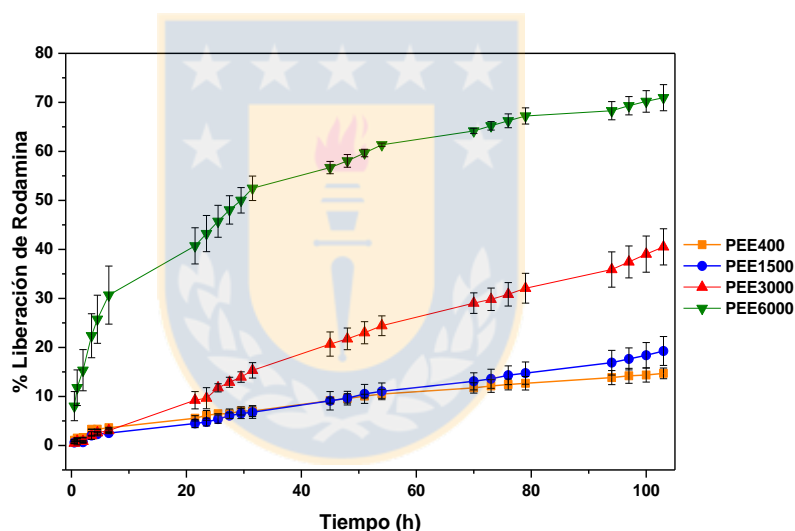


Figura 3.22. Porcentaje de liberación de rodamina con respecto al tiempo. Fuente: Elaboración propia.

3.3.5. Estudio de citotoxicidad para la serie PEE

Uno de los propósitos de sintetizar poliésteres que sean derivados de ácidos grasos y de polietilenglicol es mantener una propiedad muy importante, como la biocompatibilidad. Para demostrar que esta propiedad, se realizó el ensayo de citotoxicidad ISO 10993-5[120]. Este ensayo conocido como MTT consiste en un estudio indirecto donde el reactivo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-

difenil-2H-tetrazolio), es transformado a violeta formazan por la deshidrogenasa mitocondrial. Esta enzima solamente está presente en células vivas, por lo tanto, el color violeta es proporcional al número de células viables. En la figura 3.23 se muestra la estructura de MTT y la vía de transformación de éste compuesto a violeta de formazan[70,121].

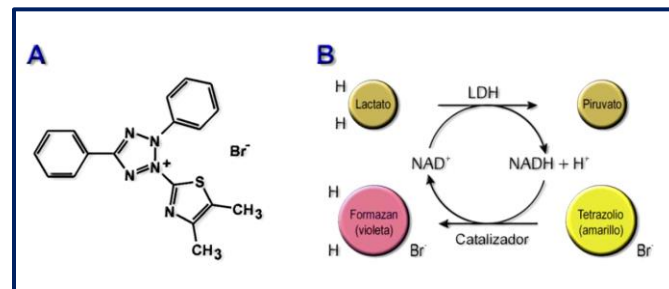


Figura 3.23. Ensayo de citotoxicidad transformando MTT a violeta formazan. Fuente: modificada de Fernández y colaboradores[121].

El estudio se llevó a cabo durante 21 días y se utilizaron los poliésteres PEE400, PEE1500, PEE3000 y PEE6000. Los resultados se muestran en la figura 3.24, en ella se puede apreciar el control (células fibroblastos dérmicos humanos) con respecto a cada polímero, donde se observa que no hay efecto citotóxico significativo en las células. Para los polímeros PEE3000 y PEE6000, presentan porcentajes por sobre el 100% (se encuentran marcados con asteriscos *P<0.05 Test de estadística Anova). Estos resultados, estadísticamente significativos, indican que las muestras tienen la capacidad de favorecer el crecimiento celular. Los poliésteres PEE400 y PEE1500, presentan viabilidad celular por sobre el 80%, lo que implica que estos materiales son biocompatibles en células fibroblastos dérmicos humanos usadas en este ensayo.

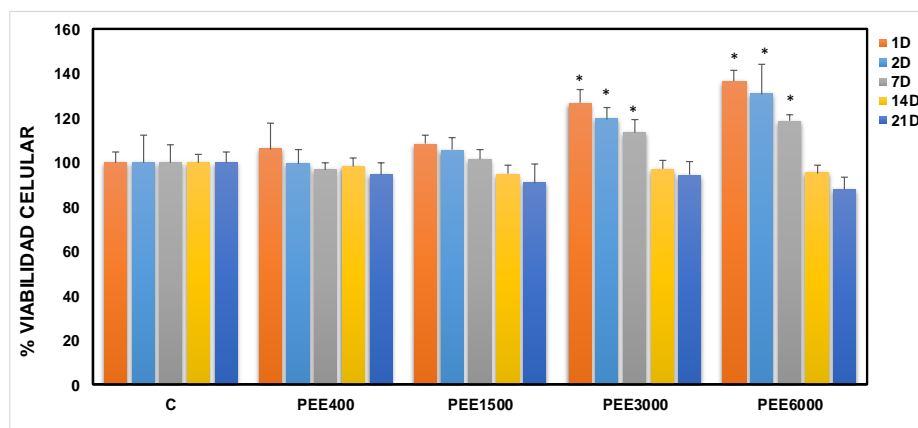


Figura 3.24. Ensayo de citotoxicidad usando el método MTT. Fuente: Elaboración propia.

3.4. Caracterización de poliésteres fluorescentes

3.4.1. Síntesis de poliésteres a partir de hidroquinona

3.4.1.1. Poliéster lineal a partir del derivado de hidroquinona (PLHQ)

El poliéster (PLHQ) se sintetizó mediante policondensación entre el monómero MDS y la molécula 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi))dietanol, obteniéndose un 75% de rendimiento. El poliéster fue caracterizado mediante resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C (Figura 3.25). Donde en el espectro de protón se distinguen cercano a 7 ppm los picos correspondientes a las señales aromáticas. Además, entre 0-2.6 ppm se encuentran las señales de los protones de la cadena carbonada del ácido graso, asimismo la ausencia de la señal a 3.62 ppm, correspondiente al grupo metoxilo terminal del monómero MDS, confirma que hubo reacción y la estructura del polímero.

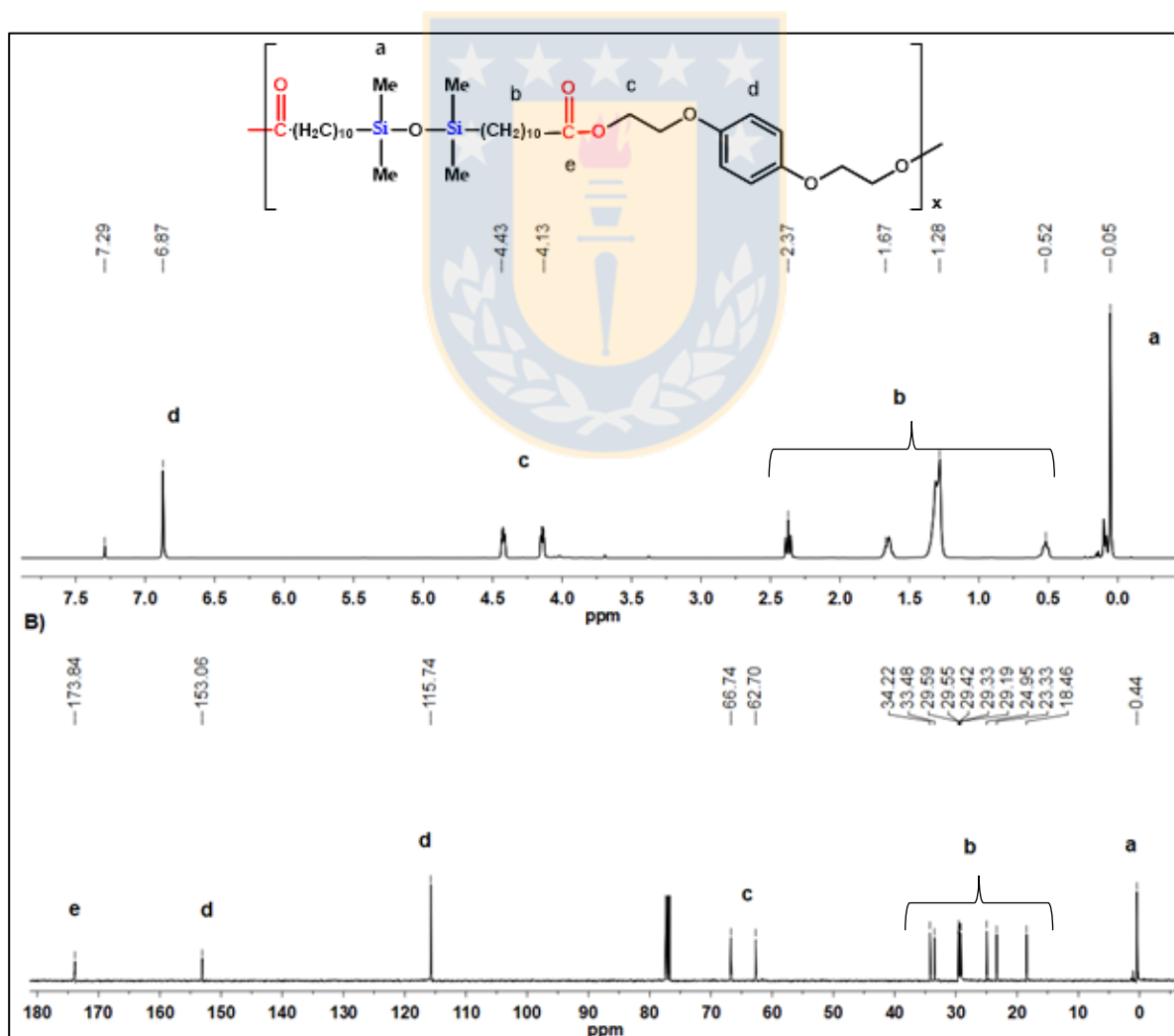


Figura 3.25. Espectro de resonancia magnética de ^1H y ^{13}C del polímero PLHQ. Fuente: Elaboración propia.

En cuanto al espectro de carbono 13 (Figura 3.25 b) se observa las señales características de los carbonos aromáticos (115.5 y 153 ppm), además del grupo carbonilo característico del derivado del ácido graso (173.8 ppm), al igual que las demás reacciones de policondensación con el monómero MDS, se confirma que hubo reacción de policondensación, debido a la ausencia de la señal a 51.44 ppm aducida al grupo metoxilo perteneciente al monómero MDS.

Determinación de la masa molar

Mediante la técnica de cromatografía de permeación en gel (GPC) se determinó la masa molar promedio en peso de 27080.7 g/mol, y masa molar promedio en número de 13362.4 g/mol. Con estos valores se calculó la dispersidad, obteniéndose un valor de 2, indicativo de que existe una amplia distribución de tamaños. Por otra parte, se obtuvo el grado de polimerización (masa molar de la unidad repetitiva 665.15 g/mol) indicando que la unidad repetitiva es $X_w = 41$.

Análisis termogravimétricos

El análisis termogravimétrico (Figura 3.26 a) muestra que la temperatura de degradación es de 440 °C con un porcentaje residual del 4.63% a 549°C, además mediante DSC (Figura 3.26 b) se determinó la temperatura de fusión a 64.4°C con una entalpía de 51.86 J/g. Por otro lado, se puede ver una señal a 30°C que corresponde al pico de cristalización de este polímero.

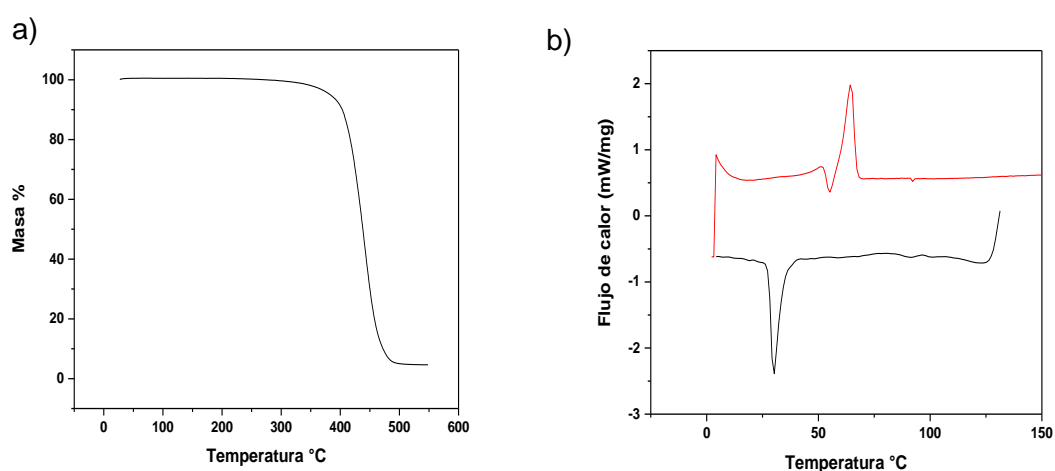


Figura 3.26. Gráfica de estudios calorimétricos a) análisis TGA y b) análisis DSC. Fuente: Elaboración propia.

3.4.1.2. Poliéster entrecruzado a partir del derivado de hidroquinona (PEHQ)

El poliéster (PEHQ) se sintetizó mediante policondensación entre el monómero MCTS y 2,2'-(1,4-fenilenbis(oxi))dietanol, obteniéndose un rendimiento de 79%. Este poliéster fue caracterizado mediante resonancia magnética nuclear en estado sólido de carbono 13. En la figura 3.27 se pueden apreciar las señales características de los carbonos aromáticos (116 y 153 ppm), además del grupo carbonilo característico del derivado del ácido graso (174 ppm). Se confirma que hubo reacción de policondensación, debido a la ausencia de la señal a 51.44 ppm aducida al grupo metoxilo perteneciente al monómero MCTS.

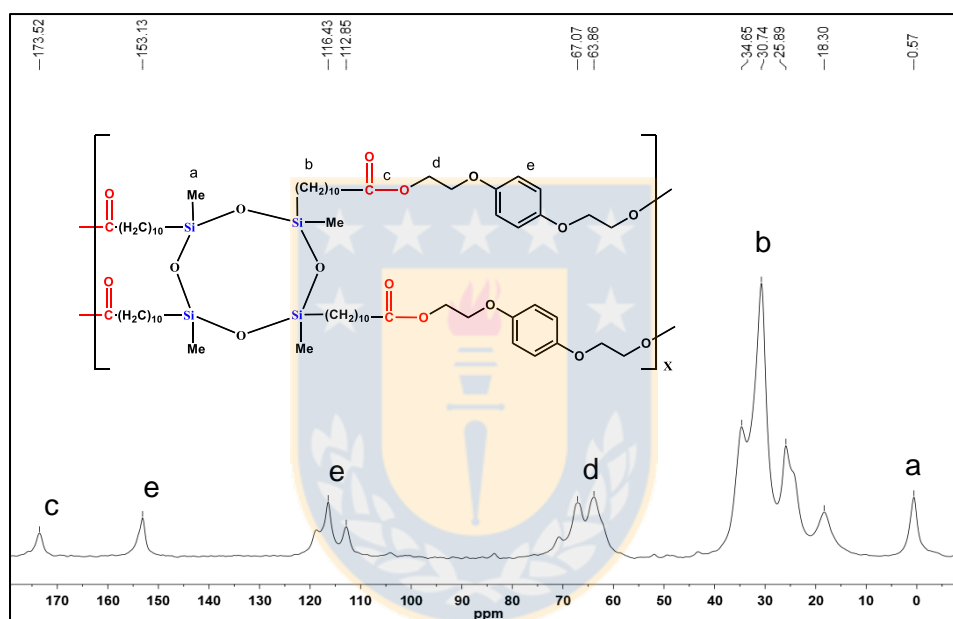


Figura 3.27. Espectro para PEHQ tomado mediante CP-MAS. Fuente: Elaboración propia.

Análisis termogravimétricos

El análisis termogravimétrico indica que la temperatura de degradación es de 455°C con un 6.54 % de masa residual a 549°C (Figura 3.28). Con respecto al polímero lineal se puede apreciar un aumento en 10°C, esto podría ser provocado por el entrecruzamiento generado en este poliéster, además, analizando los datos de calorimetría diferencial de barrido, no se logra apreciar picos de fusión o de cristalización, lo cual, podría deberse al alto grado de entrecruzamiento, ya que el alto grado de restricciones disminuirían movimientos elásticos[64].

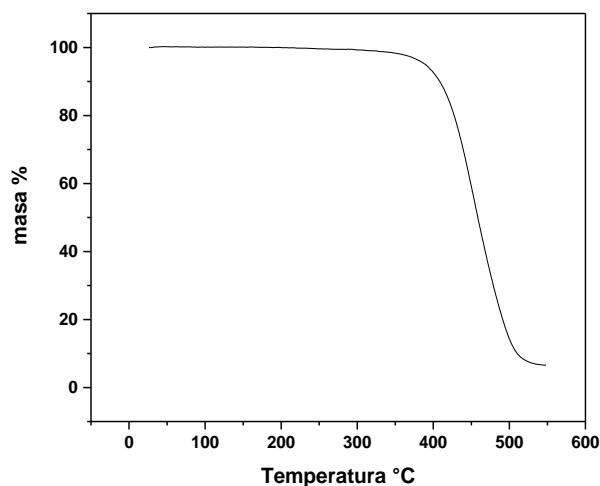


Figura 3.28. Gráfica del termograma del poliéster PEHQ. Fuente: Elaboración propia.

Cabe destacar que los poliésteres obtenidos a partir del derivado de hidroquinona no presentan la propiedad de emitir luz, por lo que su caracterización sólo se centró en análisis estructurales y termogravimétricos.

3.4.2. Síntesis de poliésteres a partir de cumarina

3.4.2.1. Síntesis del monómero cumarina diol

La síntesis del monómero cumarina diol se llevó a cabo según el procedimiento publicado por Abraham Joy[58], con algunas modificaciones en el primer paso de síntesis, donde se consideró la publicación de Jiangyun Wang[73], para aumentar el rendimiento. El tercer paso se modificó el solvente usado, de acetona a butanona, con el fin de realizar la reacción a mayor temperatura (86°C). La secuencia sintética se muestra en la figura 2.7 de la sección 2.2.3.2. Cada una de estas moléculas se caracterizó mediante resonancia magnética nuclear de protón y carbono. En la figura 3.29 se puede apreciar ambos espectros de la molécula 4-(clorometil)-7-hidroxycumarina.

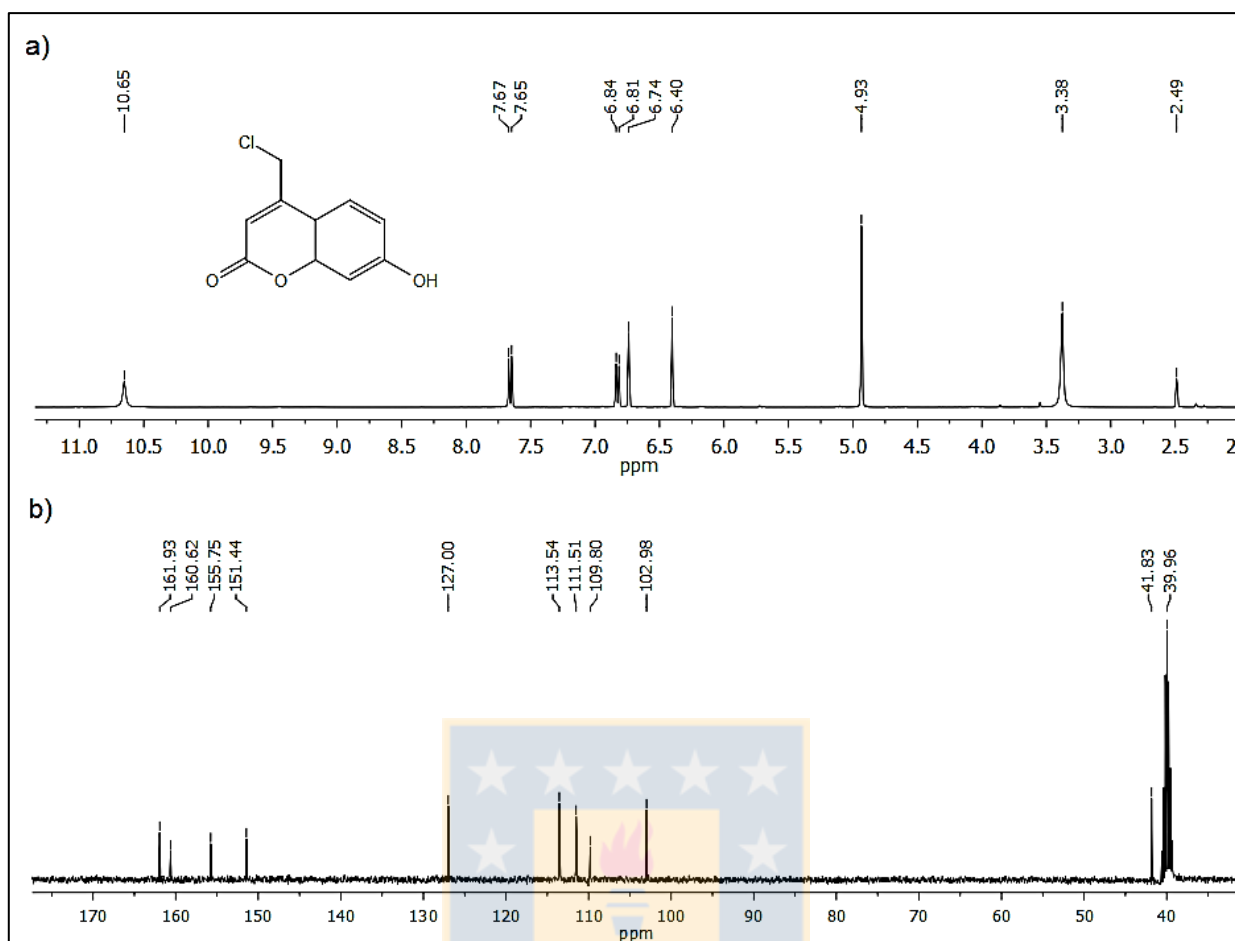


Figura 3.29. Espectros de resonancia magnética a) de protón y b) carbono para 4-(clorometil)-7-hidroxycumarina. Fuente: Elaboración propia.

En el espectro de resonancia magnética de protón (Figura 3.29 a) se observan las señales que caracterizan este compuesto, entre 6.40-7.67 ppm se muestran los picos aromáticos, y la señal correspondiente al protón $-\text{CH}_2\text{Cl}$ se observa a 4.93 ppm, y en el espectro de carbono a 41.83 ppm (Figura 3.29 b). Estas señales serán importantes para diferenciar esta molécula del siguiente paso.

El segundo paso consistió en una sustitución nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$ usando agua como solvente y nucleófilo, donde el grupo saliente es el ion cloruro. Este cambio en la estructura de la cumarina, no se evidencia en el espectro de protón ya que la señal $-\text{CH}_2\text{Cl}$ (4.93 ppm) pasa a $-\text{CH}_2\text{OH}$ (4.69 ppm) (Figura 3.30 a). Sin embargo, el espectro de carbono (Figura 3.30 b) al ser más sensible a los cambios químicos de una estructura, muestra un desplazamiento a campo bajo desde 41.83 ppm a 59.54 ppm, confirmando así la estructura de 7-hidroxi-4-(hidroximetil)cumarina.

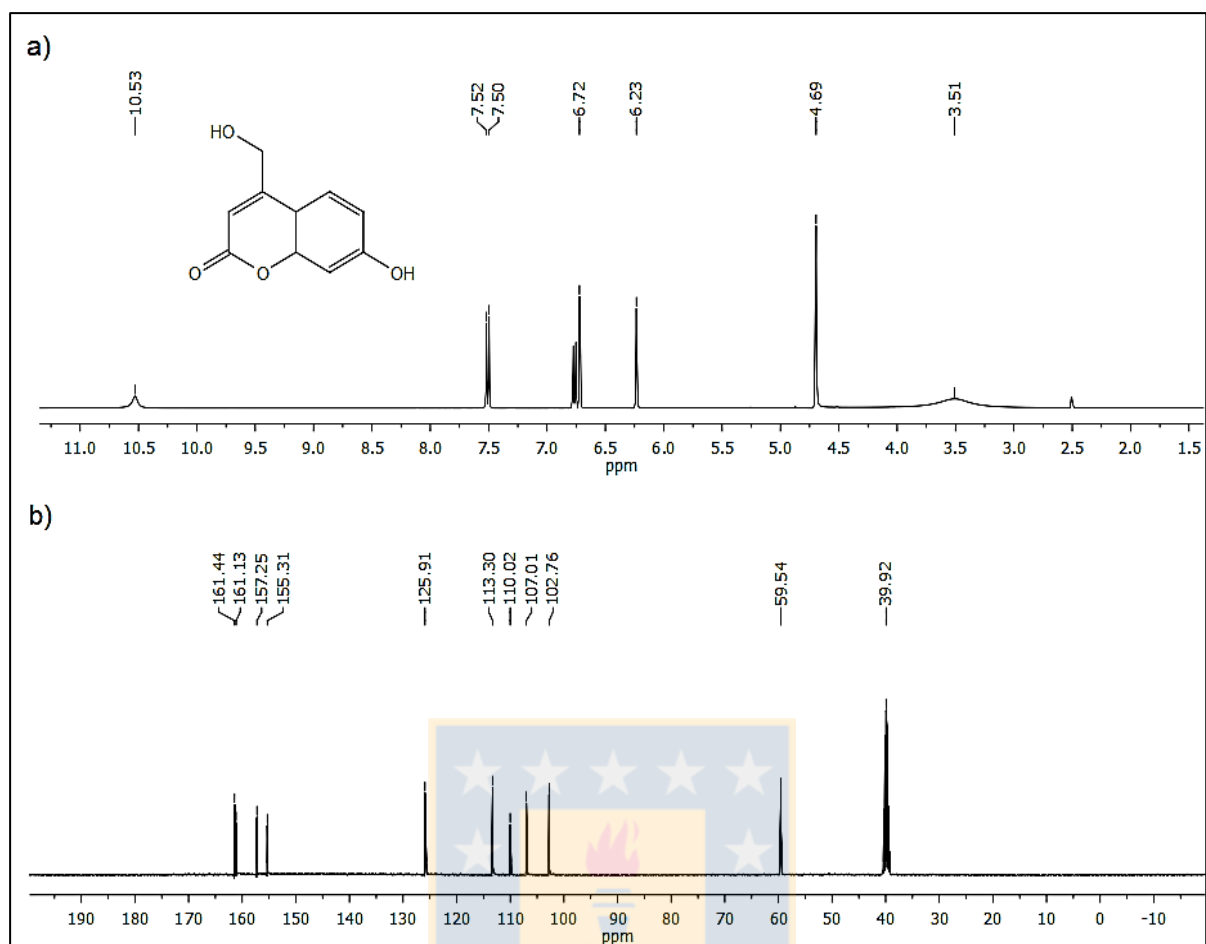


Figura 3.30. Espectros de resonancia magnética de a) protón y b) carbono para 7-hidroxi- 4-(hidroximetil)cumarina. Fuente: Elaboración propia.

El producto de la segunda etapa es un diol que podría ser usado para policondensar, sin embargo, debido a que uno de los alcoholes es fenólico, presenta menor reactividad y, por lo tanto, se modificó mediante una reacción de Williamson. Esta reacción es conocida por tener buenos rendimientos cuando se utiliza en condiciones convencionales (Solvente DMF y posterior precipitación en agua)[122], pero en este caso el rendimiento obtenido es bajo. Una posible explicación es que la reacción se llevó a cabo en butanona, ya que el producto no precipitó en agua.

La 4-(hidroximetil)-7-(3-hidroxipropoxi)cumarina fue caracterizada mediante resonancia magnética de protón y carbono, como se muestra en la figura 3.31. En ella se puede apreciar las señales características de la cumarina diol deseada, donde se destaca las señales 1.88, 3.55 y 4.58 ppm, correspondientes a la cadena que conforman el éter, las señales 4.14 y 5.61 ppm corresponden a los protones de los

alcoholes (Figura 3.31 a), por otro lado, los carbono correspondientes a la cadena que forman el éter se aprecian en 32.3, 57.5, 59.4 ppm (Figura 3.31 b)

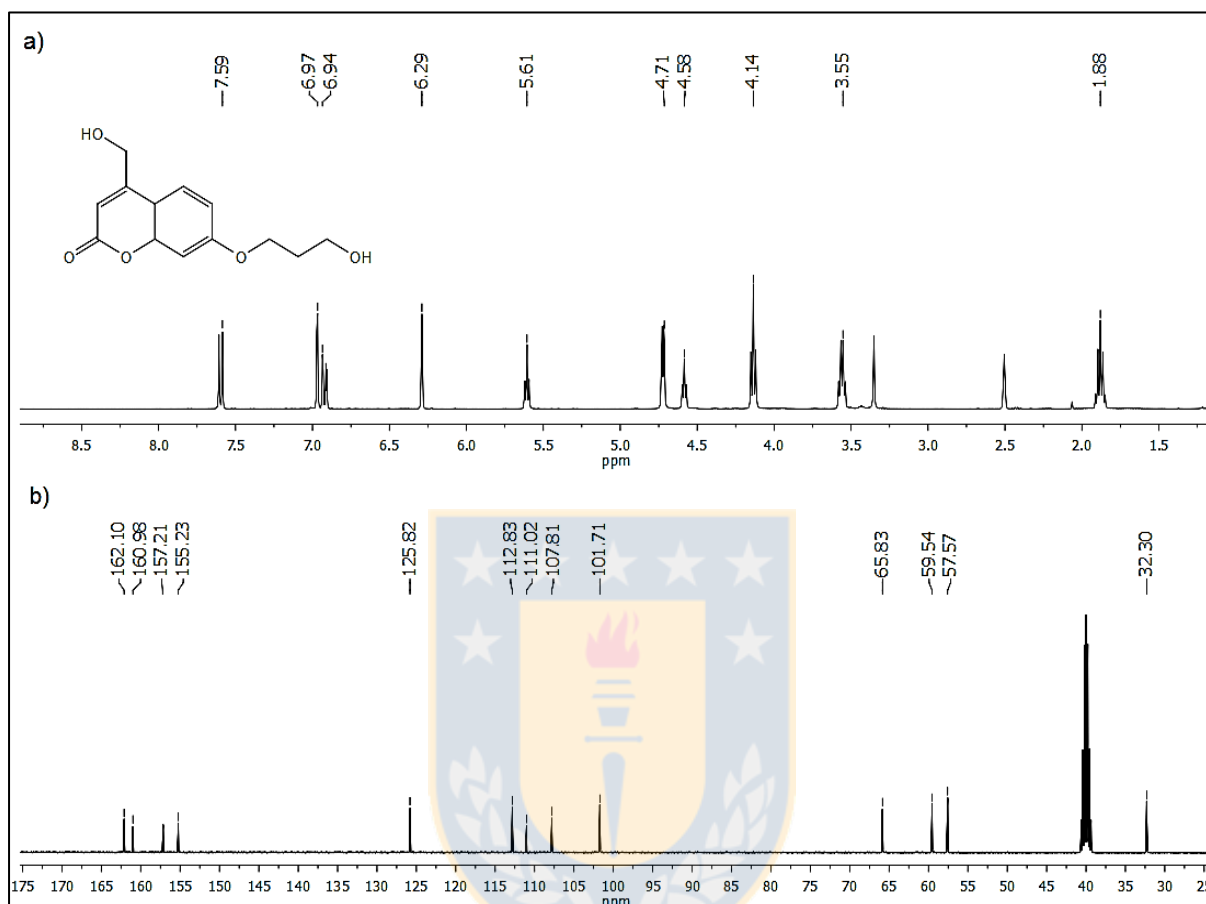


Figura 3.31. Espectros de resonancia magnética de a) protón y b) carbono para 4-(hidroximetil)-7-(3-hidroxipropoxi)cumarina. Fuente: Elaboración propia.

Debido a los interesantes resultados (biocompatibles, encapsulación y liberación de analitos) obtenidos para la serie de poliésteres entrecruzados (PEE), se decidió realizar una modificación en los objetivos específicos, de modo de cumplir con la formación de polímeros con la habilidad de emitir luz. Por lo tanto, los poliésteres fluorescentes se obtendrán mediante copolimerización entre los monómeros MCTS, PEGn y la cumarina obtenida, para así poder comparar la influencia de la cumarina en la estructura de los poliésteres entrecruzados.

3.4.2.2. Síntesis de poliésteres entrecruzados fluorescentes (PEEF)

La síntesis de poliésteres entrecruzados fluorescentes se llevó a cabo mediante copolimerización entre el monómero MCTS, PEGn (400, 1500, 3000 g/mol) y cumarina diol, con la siguiente equivalencia 1: 1.5: 0.5, respectivamente, obteniéndose 3 poliésteres, con rendimientos entre 83-86%. La proporción, por la cual se llevó a cabo la reacción de copolimerización se eligió con el fin de evidenciar el efecto de la cumarina diol, cuando se encuentra en baja proporción en la estructura de los polímeros entrecruzados. La caracterización se llevó a cabo mediante CP-MAS de carbono 13, debido a que los tres espectros presentan las mismas señales, solo se mostrará el correspondiente al poliéster PEEF3000 (Figura 3.32). En ella se puede apreciar las señales características de este tipo de polímero: los picos entre 26.0, 43.0 y 183 ppm corresponden al monómero MCTS, así como las señales cercanas a 70 ppm pertenecen al monómero PEGn. Los picos 100 y 159 ppm son atribuidos al monómero cumarina diol. Es importante señalar que la técnica CP-MAS permitió ver dos carbonos cuaternarios característicos de la sonda fluorescente (ver espectro *rmn* cumarina diol), a pesar de la anisotropía generada en estado sólido.

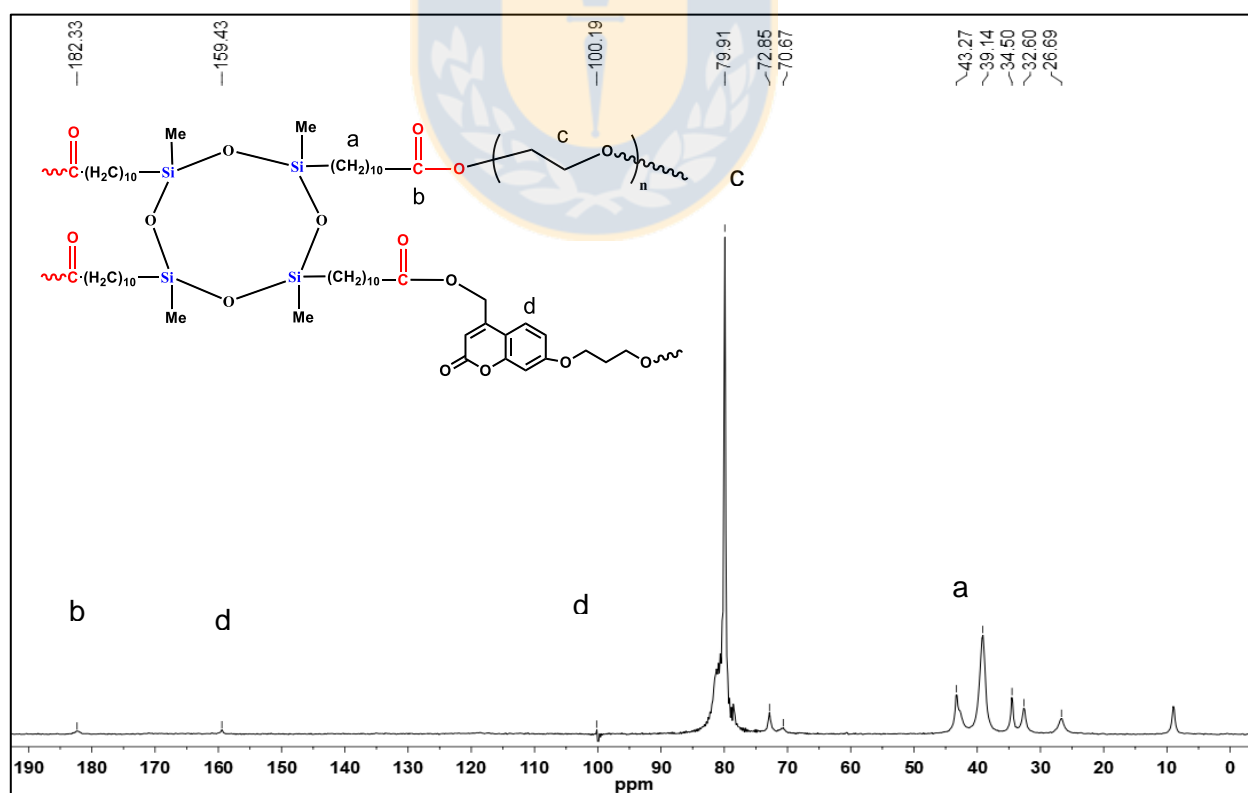


Figura 3.32. Espectro de resonancia magnética nuclear (CP-MAS) carbono 13 para PEEF3000. Fuente: Elaboración propia.

Análisis termogravimétricos

El análisis termogravimétrico de los poliésteres obtenidos (Figura 3.33) muestra temperaturas de degradación altas, cercanas a los 400°C, las cuales son 10 grados centígrados menores en comparación a los polímeros entrecruzados(PEE), sin embargo, para esta serie de poliésteres presenta una segunda temperatura de descomposición cercana a los 480°C, la cual, refleja la presencia de un tercer monómero que se encuentra en baja proporción correspondiente a cumarina diol, además, se puede apreciar que la segunda DTG es pronunciada en el caso de PEEF400, esto debido a que presenta el largo de cadena de PEG menor, apreciándose por sobre el 40% en masa. Esto podría indicar que primero se degrada PEG y luego la cumarina. Por otro lado, para los poliésteres PEEF1500 y PEEF3000, al tener largos de cadena de PEG mayores, se aprecia la segunda DTG bajo el 30 % en masa, en este caso es posible que se esté degradando parte de la cumarina en conjunto con PEG, por lo tanto, no se aprecia una curva marcada. La masa residual para esta serie se encuentra en un rango entre el 5-13 % a 548°C.

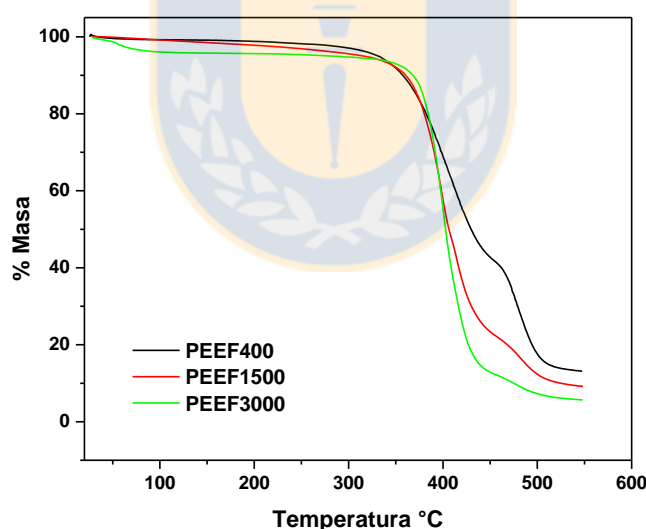


Figura 3.33. Gráfica de los termogramas de la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia.

El análisis calorimétrico, (Figura 3.34) muestra que el poliéster PEEF400 posee una mayor contribución del monómero cumarina diol, ya que aumenta su temperatura de fusión, su grado de cristalinidad y a su vez la energía necesaria para cambiar de estado es mayor, en comparación a PEE400. Por otra parte, los poliésteres PEEF1500 y PEEF3000 no presentan variación con respecto a sus símiles, PEE1500 y PEE3000,

que muestran valores cercanos, esto se puede deber, a que presentan largos de cadena mayores de PEG, por tanto, la incorporación del monómero cumarina no presenta gran contribución en comparación a cuando la cadena de PEG es menor. En la tabla 3.5 se muestran los resultados de la serie PEEF.

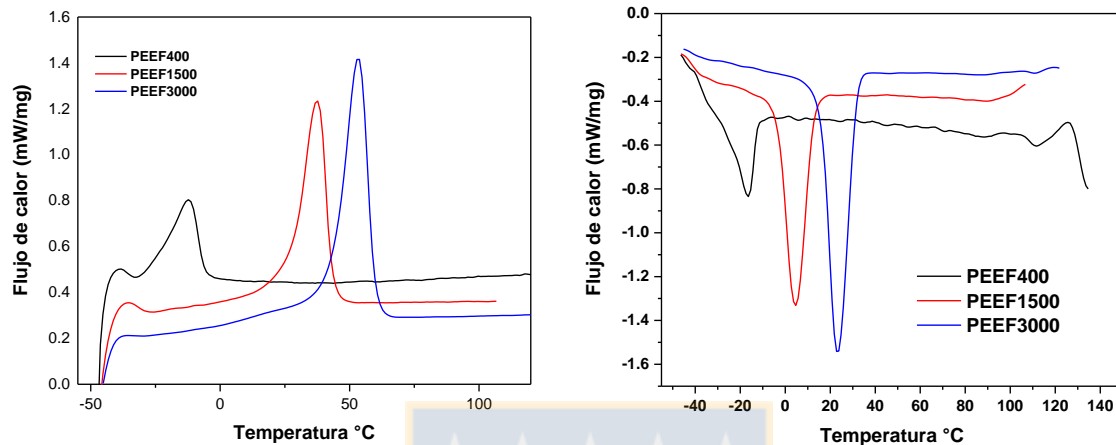


Figura 3.34. Análisis calorimétrico para la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia

Del análisis calorimétrico se esperaba visualizar la temperatura de transición vítrea por sobre los -50°C , y un aumento el grado de cristalinidad, debido a la incorporación de la molécula cumarina diol, sin embargo, puesto que la temperatura mínima que se puede tener en el programa de DSC es -50°C , aparentemente el valor de T_g debería estar cercana a esta temperatura y no se alcanza a apreciar definitivamente.

A continuación, se presenta una tabla resumen con todos los datos obtenidos por los ensayos TGA y DSC para la serie PEEF.

Tabla 3.7. Temperatura de descomposición (DTG), entalpía de fusión (ΔH_{fus}), temperatura de fusión (Tf), grado de cristalinidad (Xc)[78] de la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia.

Polímero	DTG ₁ (°C)	DTG ₂ (°C)	ΔH_{fus} (J/g)	Tf (°C)	Xc
PEEF400	400	481	74.5	-12.1	37.8
PEEF1500	398	481	79.1	37.5	40.1
PEEF3000	400	477	91.0	53.3	46.2

Grado de hinchamiento

Para el estudio de grado de hinchamiento se utilizó el mismo protocolo experimental usado para los poliésteres PEE, para así comparar los resultados y evidenciar la presencia de cumarina diol el grado de hinchamiento. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3.35, donde se puede apreciar los valores de Sw en un rango entre 3 – 9 g H₂O/g polímero. Comparando estos valores con los obtenidos por los poliésteres correspondientes de PEE (2 – 5 H₂Og/g polímero), se aprecia un aumento en la capacidad de hinchamiento en agua para los poliésteres entrecruzados fluorescentes. Esto puede deberse a la estructura de cumarina diol, que presenta cinco átomos de oxígeno, y esto conjugado con el grupo éster son responsables de una alta polaridad que facilita la interacción con moléculas de agua en el medio.

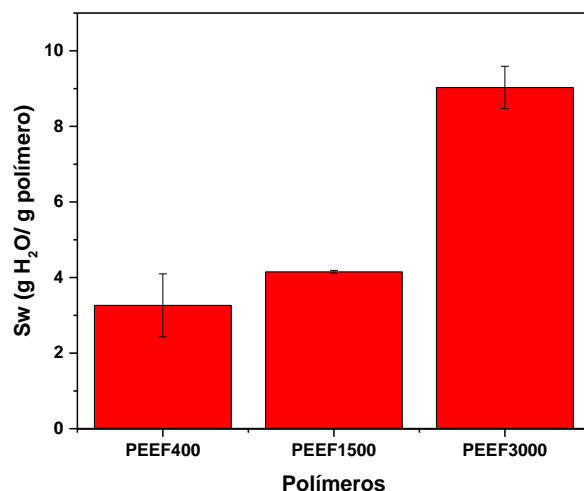


Figura 3.35. Gráfica de la capacidad de hinchamiento para la serie PEEF. Fuente: Elaboración propia.

Caracterización morfológica

La superficie de los poliésteres se observó mediante SEM. Se tomó un trozo de cada uno de ellos, se hinchó en agua y luego se liofilizó. Las imágenes de la serie PEEF se presentan en la figura 3.36. El polímero PEEF400 no se distingue un poro bien definido, sin embargo, a medida que aumenta la masa molar del segmento de polietilenglicol se consigue visualizar los poros formados por la red. Cabe señalar que mediante este procedimiento no se puede determinar el tamaño de poro de la red, ya que el tratamiento de liofilización puede causar el cierre de estos, debido a la presión ejercida. Por otro lado, el hecho que en el poliéster PEEF3000 se logre apreciar poros, puede deberse a que el material obtenido presenta mayor rigidez que los demás, resistiendo mejor el vacío generado en la liofilización.

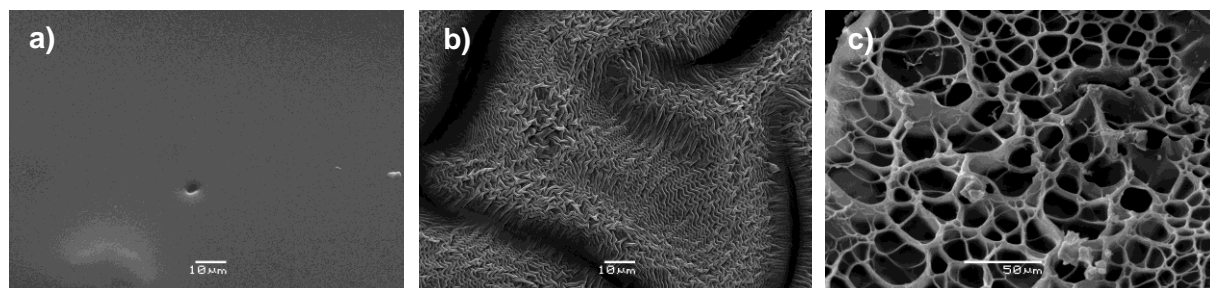


Figura 3.36. Imágenes de poro de la serie PEEF mediante SEM a) PEEF400 b) PEEF1500 c) PEEF3000. Fuente: Elaboración propia.

Estudios mediante microscopía confocal

Las propiedades fluorescentes de los PEEFs permiten su caracterización mediante microscopía de fluorescencia. Esta técnica, no invasiva, facilita la observación de la estructura de los polímeros hinchados. Además, es posible medir algunas propiedades nuevas de los PEEFs que les fueron conferidas por la molécula de cumarina diol que forma parte de su estructura, como el espectro de emisión y tiempo de vida de fluorescencia. Los espectros de emisión se obtienen de imágenes espectrales y los tiempos de vida de imágenes de tiempo de vida. Es importante señalar que una imagen espectral o de tiempo de vida de fluorescencia contiene en cada uno de sus píxeles, el parámetro medido en una posición específica. Esta herramienta es muy valiosa en el caso de muestras heterogéneas, por ejemplo, en imágenes de células[123]. En el caso de sustancias puras, como las muestras examinadas en este trabajo, el espectro de emisión y el valor de tiempo de vida es homogéneo y se obtiene como un promedio de todos los píxeles[124]. Para las muestras analizadas en este estudio, y para obtener todo el espectro de emisión, se utilizó excitación de dos fotones (780 nm)[125], sin embargo, ninguno de los dos parámetros medidos cambia con respecto a la excitación por un fotón[44,126].

Adquisición de parámetros de fluorescencia por microscopía confocal

La adquisición de espectros de emisión en estado sólido se realizó utilizando microscopía confocal con detección espectral. Una imagen espectral es la superposición de un set de imágenes del mismo objeto obtenidas, cada una de ellas, en diferentes rangos de longitudes de onda de emisión. De esta manera la imagen espectral contiene en cada píxel el espectro de emisión en una localización específica en la imagen. La Figura 3.37 (a) muestra un diagrama que explica la metodología utilizada para la adquisición del espectro de emisión de una muestra. Después de la excitación, la luz de emisión proveniente de la muestra se descompone y sus componentes espectrales son registrados por un detector espectral en 32 bandas de longitud de onda. Se obtienen 32 imágenes en las bandas preseleccionadas y la superposición de ellas da origen a la imagen espectral que contiene en cada píxel todo el espectro de emisión en el rango seleccionado. En el caso de muestras

homogéneas, el espectro de la muestra se obtiene haciendo un promedio de todos los píxeles en la imagen espectral.

Para la determinación de tiempo de vida de fluorescencia a partir de imágenes, se utilizó el método de análisis de fasores[123]. Esta técnica se ha utilizado en varias y diferentes aplicaciones; determinación de iones[127], conformación de proteínas in vitro[128] y biología cuantitativa[129] etc. En la representación de fasores cada decaimiento de fluorescencia, independientemente del número de exponenciales necesarios para determinar los valores de tiempo de vida que lo componen, está representada por un punto (fasor) con coordenadas (s, g)[123]. La Figura 3.37 b muestra una representación esquemática del análisis: una imagen de tiempo de vida de fluorescencia contiene en cada píxel la curva de decaimiento de fluorescencia en el tiempo, $I(t)$, correspondiente a la localización dentro de la imagen. En el análisis de fasores, cada decaimiento es transformado a un fasor usando transformadas de Fourier. Cada fasor tiene coordenadas polares $G = M \sin \phi$, $S = M \cos \phi$, siendo ϕ el retraso de fase entre la excitación y la emisión, y M la modulación. El retardo de fase y la modulación están relacionados con el tiempo de vida de fluorescencia (τ), donde $\tan \phi = \omega \tau$ y $M = (1 + \omega^2 \tau^2)^{-1/2}$, donde ω es la frecuencia de modulación angular (igual a $2\pi f$, donde f es la modulación frecuencia)[130,131]. Las coordenadas polares G y S corresponden a los ejes X e Y en un gráfico 2D de coordenadas polares denominado gráfico de fasores. Este gráfico está compuesto por un círculo universal y los tiempos de vida disminuyen en la dirección del movimiento de las manecillas del reloj. Cada píxel de la imagen de tiempo de vida origina un único punto (fasor). Así, el gráfico de fasores contiene tantos fasores como número de píxeles contenga la imagen, por ejemplo, el diagrama de fasores de una imagen de 3×3 píxeles contendrán 9 fasores (Figura 3.37 b).

Para decaimientos de tiempo de vida mono exponenciales el fasor se ubicará sobre el círculo universal, y decaimientos multi exponenciales se ubicarán dentro del círculo universal y corresponden a la combinación de diferentes pares de fasores posibles. El análisis de fasores no requiere una determinación precisa de los tiempos de vida, la ubicación y la relación entre los fasores proporciona información sobre el sistema[123]. Cuando el análisis se utiliza en modo recíproco, los píxeles en la imagen pueden resaltar ubicando un cursor en el grupo de fasores correspondiente en el gráfico de fasores[123,132].

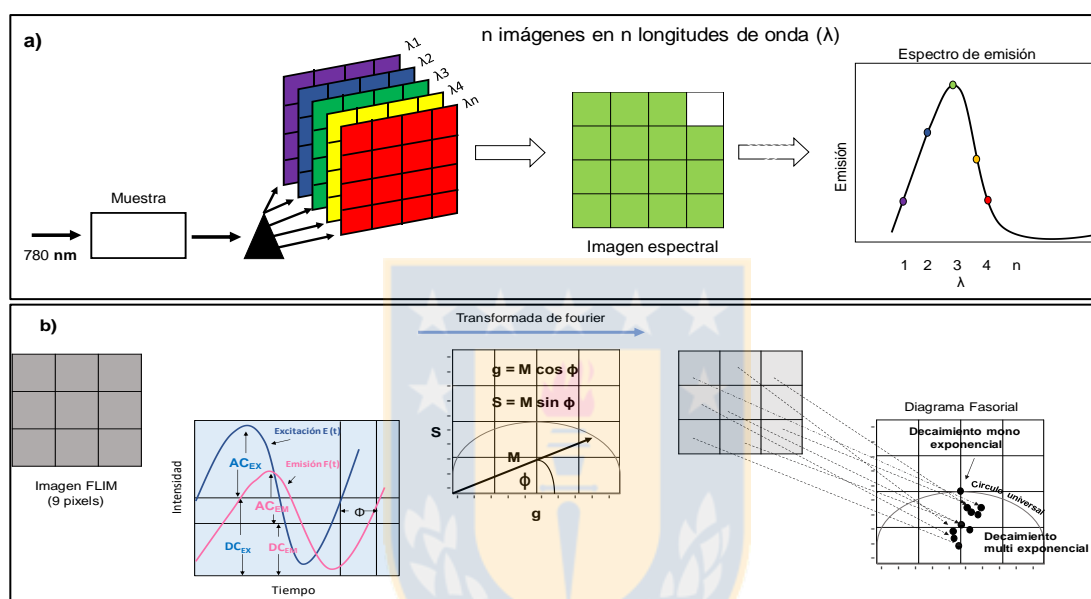


Figura 3.37. Métodos para análisis de fluorescencia. (a) Método espectral de formación de imágenes para emisión espectral en estado sólido. (b) Imagen de vida de fluorescencia (FLIM) y método de Fasor. Fuente: Modificada de Felipe A. Olate y colaboradores[124].

Propiedades fluorescentes de la serie PEEF

La Figura 3.38 muestra las imágenes espectrales (Figura 3.38 a) de los tres PEEFs analizados y los correspondientes espectros de emisión (promedio de todos los píxeles en la imagen) (Figura 3.38 b). Se incluye en esta figura, a modo de comparación, el espectro de la molécula utilizada en la síntesis, cumarina diol. Se puede apreciar que el máximo de emisión de la cumarina diol es alrededor 460 nm. Para la serie PEEF se observa un leve desplazamiento hacia el rojo, excepto para PEEF400 que mantiene un comportamiento muy similar al monómero cumarina diol. Estos análisis demuestran que la cumarina diol es parte de la estructura del polímero

final. Es importante destacar que los polímeros se encuentran en solución y que no hay detección de cumarina libre en ella.

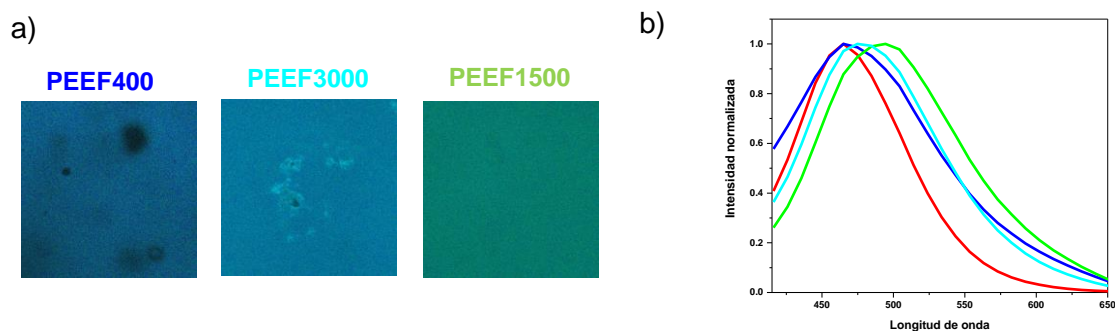


Figura 3.38. a) Imágenes espectrales para la serie PEEF, con una excitación a 780 nm, tamaño figura 84.94 x84.94 μm , resolución 1024x1024 píxeles. b) Espectros de emisión obtenidos de imágenes espectrales, cumarina diol (—) PEEF400 (—), PEEF1500 (—), PEEF3000 (—). Fuente: Elaboración propia.

Las imágenes de fluorescencia permiten apreciar la morfología del material hinchado en medio acuoso. La figura 3.39 muestra varias áreas de 353.90x353.90 μm con el mismo plano z, de los diferentes polímeros, donde se puede apreciar que el material es homogéneo y liso, sin presencia de poros, para PEEF1500 y PEEF3000. En el caso de PEEF400 se consiguen ver poros (con un diámetro aproximado de 17.8 μm), los cuales, pueden ser producto del vacío generado durante la polimerización, la cual provoca burbujas y posteriormente poros macroscópicos en el material final. Es importante mencionar en este punto que, estos experimentos no son comparables con las imágenes de SEM. En microscopía confocal se tiene el material hidratado, embebido en la solución y en SEM los polímeros son hidratados y sometidos a liofilización. Por otro lado, la microscopía confocal permitió observar la estructura del material con una profundidad de 48 μm (Figura 3.39 b). Las imágenes de los planos correspondientes 0, 15, 30 y 45 μm muestran que el material en su interior también es homogéneo sin la presencia de poros, dentro una resolución de un micrómetro.

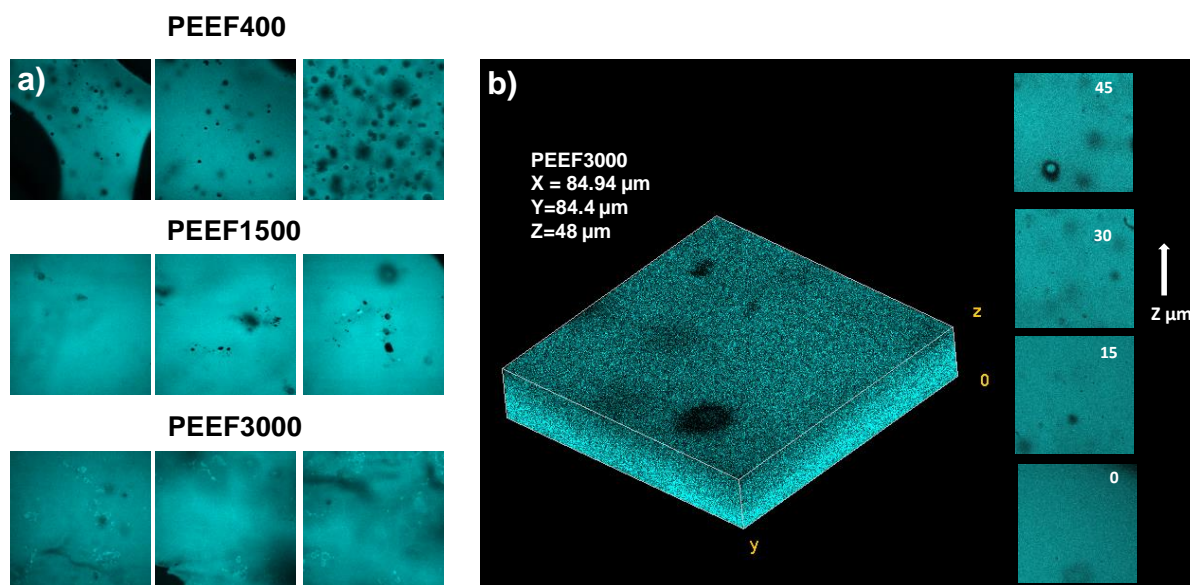


Figura 3.39. a) Imágenes de intensidad de la serie PEEF, excitación 780 nm, emisión 415-735, tamaño imagen 353.90x353.90 μm , resolución 1024x1024 píxeles. b) Imagen 3D del poliéster PEEF3000 (izquierda), reconstruida a partir de 45 imágenes a distintos Z se muestra el plano 0,15,30 y 45 μm (derecha) Fuente: Elaboración propia.

Para las mediciones de tiempo de vida, se utilizó como estándar una solución de cumarina 6 en etanol para la calibración del instrumento, el tiempo de vida de cumarina 6 es mono exponencial con un valor de 2.402 ns[123]. La Figura 3.40 muestra los análisis de fasores para el estándar, la cumarina diol y los tres PEEFs. la imagen de intensidad (3.40 a) se aprecian materiales relativamente homogéneos.

La Figura 3.40 b muestra el gráfico de fasores para cada una de las muestras. Los fasores de la estándar cumarina 6 están agrupados sobre el círculo universal, indicando un decaimiento mono exponencial de este tiempo de vida según reportado para este estándar[133]. Para las otras muestras los fasores se encuentran dentro del círculo universal, lo que indica la naturaleza multi exponencial de sus respectivos tiempos de vida. La ubicación de los fasores agrupados en la misma zona del gráfico (Figura 3.40 b) con una distribución gaussiana perfecta es indicativa de la pureza de la muestra. Más aun, se localizó un cursor cuadrado de color que contiene todos los fasores de la muestra correspondiente y en la figura 3.40 c es posible observar la ubicación de esos fasores en la imagen, todos homogéneamente distribuidos.

Para dar un valor numérico del tiempo de vida, se calculó el tiempo de vida promedio (Figura 3.40 d) que corresponde al promedio matemático entre τ fase y τ modulación; sin embargo, este valor es solo comparativo, para un valor preciso de tiempo de vida se necesitan todos componentes de los decaimientos y la fracción de luz de cada componente, un análisis fuera de los objetivos de este trabajo[134]. Es importante mencionar que el tiempo de vida de fluorescencia es un parámetro intensivo para compuestos fluorescentes; por lo tanto, en una mezcla de poliésteres los componentes se pueden distinguir fácilmente por su ubicación fasorial.

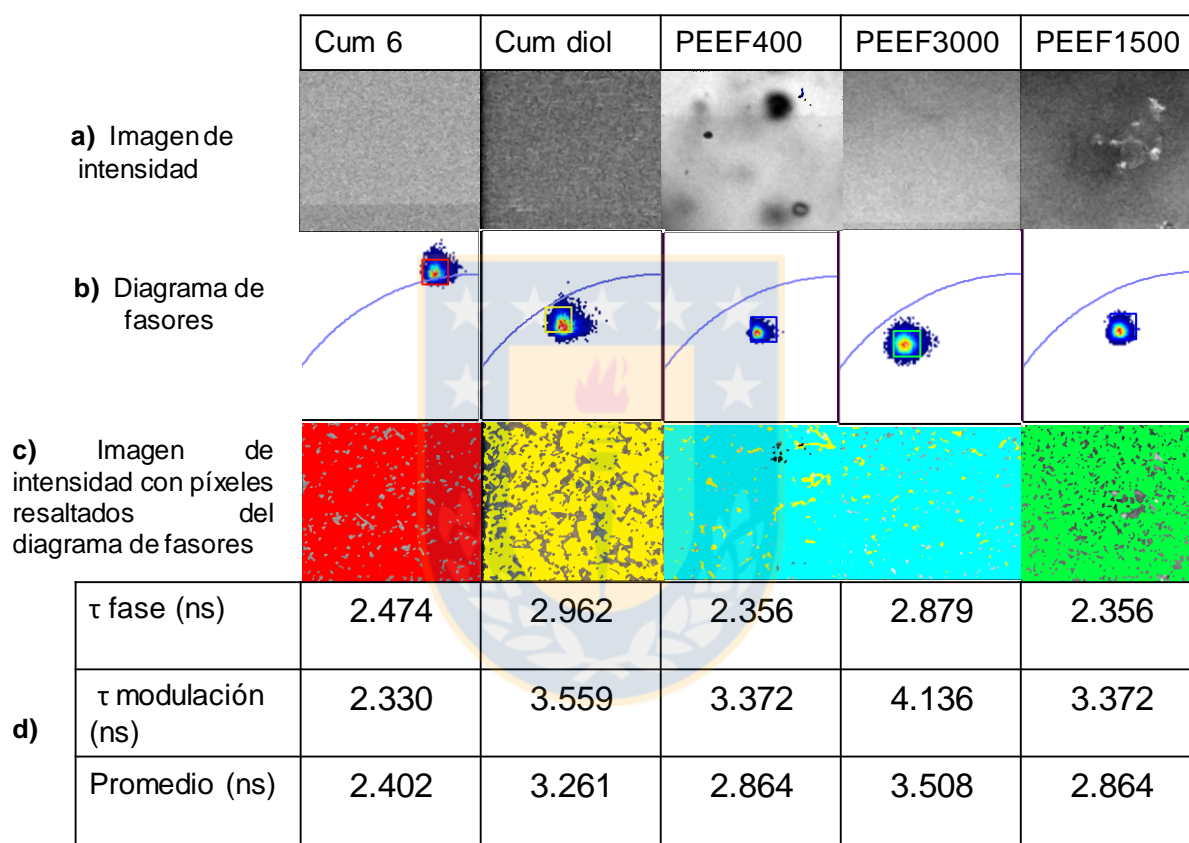


Figura 3.40. Imágenes de intensidad. (a) diagrama de fasor (b) imagen de intensidad con píxeles resaltados (c). tiempo de vida de fluorescencia de fase, modular y el promedio de ambos (d). Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO 4 – CONCLUSIONES

En esta Tesis Doctoral se sintetizaron y caracterizaron los siguientes polímeros: poliésteres anfifílicos lineales (PEL), poliésteres anfifílicos entrecruzados (PEE) y poliésteres fluorescentes (PLHQ, PEHQ, PEEF).

- Las reacciones de transesterificación entre PEG y di-éster graso sililado (MDS), permitió la síntesis de una clase muy atractiva de poliésteres anfifílicos con un alto grado de pureza. Su preparación puede seguirse a través de análisis espectroscópicos, que confirman su estructura. Los poliésteres anfifílicos lineales presentaron alta masa molar a las dos horas de reacción, con buen comportamiento térmico a temperatura ambiente. Sus temperaturas de degradación están por sobre los 400°C, y sus temperaturas de fusión son crecientes a medida que aumenta la masa molar del segmento correspondiente a polietilenglicol, en un rango de 20 a 65°C. No se observó transición vítrea en el rango de temperatura estudiado, y se espera esté por debajo de los -50°C. Por otro lado, su comportamiento anfifílico se demostró mediante la formación de agregados micelares, tanto en medio acuoso como en medio apolar. Para las micelas directas se obtuvieron concentraciones micelares críticas (CMC) en un rango de 0.0062 - 0.0094 mg/mL, y tamaños de partículas entre 70 a 190 nm. Para micelas inversas los valores de CMC se encontraron entre 0.087 – 0.012 mg/mL, y sus tamaños de partículas fueron en un rango de 52 - 116 nm.

Las diferencias encontradas entre los dos tipos de micelas pueden deberse al segmento de polietilenglicol; en las micelas directas el aumento del tamaño micelar depende de la masa molar de este segmento, y para micelas inversas, al ser polietilenglicol el segmento hidrofílico, la interacción con el medio apolar conduce a la disminución del tamaño de los agregados. Estos resultados implican que es posible manejar el tamaño de partícula variando la masa molar de polietilenglicol, ofreciendo la posibilidad de encapsulación de analitos. Por otra parte, estos poliésteres mostraron la capacidad de formar fibras cuando sus puntos de fusión fueron por sobre 50°C. El grosor de las fibras puede ser modificado de acuerdo con la longitud PEG, relación que abre las puertas para futuros estudios acerca del uso de estas fibras.

- Los poliésteres anfífilos entrecruzados fueron caracterizados estructuralmente mediante RMN, con altos rendimientos de síntesis, además, presentaron temperaturas de degradación por sobre 400°C en todos los casos. Los polímeros exhibieron puntos de fusión entre -27 y 57°C, y sus temperaturas de transición vítrea fueron cercanas a -54°C, por lo que esta clase de poliésteres presentan un comportamiento elástico, amorfo y cristalino. La optimización del tiempo de reacción a 3.0×10^{-2} mbar y 185°C se realizó mediante resonancia magnética de campo bajo y fue de una hora de reacción después del punto gel. Bajo estas condiciones se forma la red con mayor grado de entrecruzamiento posible para cada polímero. El poliéster con mayor grado de entrecruzamiento de la serie es PEE400, y el polímero con menor grado de reticulación es PEE6000. Estos materiales tienen la propiedad de hincharse tanto en medio acuoso como en cloroformo, donde el poliéster con mayor grado de hinchamiento en medio acuoso fue PEE6000 con 13 g H₂O/g de polímero y, por otro lado, PEE400 es el polímero con menor capacidad de hinchamiento. Esta serie mostró capacidad de encapsular y liberar controladamente rodamina. El polímero con mayor grado de hinchamiento exhibe un porcentaje de liberación mayor a 100 h, a su vez el poliéster con menor grado de hinchamiento presenta el mínimo porcentaje de liberación en el mismo tiempo. Estos resultados indican que es posible controlar el porcentaje de liberación eligiendo el poliéster con el grado de entrecruzamiento apropiado, propiedad que puede ser atractiva para estudios de liberación controlada de drogas. Por otra parte, los resultados de citotoxicidad determinaron que estos polímeros son biocompatibles según la norma ISO 10993-5. Debido a que las estructuras de las tres clases de poliésteres obtenidos son similares, se espera que todos los polímeros sean biocompatibles, haciéndolos buenos candidatos para estudios en biológicos.
- En cuanto a los polímeros fluorescentes se usaron dos dioles diferentes. Los polímeros preparados mediante hidroquinona dieron buenos rendimientos de síntesis y excelentes parámetros térmicos, sin embargo, no presentaron la habilidad de emitir luz. A su vez, los polímeros sintetizados usando la cumarina diol, preparados en copolimerización con polietilenglicol, presentaron buenos rendimientos de síntesis, y la habilidad de emitir luz. Las temperaturas de degradación se mantuvieron en comparación a la de la serie PEE, sin embargo, la presencia de cumarina diol originó una segunda temperatura de degradación

cercana a los 480°C. Los puntos de fusión estuvieron en el rango de -12 - 53°C, y las temperaturas de transición vítrea no fueron observadas en el rango evaluado. Estos polímeros, al igual que la serie PEE, presentan capacidad de hinchamiento tanto en agua como en cloroformo, una propiedad importante para un posible uso biomédico. Finalmente, los estudios de microscopía confocal confirmaron la presencia de cumarina diol en la estructura de los polímeros. Las pequeñas diferencias en tiempo de vida de fluorescencia encontradas entre los diferentes polímeros permiten diferenciar su ubicación espacial en una mezcla de ellos, abriendo el camino para futuros estudios para su uso en aplicaciones biológicas/biomédicas.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] B. Singh, N. Sharma, Mechanistic implications of plastic degradation, *Polym. Degrad. Stab.* 93 (2008) 561–584.
doi:10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008.
- [2] U. Biermann, W. Friedt, S. Lang, W. Lühs, G. Machmüller, J.O. Metzger, M. Rüsck, H.J. Schäfer, M.P. Schneider, New syntheses with oils and fats as renewable raw materials for the chemical industry, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 39 (2000) 2206–2224. doi:1433-7851/00/3913-2207.
- [3] G. Lligadas, J.C. Ronda, M. Galiá, V. Cádiz, Plant oils as platform chemicals for polyurethane synthesis: Current state-of-the-art, *Biomacromolecules.* 11 (2010) 2825–2835. doi:10.1021/bm100839x.
- [4] U. Biermann, U. Bornscheuer, M. a R. Meier, J.O. Metzger, H.J. Schäfer, Oils and fats as renewable raw materials in chemistry, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 50 (2011) 3854–3871. doi:10.1002/anie.201002767.
- [5] G.E.B. Gutiérrez, Elaboración y evaluación del biodiesel obtenido a partir de aceite de tártago (*euphorbia lathyris* L.), ricino (*ricinus communis* L.) y raps (*brassica napus* L.), Universidad de Concepción, 2009.
- [6] H. Mutlu, M. a R. Meier, Castor oil as a renewable resource for the chemical industry, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 112 (2010) 10–30.
doi:10.1002/ejlt.200900138.
- [7] D.S. Ogunniyi, Castor oil: A vital industrial raw material, *Bioresour. Technol.* 97 (2006) 1086–1091. doi:10.1016/j.biortech.2005.03.028.
- [8] T. Lebarbé, L. Maisonneuve, T.H. Nga Nguyen, B. Gadenne, C. Alfos, H. Cramail, Methyl 10-undecenoate as a raw material for the synthesis of renewable semi-crystalline polyesters and poly(ester-amide)s, *Polym. Chem.* 3 (2012) 2842. doi:10.1039/c2py20394d.
- [9] A.S. More, B. Gadenne, C. Alfos, H. Cramail, AB type polyaddition route to thermoplastic polyurethanes from fatty acid derivatives, *Polym. Chem.* 3 (2012) 1594. doi:10.1039/c2py20123b.
- [10] D. V. Palaskar, A. Boyer, E. Cloutet, J.F. Le Meins, B. Gadenne, C. Alfos, C.

- Farcet, H. Cramail, Original diols from sunflower and ricin oils: Synthesis, characterization, and use as polyurethane building blocks, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 50 (2012) 1766–1782. doi:10.1002/pola.25944.
- [11] Z.S. Petrović, J. Milić, Y. Xu, I. Cvetković, A chemical route to high molecular weight vegetable oil-based polyhydroxyalkanoate, *Macromolecules.* 43 (2010) 4120–4125. doi:10.1021/ma100294r.
- [12] P.J. Flory, Fundamental principles of condensation polymerization, *Chem. Rev.* 39 (1946) 137–197. doi:10.1021/cr60122a003.
- [13] S. Weininger, *Química Orgánica, Primera*, Editorial Reverté, Barcelona, 1988.
- [14] W. Guo, M. Ashida, Mechanical Properties of PET Short Fiber-Polyester Thermoplastic Elastomer Composites, *J. Appl. Polym. Sci.* 49 (1993) 1081–1091. doi:10.1002/app.1993.070490615.
- [15] J.G. de la C.-J. de Abajo, *Ciencia y tecnología de materiales poliméricos V.2, Primera*, CSIC, Madrid, 2004.
- [16] John Holman- Phil Stone, *Chemistry, Second*, Nelson Thornes Ltd, United Kingdom, 2001.
- [17] R. Nagarajan, Amphiphilic surfactants and amphiphilic polymers: Principles of molecular assembly, *ACS Symp. Ser.* 1070 (2011) 1–22. doi:10.1021/bk-2011-1070.ch001.
- [18] Y. Zhang, J. Yang, Design strategies for fluorescent biodegradable polymeric biomaterials, *J. Mater. Chem. B.* (2013) 132–148. doi:10.1039/c2tb00071g.
- [19] J.O. Escobedo, O. Rusin, S. Lim, R.M. Strongin, NIR dyes for bioimaging applications, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 14 (2010) 64–70. doi:10.1016/j.cbpa.2009.10.022.
- [20] S. X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, Weiss, Quantum Dots for Live Cells , *Science* (80-.). 307 (2005) 538–545. doi:10.1126/science.1104274.
- [21] X. Zhang, *Fundamentals of fiber science, first*, DEStech publication, United Stated of America, 2014.

- [22] R. Puleo, David A., Bizios, Biological interaction on material surface, First, Springer-Verlag, New York, 2009.
- [23] P.C. Hiemenz, Polymer Chemistry, Second, CRC press, United States of America, 1984.
- [24] A. El Kadib, N. Katir, N. Marcotte, K. Molvinger, A. Castel, P. Rivière, D. Brunel, Nanocomposites from natural templates based on fatty compound-functionalised siloxanes, *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 6004.
doi:10.1039/b906448f.
- [25] N. Katir, A. El Kadib, M. Dahrouch, A. Castel, N. Gatica, Z. Benmaarouf, P. Riviere, Amphiphilic polyesters derived from silylated and germylated fatty compounds, *Biomacromolecules.* 10 (2009) 850–857. doi:10.1021/bm8013457.
- [26] M. J., M. B., Hydrosilylation: A Comprehensive Review on Recent Advances, Springer, Poland, 2008. doi:10.1007/978-1-4020-8172-9.
- [27] Y. Nakajima, S. Shimada, Hydrosilylation reaction of olefins: recent advances and perspectives, *RSC Adv.* 5 (2015) 20603–20616.
doi:10.1039/C4RA17281G.
- [28] M.B. Frampton, I. Subczynska, P.M. Zelisko, Biocatalytic synthesis of silicone polyesters, *Biomacromolecules.* 11 (2010) 1818–1825.
doi:10.1021/bm100295z.
- [29] W. Brachaczek, Comparative analysis of organosilicon polymers of varied chemical composition in respect of their application in silicone-coating manufacture, *Prog. Org. Coatings.* 77 (2014) 609–615.
doi:10.1016/j.porgcoat.2013.11.026.
- [30] J.C. Richard G. Jones, Wataru Ando, Silicon-Containing Polymers, First, Springer, Netherlands, 2000.
- [31] S. Grabowsky, M.F. Hesse, C. Paulmann, P. Luger, J. Beckmann, How to Make the Ionic Si - O Bond More Covalent and the Si - O - Si Linkage a Better Acceptor for Hydrogen Bonding †, *Inorg. Chem.* 48 (2009) 4384–4393.
- [32] S.N.S. Alconcel, A.S. Baas, H.D. Maynard, FDA-approved poly(ethylene glycol)-protein conjugate drugs, *Polym. Chem.* 2 (2011) 1442–1448.

doi:10.1039/c1py00034a.

- [33] C. Lin, I. Gitsov, Synthesis and Physical Properties of Reactive Amphiphilic Hydrogels Based on Poly(p -chloromethylstyrene) and Poly(ethylene glycol): Effects of Composition and Molecular Architecture, *Macromolecules*. 43 (2010) 3256–3267. doi:10.1021/ma9026564.
- [34] F. Wurm, J. Klos, H.J. Räder, H. Frey, C. Makromolekulare, J. Gutenberg, Synthesis and Noncovalent Protein Conjugation of Linear-Hyperbranched PEG-Poly (glycerol) α , ω n -Telechelics, *J. AM. CHEM. SOC.* (2009) 7954–7955. doi:10.1021/ja9019148.
- [35] G. Pasut, PEG-epirubicin Conjugates with High Drug Loading, *J. Bioact. Compat. Polym.* 20 (2005) 213–230. doi:10.1177/0883911505053377.
- [36] B. Zhang, H. Zhang, Y. Li, J.N. Hoskins, S.M. Grayson, Exploring the effect of amphiphilic polymer architecture: Synthesis, characterization, and self-assembly of both cyclic and linear poly(ethylene glycol)- B -Polycaprolactone, *ACS Macro Lett.* 2 (2013) 845–848. doi:10.1021/mz4003936.
- [37] Y.H. Choe, C.D. Conover, D. Wu, M. Royzen, Y. Gervacio, V. Borowski, M. Mehlig, R.B. Greenwald, Anticancer drug delivery systems: Multi-loaded N4-acyl poly(ethylene glycol) prodrugs of ara-C. II. Efficacy in ascites and solid tumors, *J. Control. Release.* 79 (2002) 55–70. doi:10.1016/S0168-3659(01)00470-9.
- [38] L. Yin, Y. Chen, Z. Zhang, Q. Yin, N. Zheng, J. Cheng, Biodegradable Micelles Capable of Mannose-Mediated Targeted Drug Delivery to Cancer Cells, *Macromol. Rapid Commun.* 36 (2015) 483–489. doi:10.1002/marc.201400650.
- [39] D. Abdelhamid, H. Arslan, Y. Zhang, K. Uhrich, Role of branching of hydrophilic domain on physicochemical properties of amphiphilic macromolecules, *Polym. Chem.* (2014) 1457–1462. doi:10.1039/c3py01072d.
- [40] J.W. Bae, E. Lee, K.M. Park, K.D. Park, Vinyl sulfone-terminated PEG-PLLA diblock copolymer for thiol-reactive polymeric micelle, *Macromolecules*. 42 (2009) 3437–3442. doi:10.1021/ma900185x.
- [41] B.A. Laurent, S.M. Grayson, Synthesis of cyclic amphiphilic homopolymers and

- their potential application as polymeric micelles, *Polym. Chem.* 3 (2012) 1846–1855. doi:10.1039/C1PY00378J.
- [42] L. Liu, S. Parameswaran, A. Sharma, S.M. Grayson, H.S. Ashbaugh, S.W. Rick, Molecular dynamics simulations of linear and cyclic amphiphilic polymers in aqueous and organic environments, *J. Phys. Chem. B.* 118 (2014) 6491–6497. doi:10.1021/jp412184h.
- [43] A. Kohut, A. Voronov, S. Voronov, Micellization and adsolubilization of amphiphilic invertible polyesters, *Chem. Chem. Technol.* 8 (2014) 67–80.
- [44] M.V.S.N. Maddipatla, D. Wehrung, C. Tang, W. Fan, M.O. Oyewumi, T. Miyoshi, A. Joy, Photoresponsive coumarin polyesters that exhibit cross-linking and chain scission properties, *Macromolecules.* 46 (2013) 5133–5140. doi:10.1021/ma400584y.
- [45] D.A. Skoog, S.R. Crouch, *Principios de análisis instrumental*, Sexta edic, Cengage Learning, México, 2008.
- [46] A. Burns, H. Ow, U. Wiesner, Fluorescent core-shell silica nanoparticles: towards “Lab on a Particle” architectures for nanobiotechnology., *Chem. Soc. Rev.* 35 (2006) 1028–1042. doi:10.1039/b600562b.
- [47] D.C. Harris, *Análisis Químico Cuantitativo*, Sexta edic, Reverté, Barcelona, 2006.
- [48] R.Y. Tsien, the Green Fluorescent, *Annu. Rev. Biochem.* 67 (1998) 509–544.
- [49] I.L. Medintz, H.T. Uyeda, E.R. Goldman, H. Mattoussi, Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing., *Nat. Mater.* 4 (2005) 435–446. doi:10.1038/nmat1390.
- [50] S.W. Thomas III, D.J. Guy, T.M. Swager, Chemical Sensors Based on Amplifying Fluorescent Conjugated Polymers, *Chem. Rev.* 107 (2007) 1339–1386.
- [51] L. Basabe-Desmonts, D.N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, Design of fluorescent materials for chemical sensing., *Chem. Soc. Rev.* 36 (2007) 993–1017. doi:10.1039/b609548h.

- [52] Q. Han, Y. Jiang, C. Jin, S. Cheng, X. Wang, X. Wang, B. Wang, Hyperbranched polyester nanorods with pyrrolo[2,1-a]isoquinoline end groups for fluorescent recognition of Fe³⁺, *Polym. Chem.* 5 (2014) 5900–5905. doi:10.1039/C4PY00787E.
- [53] K. Yan, H. Li, P. Li, H. Zhu, J. Shen, C. Yi, S. Wu, K.W.K. Yeung, Z. Xu, H. Xu, P.K. Chu, Self-assembled magnetic fluorescent polymeric micelles for magnetic resonance and optical imaging, *Biomaterials.* 35 (2014) 344–355. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.09.035.
- [54] N. Mackiewicz, J. Nicolas, N. Handke, M. Noiray, J. Mougin, C. Daveu, H.R. Lakkireddy, D. Bazile, P. Couvreur, Precise Engineering of Multifunctional PEGylated Polyester Nanoparticles for Cancer Cell Targeting and Imaging, *Chem. Mater.* 26 (2014) 1834–1847. doi:Doi 10.1021/Cm403822w.
- [55] I. Ben Hassan, C. Lafforgue, A. Ayadi, P. Schmitz, In situ 3D characterization of monodispersed spherical particle deposition on microsieve using confocal laser scanning microscopy, *J. Memb. Sci.* 454 (2014) 283–297. doi:10.1016/j.memsci.2013.12.003.
- [56] B. Yuan, X. Wang, C. Tang, X. Li, G. Yu, In situ observation of the growth of biofouling layer in osmotic membrane bioreactors by multiple fluorescence labeling and confocal laser scanning microscopy, *Water Res.* 75 (2015) 188–200. doi:10.1016/j.watres.2015.02.048.
- [57] K.N. Venugopala, V. Rashmi, B. Odhav, Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity, *Biomed Res. Int.* 2013 (2013). doi:10.1155/2013/963248.
- [58] M.V.S.N. Maddipatla, D. Wehrung, C. Tang, W. Fan, M.O. Oyewumi, T. Miyoshi, A. Joy, Photoresponsive coumarin polyesters that exhibit cross-linking and chain scission properties, *Macromolecules.* 46 (2013) 5133–5140. doi:10.1021/ma400584y.
- [59] M. a Musa, J.S. Cooperwood, M.O.F. Khan, A review of coumarin derivatives in pharmacotherapy of breast cancer., 2008. doi:10.2174/092986708786242877.
- [60] A.M. McCormick, M.V.S.N. Maddipatla, S. Shi, E.A. Chamsaz, H. Yokoyama, A. Joy, N.D. Leipzig, Micropatterned Coumarin Polyester Thin Films Direct Neurite

Orientation, (2014).

- [61] U. Khan, K. Young, A. O'Neill, J.N. Coleman, High strength composite fibres from polyester filled with nanotubes and graphene, *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 12907. doi:10.1039/c2jm31946b.
- [62] B. Radi, R.M. Wellard, G. a. George, Controlled poly(ethylene glycol) network structures through silsesquioxane cross-links formed by sol-gel reactions, *Macromolecules.* 43 (2010) 9957–9963. doi:10.1021/ma101511p.
- [63] F.W. jr Billmeyer, *Ciencia de los polímeros*, 1975.
- [64] H.R. Daniel López, Carmen Mijangos, *Ciencia y Tecnología de Materiales Poliméricos*, 2004.
- [65] E.M. Ahmed, Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, *J. Adv. Res.* 6 (2015) 105–121. doi:10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [66] J. Colter, B. Wirostko, B. Coats, Finite Element Design Optimization of a Hyaluronic Acid-Based Hydrogel Drug Delivery Device for Improved Retention, *Ann. Biomed. Eng.* 46 (2017) 1–11. doi:10.1007/s10439-017-1962-x.
- [67] S. Merino, C. Martín, K. Kostarelos, M. Prato, E. Vázquez, Nanocomposite hydrogels: 3D polymer-nanoparticle synergies for on-demand drug delivery, *ACS Nano.* 9 (2015) 4686–4697. doi:10.1021/acsnano.5b01433.
- [68] Q. Cui, F. Wu, E. Wang, Thermosensitive behavior of poly(ethylene Glycol)-based block copolymer (peg-b-PADMO) controlled via self-assembled microstructure, *J. Phys. Chem. B.* 115 (2011) 5913–5922. doi:10.1021/jp200659u.
- [69] A. González Jiménez, *Materiales con memoria de forma*, 2017.
- [70] C. Peniche, M. Fernández, G. Rodríguez, J. Parra, J. Jimenez, A.L. Bravo, D. Gómez, J. San Román, Cell supports of chitosan/hyaluronic acid and chondroitin sulphate systems. Morphology and biological behaviour, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 18 (2007) 1719–1726. doi:10.1007/s10856-007-3032-7.
- [71] E. Zúñiga, L. Belmar, L. Toledo, C. Torres, B.L. Rivas, S.A. Sánchez, B.F. Urbano, Rhodamine-loaded surface modified mesoporous silica particles

- embedded into a thermoresponsive composite hydrogel for prolonged release, *Eur. Polym. J.* 95 (2017) 358–367. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.08.018.
- [72] L.Z. Shaopu, Llu, Studies on the resonant luminescence spectra of rhodamine dyes and their ion- association complexes, *Spectrochim. Acta.* 51 (1995) 1497–1500.
- [73] X. Xu, X. Hu, J. Wang, A new synthetic protocol for coumarin amino acid, *Beilstein J. Org. Chem.* 9 (2013) 254–259. doi:10.3762/bjoc.9.30.
- [74] D. Andrade, C. Moya, F. Olate, N. Gatica, S. Sanchez, E. Díaz, E. Elgueta, M. Parra, M. Dahrouch, Soft amphiphilic polyesters obtained from PEGs and silicon fatty compounds: structural characterizations and self-assembly studies, *RSC Adv.* 6 (2016) 38505–38514. doi:10.1039/C6RA03725A.
- [75] G. Odian, *Principles of Polymerization*, Fourth edi, Wiley-Interscience, United Stated of America, 2004. doi:10.1002/047147875X.
- [76] V. Belot, R.J.P. Corriu, D. Leclercq, P.H. Mutin, A. Vioux, Thermal reactions occurring during pyrolysis of crosslinked polysiloxane gels, precursors to siliconoxycarbide glasses, *J. Non-Cryst. Solids.* 147 (1992) 52–55.
- [77] R.O. Pinho, E. Radovanovic, I.L. Torriani, I.V.P. Yoshida, Hybrid materials derived from divinylbenzene and cyclic siloxane, *Eur. Polym. J.* 40 (2004) 615–622. doi:10.1016/j.eurpolymj.2003.10.009.
- [78] D.W. Van Krevelen, *Properties of Polymers*, Fourth edi, Elsevier, Slovenia, 2009. doi:10.1016/B978-0-444-82877-4.50021-4.
- [79] J.M.H. and S. Zalipsky, *Poly (ethylene glycol) Chemistry and Biological Applications*, First edit, American Chemical Society, United Stated of America, 1997.
- [80] B. READ, Mechanical relaxation in some oxide polymers, *Polymer (Guildf).* 3 (1962) 529–542. doi:10.1016/0032-3861(62)90100-3.
- [81] Q.M. Craig, *thermochimica acta* A review of thermal methods used for the analysis of the crystal form , solution thermodynamics and glass transition behaviour of polyethylene glycols, 248 (1995) 189–203.

- [82] A.B. Kutikov, J. Song, Biodegradable PEG-Based Amphiphilic Block Copolymers for Tissue Engineering Applications, 2015. doi:10.1021/acsbiomaterials.5b00122.
- [83] R. Langer, D.A. Tirrell, Designing materials for biology and medicine, *Nature*. 428 (2004) 487–492. doi:10.1038/nature02388.
- [84] R. Langer, J.P. Vacanti, Tissue engineering, *Science* (80-.). 260 (1993) 920–926. doi:10.1007/978-3-642-02824-3.
- [85] G. Yu, K. Jie, F. Huang, Supramolecular Amphiphiles Based on Host – Guest Molecular Recognition Motifs, *Chem. Rev.* (2015). doi:10.1021/cr5005315.
- [86] J.S. Lee, J. Feijen, Polymersomes for drug delivery: Design, formation and characterization, *J. Control. Release*. 161 (2012) 473–483. doi:10.1016/j.jconrel.2011.10.005.
- [87] L. Chen, T. Ci, L. Yu, J. Ding, Effects of Molecular Weight and Its Distribution of PEG Block on Micellization and Thermogellability of PLGA-PEG-PLGA Copolymer Aqueous Solutions, *Macromolecules*. 48 (2015) 3662–3671. doi:10.1021/acs.macromol.5b00168.
- [88] C. Reichardt, T. Welton, *Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry*, Fourth edi, Wiley-VCH, Germany, 2011.
- [89] B. Obermeier, H. Frey, Poly(ethylene glycol-co-allyl glycidyl ether)s: A PEG-based modular synthetic platform for multiple bioconjugation, *Bioconjug. Chem.* 22 (2011) 436–444. doi:10.1021/bc1004747.
- [90] J.N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces: Third Edition*, 2011. doi:10.1016/C2011-0-05119-0.
- [91] M. Johnsson, P. Hansson, K. Edwards, Spherical micelles and other self-assembled structures in dilute aqueous mixtures of poly(ethylene glycol) lipids, *J. Phys. Chem. B*. 105 (2001) 8420–8430. doi:10.1021/jp011088l.
- [92] J. Guharay, P.K. Sengupta, Characterization of the fluorescence emission properties of 7- azatryptophan in reverse micellar environments, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219 (1996) 388–392.

- [93] G.N. Smith, P. Brown, S.E. Rogers, J. Eastoe, Evidence for a critical micelle concentration of surfactants in hydrocarbon solvents, *Langmuir*. 29 (2013) 3252–3258. doi:10.1021/la400117s.
- [94] G.B. Behera, B.K. Mishra, P.K. Behera, M. Panda, Fluorescent probes for structural and distance effect studies in micelles, reversed micelles and microemulsions, *Adv. Colloid Interface Sci.* 82 (1999) 1–42.
- [95] F. Beunis, F. Strubbe, M. Karvar, O. Drobchak, T. Brans, K. Neyts, Inverse micelles as charge carriers in nonpolar liquids: Characterization with current measurements, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 18 (2013) 129–136. doi:10.1016/j.cocis.2013.02.010.
- [96] N.M. Correa, J.J. Silber, R.E. Riter, N.E. Levinger, Nonaqueous Polar Solvents in Revers Micelle Systems, *Chem. Rev.* 112 (2012) 4569–4602. doi:10.1021/cr200254q.
- [97] J. Coreño-alonso, M. Teresa, Relación estructura-propiedades de polímeros, 21 (2010) 291–299. doi:10.1016/S0187-893X(18)30098-3.
- [98] P.J. Flory, *Principles of polymer chemistry*, Cornell University Press, 1953.
- [99] J.. Frenkel, Theory of elasticity, viscosity and swelling in polymeric rubber-like substances, *Rubber Chem. Technol.* 13 (1940) 264–274.
- [100] P.J. Flory, Statical mechanic of cross-linked polymer networks II swelling, *J. Chem. Phys.* 11 (1943) 521–526.
- [101] P.J. Flory, Statical Mechanic of swelling of networks structures, *J. Chem. Phys.* 18 (1950) 108–111.
- [102] Y. Mckenna, G.B; Flynn, K.M; Chen, Experiments of the elasticity of dry and swollen networks : Implication for the Frenkel-Flory-Rehener hypothesis, *Macromolecules.* 22 (1989) 4507–4512.
- [103] R.. Rubinstein, M.Colby, *Polymer physics*, Oxford University Press, 2003.
- [104] K. Saalwächter, Proton Multiple-Quatum NMR for the study of chain dynamics and structural constraints in polymeric soft material, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 51 (2007) 1–35.

- [105] M.. Saalwächter, K.; Herrero, B. ; López-Manchado, Chemical shift-related artifact in NMR determination of proton residual dipolar couplings in elastomers, *Macromolecules*. 38 (2005) 4040–4042.
- [106] W. ;Saalwächte. Valentin, J.L.; Carretero-González, J.;Mora-Barrantes, I.; Chassé, Uncertainties in the determination of cross-link density by equilibrium swelling experiments in natural rubber, *Macromolecules*. 41 (2008) 4717–4729.
- [107] A. González Jimennéz, *Materiales elastoméricos con memoria de forma*, 2017.
- [108] M. De Alta, C.D.A. Rubio, A.A.R. Hernández-, Estudio de la estructura y de la cinética de reacción de redes de poliuretano empleando RMN de campo bajo, 103 (2012) 420–431.
- [109] J.L. Valentín, P. Posadas, A. Fernández-Torres, M.A. Malmierca, L. González, W. Chassé, K. Saalwächter, Inhomogeneities and chain dynamics in diene rubbers vulcanized with different cure systems, *Macromolecules*. 43 (2010) 4210–4222. doi:10.1021/ma1003437.
- [110] F. Lange, K. Schwenke, M. Kurakazu, Y. Akagi, U. Il Chung, M. Lang, J.U. Sommer, T. Sakai, K. Saalw??chter, Connectivity and structural defects in model hydrogels: A combined proton NMR and Monte Carlo simulation study, *Macromolecules*. 44 (2011) 9666–9674. doi:10.1021/ma201847v.
- [111] H.H. Winter, Gel Point, *Encycl. Polym. Sci. Technol.* (2016) 1–15. doi:10.1002/0471440264.pst476.pub2.
- [112] E. Karadağ, A. Nalbantoğlu, S. Kundakçı, Ö.B. Üzümlü, Uranyl Ion Sorption Characteristics of Novel Polymer/Montmorillonite/Carboxymethyl Cellulose-Composite Biosorbent-Based AAm/AMPS Hydrogels and Semi-IPNs, *Adv. Polym. Technol.* 37 (2018) 575–585. doi:10.1002/adv.21698.
- [113] Y. Hou, M. Brower, D. Pollard, D. Kanani, R. Jacquemart, B. Kachuik, J. Stout, Advective hydrogel membrane chromatography for monoclonal antibody purification in bioprocessing, *Biotechnol. Prog.* 31 (2015) 974–982. doi:10.1002/btpr.2113.
- [114] I.E. Pacios, M.J. Molina, M.R. Gómez-Antón, I.F. Piérola, Correlation of swelling and crosslinking density with the composition of the reacting mixture

- employed in radical crosslinking copolymerization, *J. Appl. Polym. Sci.* 103 (2007) 263–269. doi:10.1002/app.25269.
- [115] M.L.D. Mahkam, The Relation Between Swelling Properties and Cross-Linking of Hydrogels Designed for Colon- Specific Drug Delivery, *Drug Deliv.* 12 (2005) 343–347. doi:https://doi.org/10.1080/10717540590952627.
- [116] J. Siepmann, F. Siepmann, Mathematical modeling of drug delivery, *Int. J. Pharm.* 364 (2008) 328–343. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.09.004.
- [117] R. Zarzycki, Z. Modrzejewska, K. Nawrotek, U. Lek, Drug Release From Hydrogel Matrices, *Ecol. Chem. Eng. S.* 17 (2010) 117–136.
- [118] P.L. Ritger, N.A. Peppas, A simple equation for description of solute release, *J. Control. Release.* 5 (1987) 37–42.
- [119] W. Lafayette, A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation, 57 (1989) 169–172.
- [120] ISO, ISO/EN10993-5, *Int. Stand. ISO 10993-5 Biol. Eval. Med. Devices - Part 5 Tests Cytotox. Vit. Methods.* 3 Ed (2009) 42.
- [121] V. Zamora-Mora, M. Fernández-Gutiérrez, J.S. Román, G. Goya, R. Hernández, C. Mijangos, Magnetic core-shell chitosan nanoparticles: Rheological characterization and hyperthermia application, *Carbohydr. Polym.* 102 (2014) 691–698. doi:10.1016/j.carbpol.2013.10.101.
- [122] R. Seoane Rivero, P. Bilbao Solaguren, K. Gondra Zubieta, A. Gonzalez-Jimenez, J.L. Valentin, A. Marcos-Fernandez, Synthesis and characterization of a photo-crosslinkable polyurethane based on a coumarin-containing polycaprolactone diol, *Eur. Polym. J.* 76 (2016) 245–255. doi:10.1016/j.eurpolymj.2016.01.047.
- [123] M.A. Digman, V.R. Caiolfa, M. Zamai, E. Gratton, The phasor approach to fluorescence lifetime imaging analysis, *Biophys. J.* 94 (2008) L14–L16. doi:10.1529/biophysj.107.120154.
- [124] F.A. Olate, J.A. Ulloa, J.M. Vergara, S.A. Sánchez, J. Barberá, M.L. Parra, Columnar liquid crystalline tris-(ether)triazines with pendant 1,3,4-thiadiazole groups: synthesis, mesomorphic, luminescence, solvatofluorochromic and

- electrochemical properties, *Liq. Cryst.* 43 (2016) 811–827.
doi:10.1080/02678292.2016.1144813.
- [125] Ä. Nchez, E. Gratton, Lipid - Protein Interactions Revealed by Two-Photon Microscopy and Fluorescence Correlation Spectroscopy, *38* (2005) 469–477.
- [126] P. Hrdlovic, J. Donovalova, H. Stankovicova, A. Gaplovsky, Influence of polarity of solvents on the spectral properties of bichromophoric coumarins, *Molecules.* 15 (2010) 8915–8932. doi:10.3390/molecules15128915.
- [127] E. Gratton, V. Herlax, S. Sanchez, L. Baka, Alpha Hemolysin Induces an Increase of Erythrocytes Calcium : A FLIM 2-Photon Phasor Analysis Approach, *PLoS One.* 6 (2011) e21127. doi:10.1371/journal.pone.0021127.
- [128] D.M. Jameson, C.M. Vetromile, N.G. James, Investigations of protein – protein interactions using time-resolved fluorescence and phasors, *Methods.* 59 (2013) 278–286. doi:10.1016/j.ymeth.2013.01.004.
- [129] L. Aguilar-Arnal, S. Ranjit, C. Stringari, R. Orozco-Solis, E. Gratton, P. Sassone-Corsi, Spatial dynamics of SIRT1 and the subnuclear distribution of NADH species, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113 (2016) 12715–12720.
doi:10.1073/pnas.1609227113.
- [130] D.M. Jameson, E. Gratton, D. Hall, The Measurement and Analysis of Heterogeneous Emissions by Multifrequency Phase and Modulation Fluorometry, *Appl. Spectrosc. Rev.* 20 (2007) 55–106.
- [131] G.I. Redford, R.M. Clegg, Polar Plot Representation for Frequency-Domain Analysis of Fluorescence Lifetimes, *J. Fluoresc.* 15 (2005) 805–815.
doi:10.1007/s10895-005-2990-8.
- [132] G. Günther, V. Herlax, M.P. Lillo, C. Sandoval-Altamirano, L.N. Belmar, S.A. Sánchez, Study of rabbit erythrocytes membrane solubilization by sucrose monomyristate using laurdan and phasor analysis, *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 161 (2018) 375–385. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.10.068.
- [133] A.S. Kristoffersen, S.R. Erga, B. Hamre, Ø. Frette, Testing fluorescence lifetime standards using two-photon excitation and time-domain instrumentation: Rhodamine B, coumarin 6 and lucifer yellow, *J. Fluoresc.* 24

(2014) 1015–1024. doi:10.1007/s10895-014-1368-1.

- [134] E. Gratton, Fluorescence lifetime imaging for the two-photon microscope: time-domain and frequency-domain methods, *J. Biomed. Opt.* 8 (2003) 381. doi:10.1117/1.1586704.

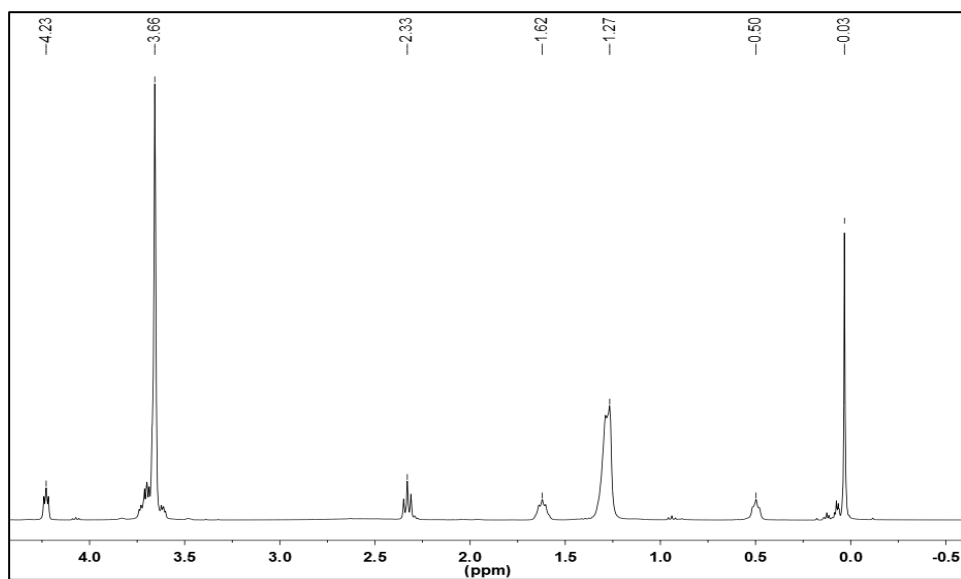


ANEXOS

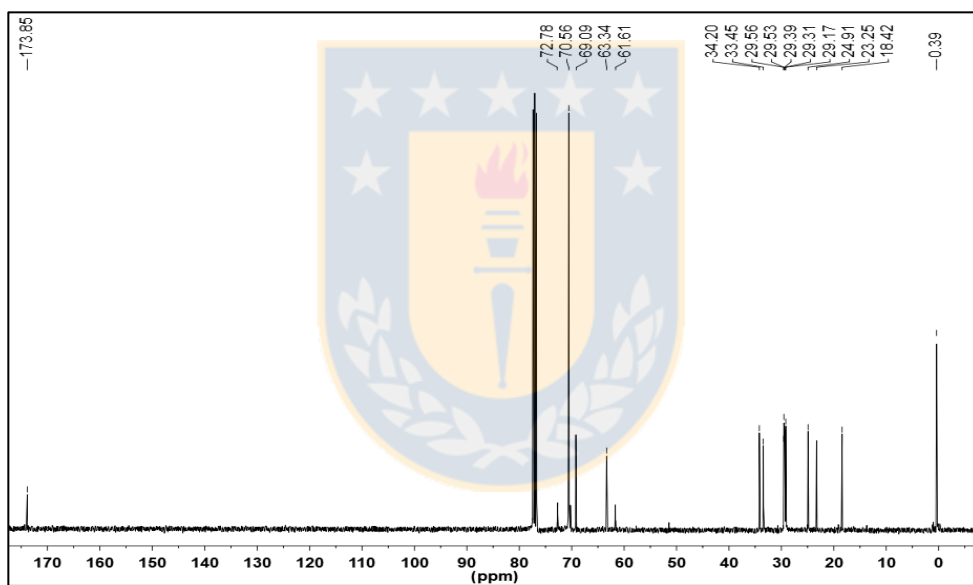
A. Poliésteres anfifílicos lineales

1. Espectros de resonancia magnética nuclear para la serie PEL

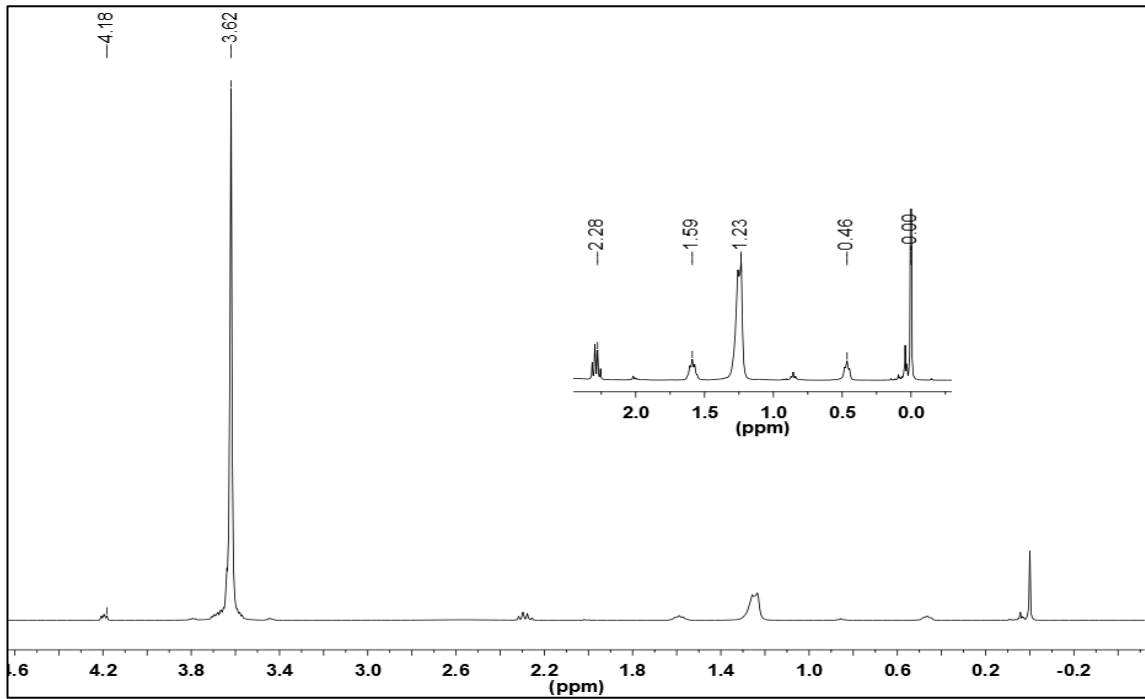
Los espectros mostrados a continuación corresponden a los polímeros formados en dos horas de reacción.



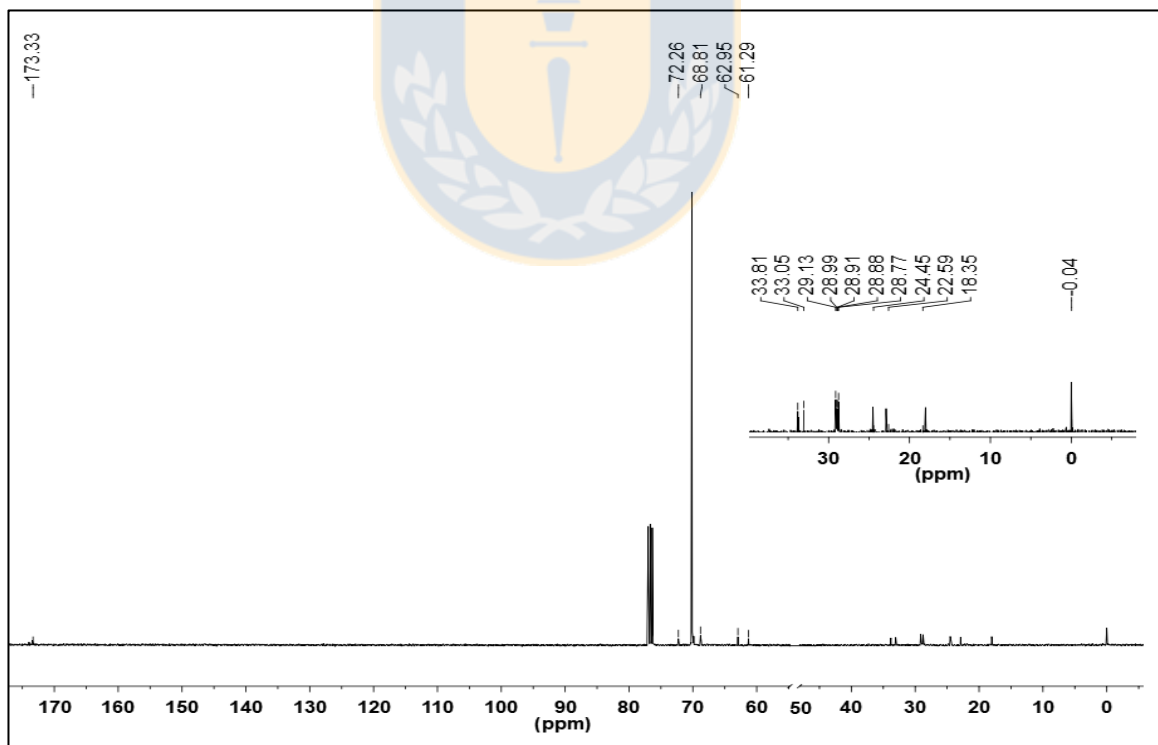
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón para PEL400.



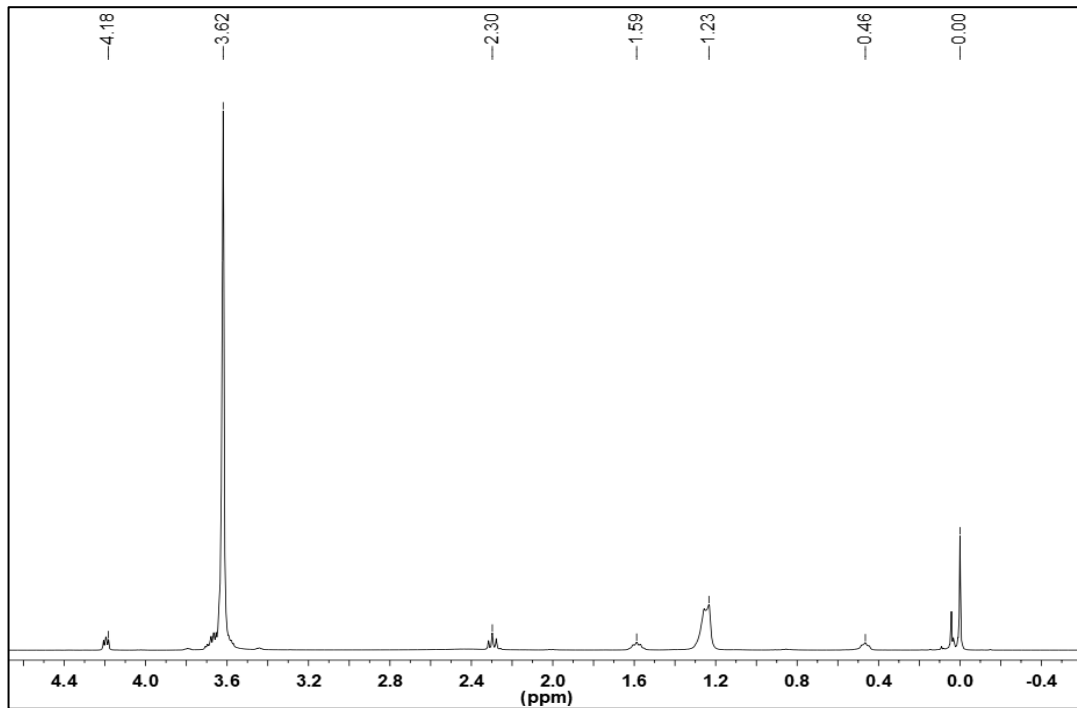
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono para PEL400.



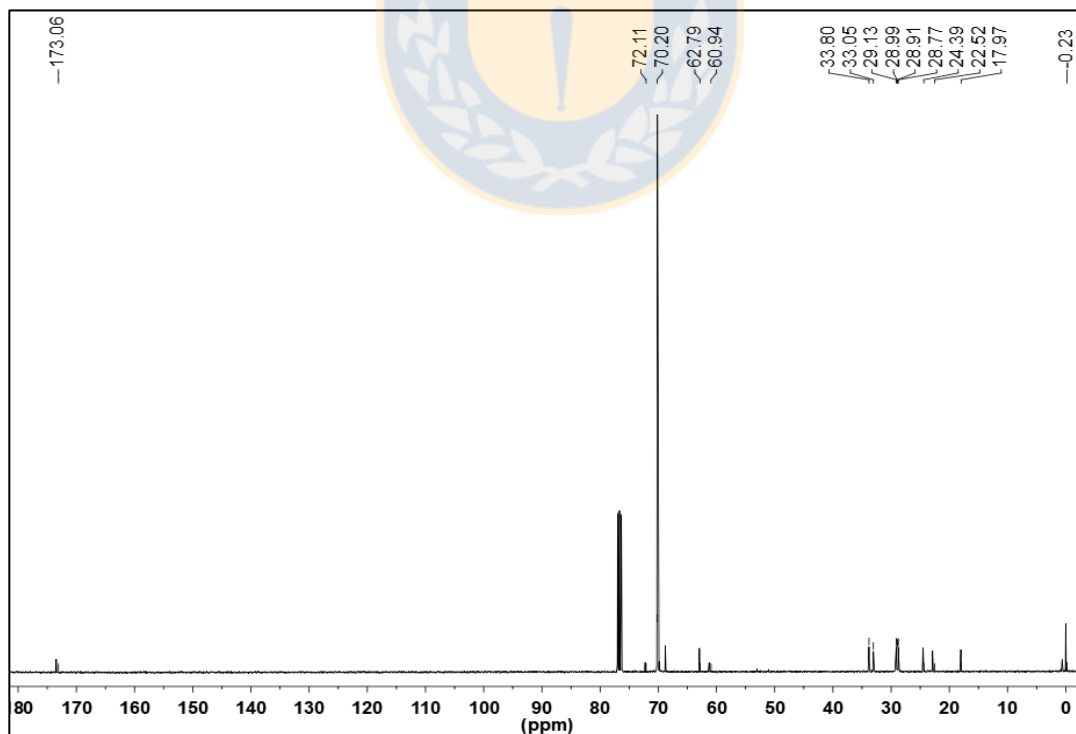
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón para PEL1000.



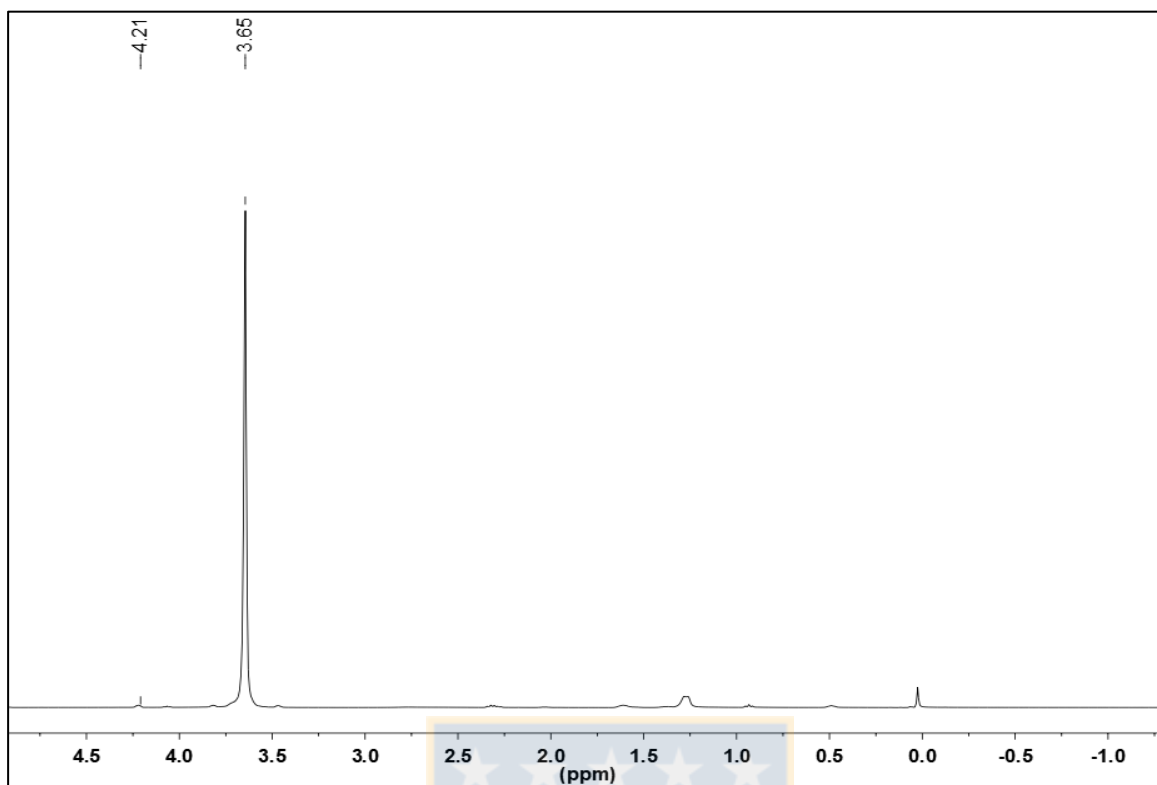
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono para PEL1000.



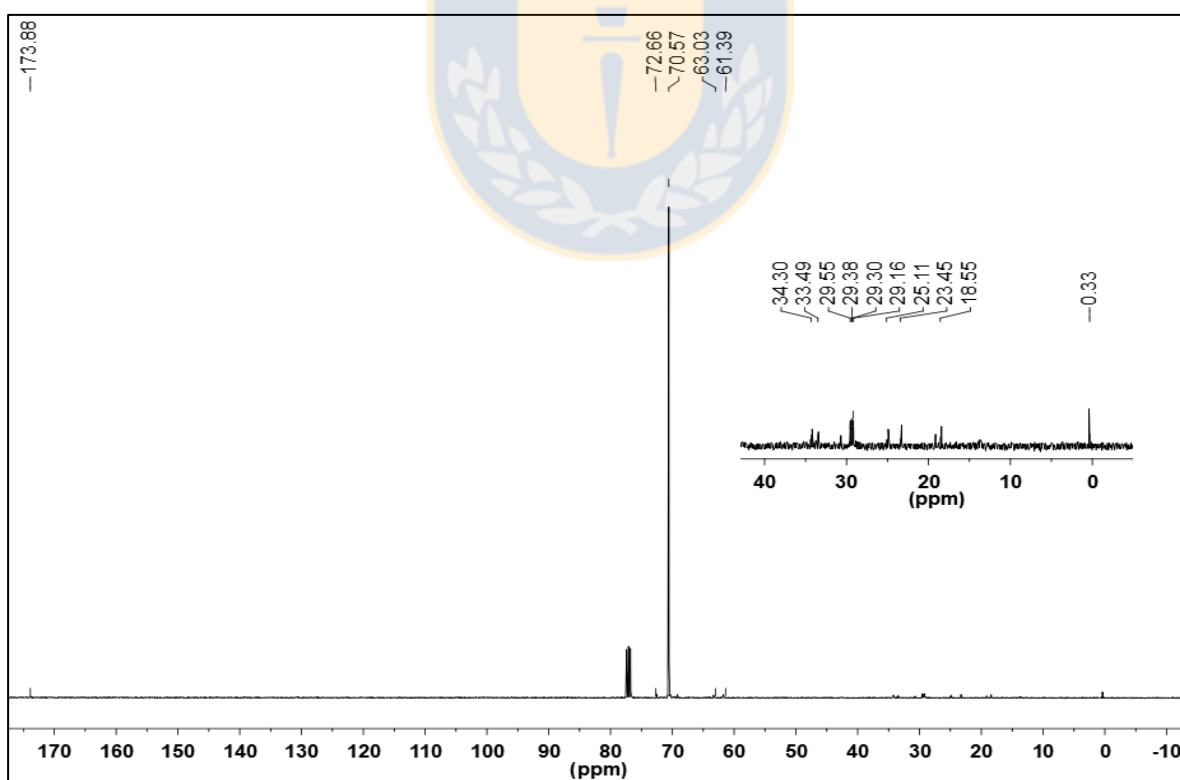
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón para PEL1500.



Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono para PEL1500.



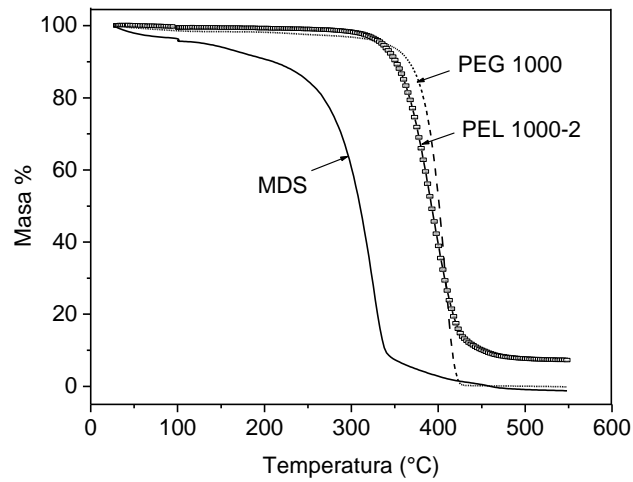
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón para PEL3000.



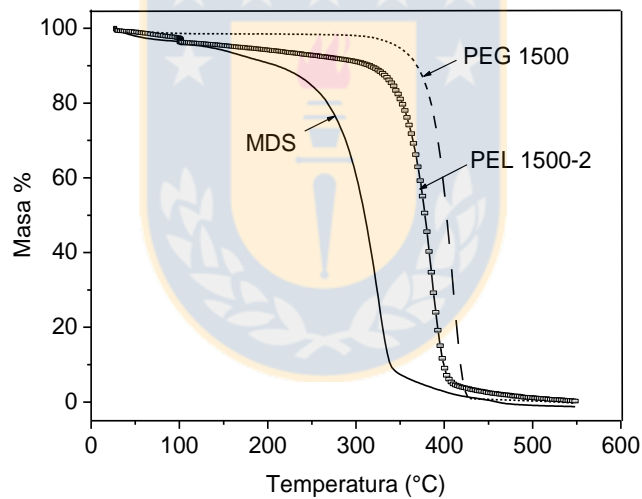
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono para PEL3000.

2. Termogramas para la serie PEL.

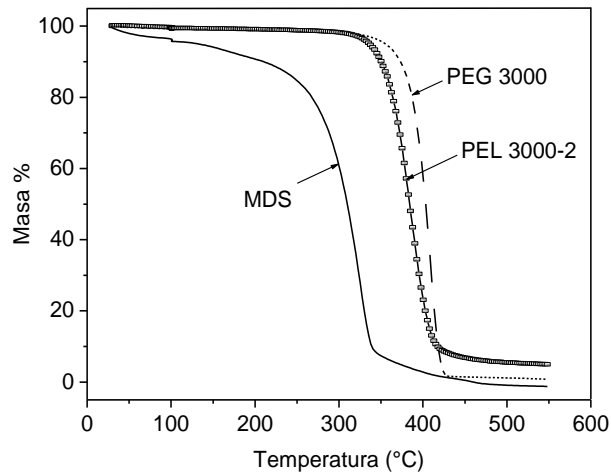
A continuación, se mostrarán los termogramas obtenidos para la serie PEL



Termograma del poliéster PEL1000 en comparación con sus respectivos monómeros.

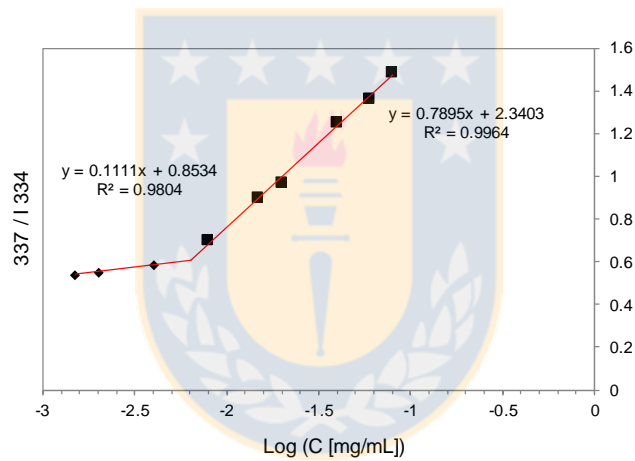


Termograma del poliéster PEL1500 en comparación con sus respectivos monómeros.

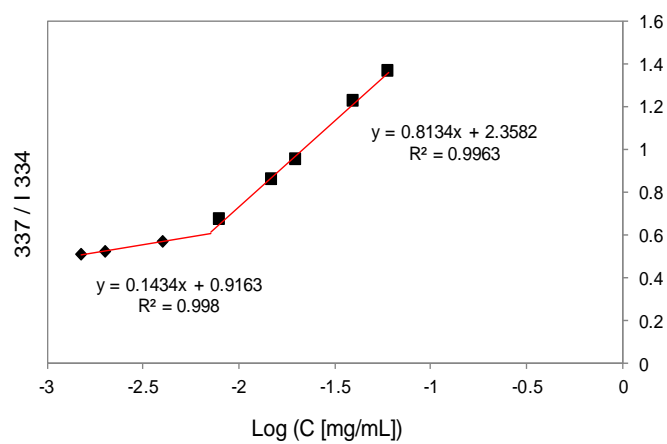


Termograma del poliéster PEL3000 en comparación con sus respectivos monómeros.

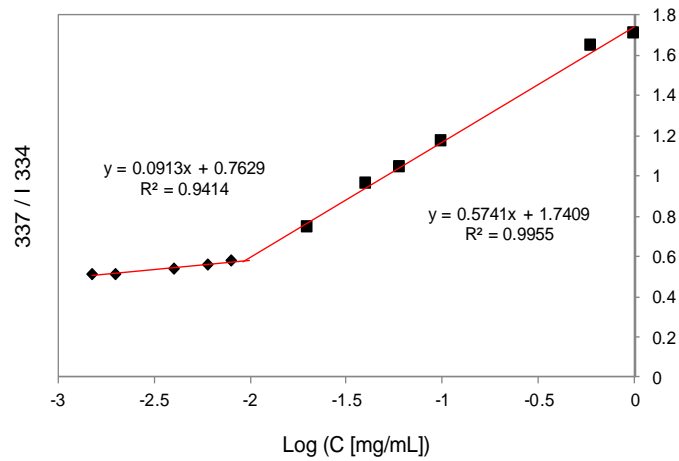
3. Determinación de concentración micelar crítica en agua para la serie PEL.



Gráfica para la determinación de CMC para el polímero PEL1500.

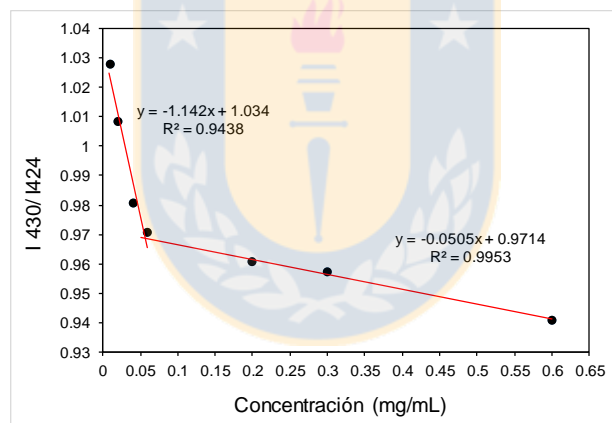


Gráfica para la determinación de CMC para el polímero PEL2000.

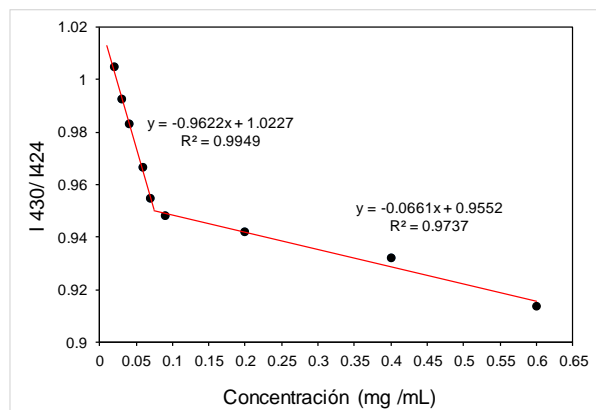


Gráfica para la determinación de CMC para el polímero PEL3000.

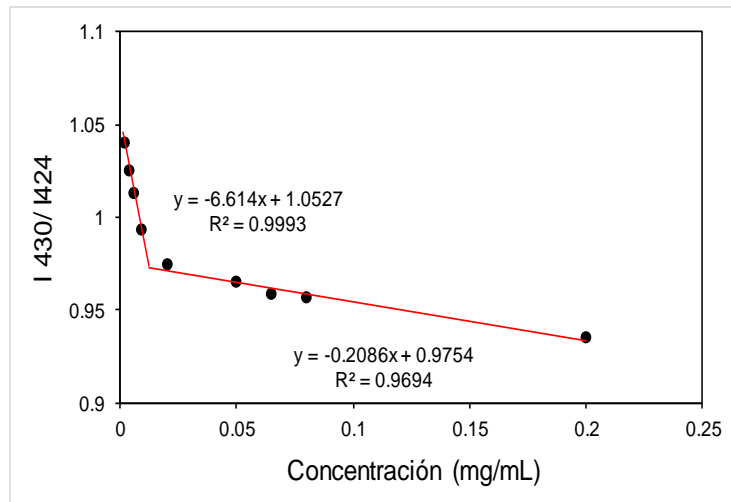
4. Determinación de concentración micelar crítica en medio a polar para la serie PEL.



Gráfica para determinación de CMC inversa para el polímero PEL1500.



Gráfica para la determinación de CMC inversa para el polímero PEL2000.

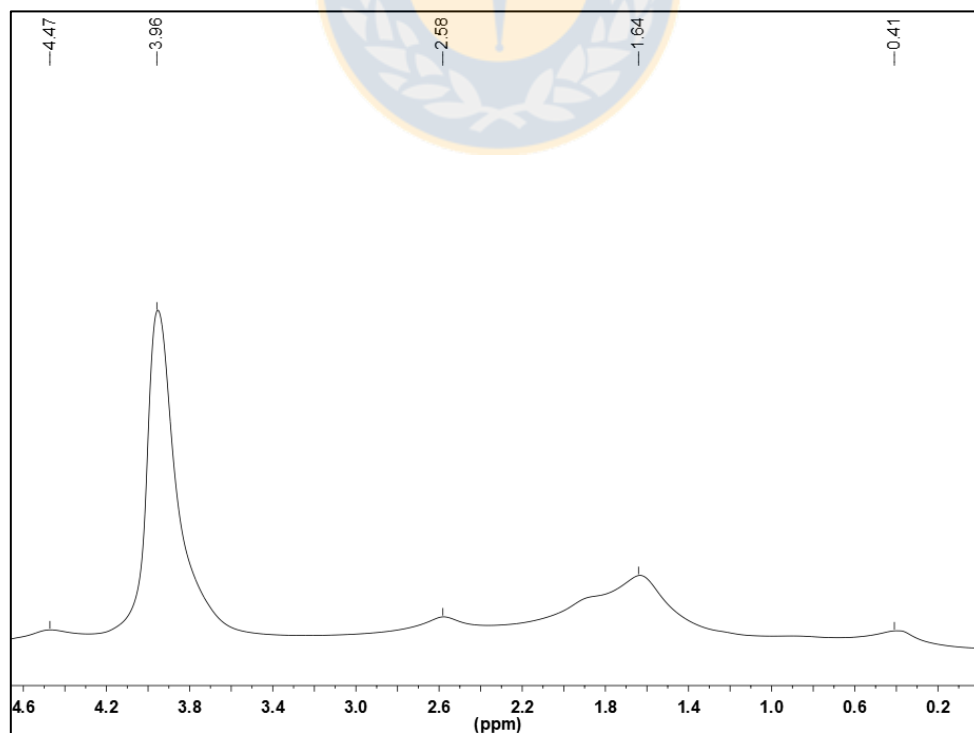


Gráfica para la determinación de CMC inversa para el polímero PEL3000.

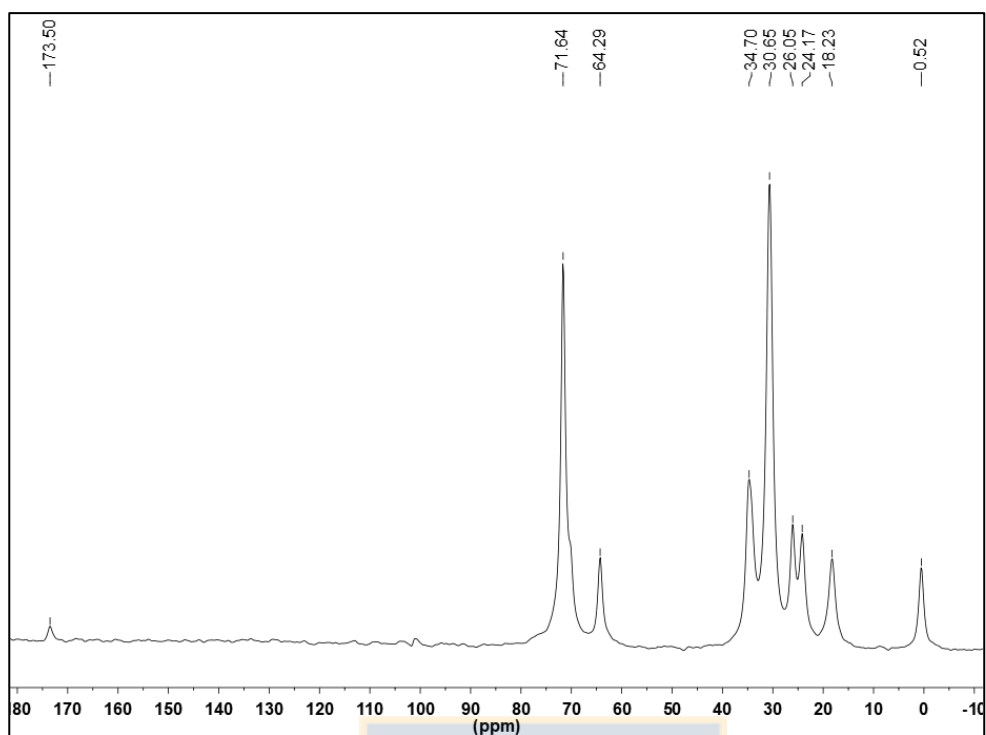
B. Poliésteres anfifílicos entrecruzados

1. Espectros de resonancia magnética nuclear para la serie PEE

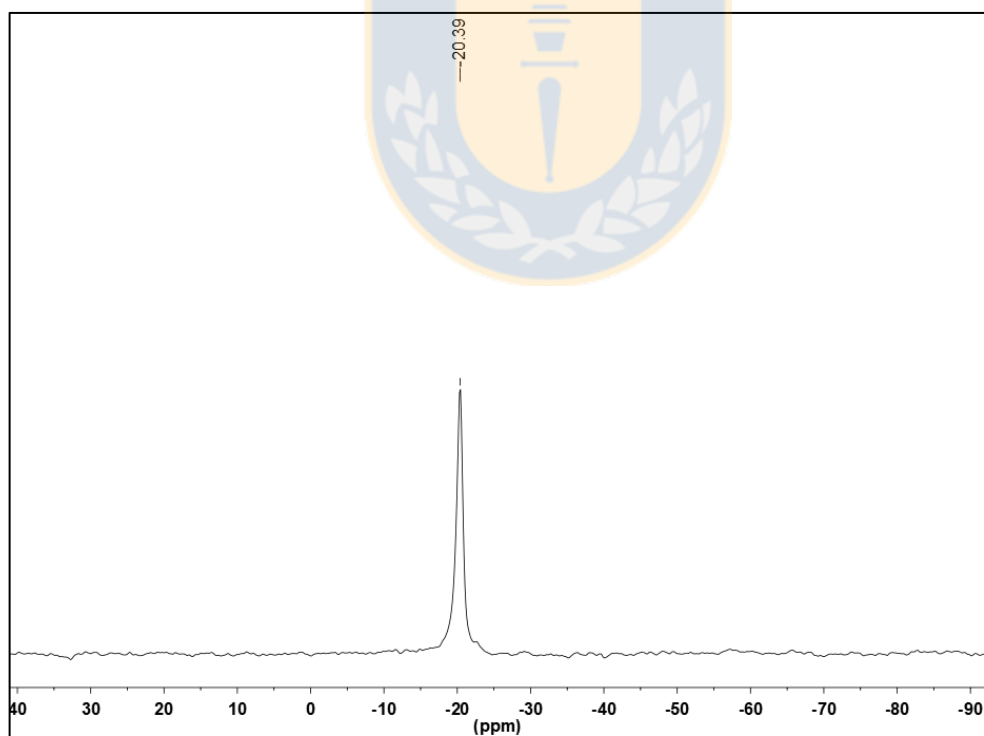
A continuación, se mostrarán los espectros de resonancia magnética nuclear de los poliésteres obtenidos mediante monómero cíclico sililado y PEG (serie PEE).



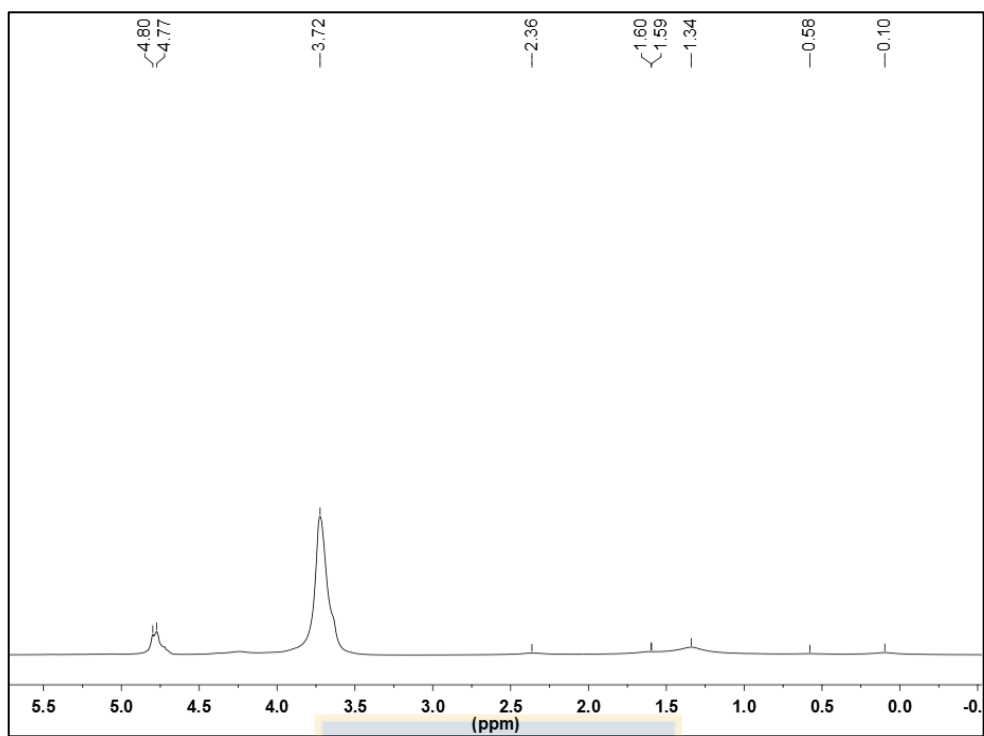
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón mediante HR-MAS para PEE400.



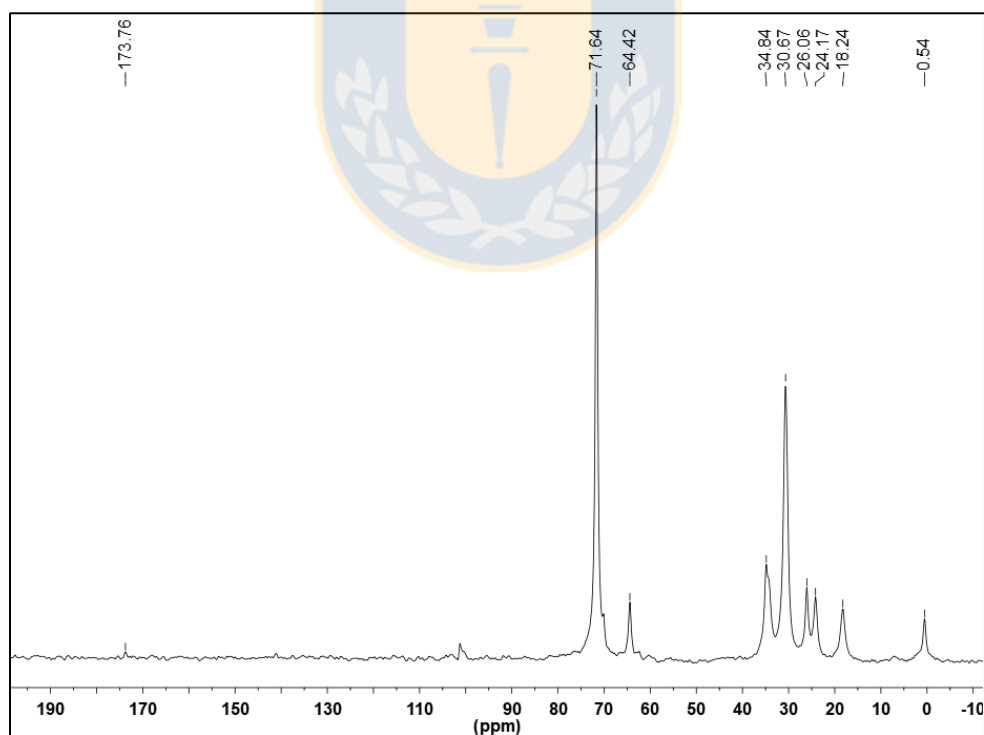
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEE400.



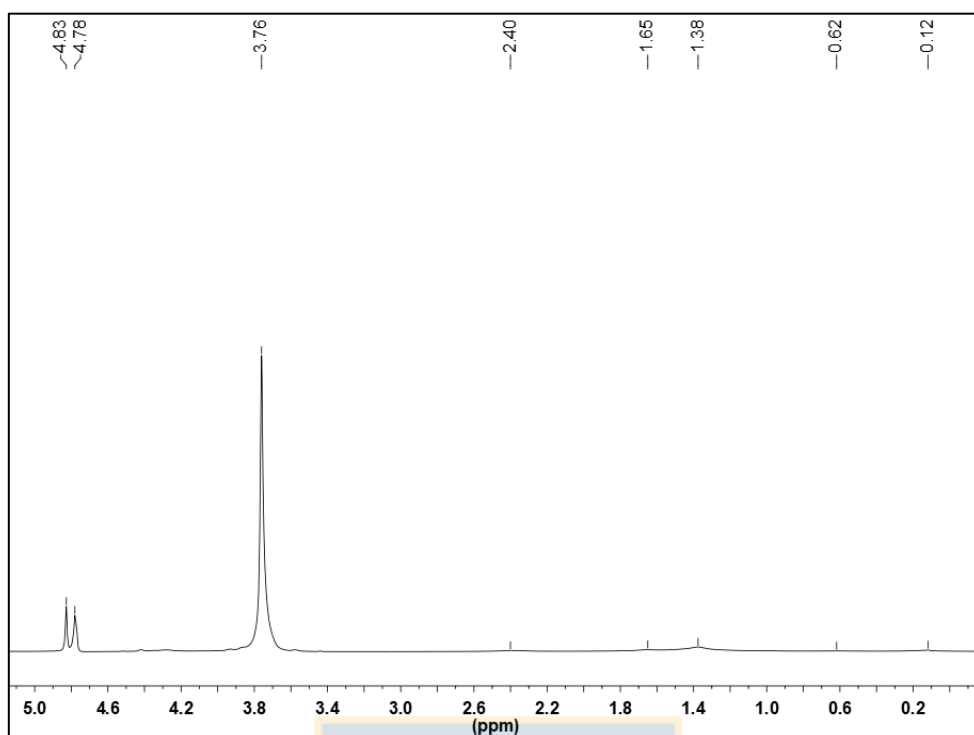
Espectro de resonancia magnética nuclear de silicio mediante CP-MAS para PEE400.



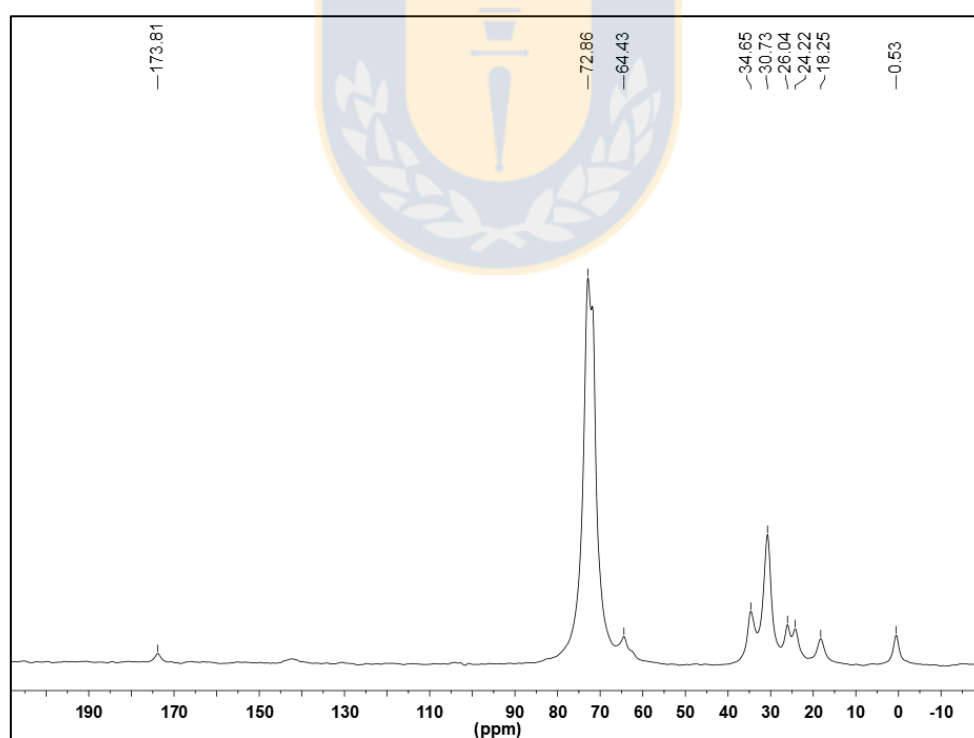
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón mediante HR-MAS para PEE1000.



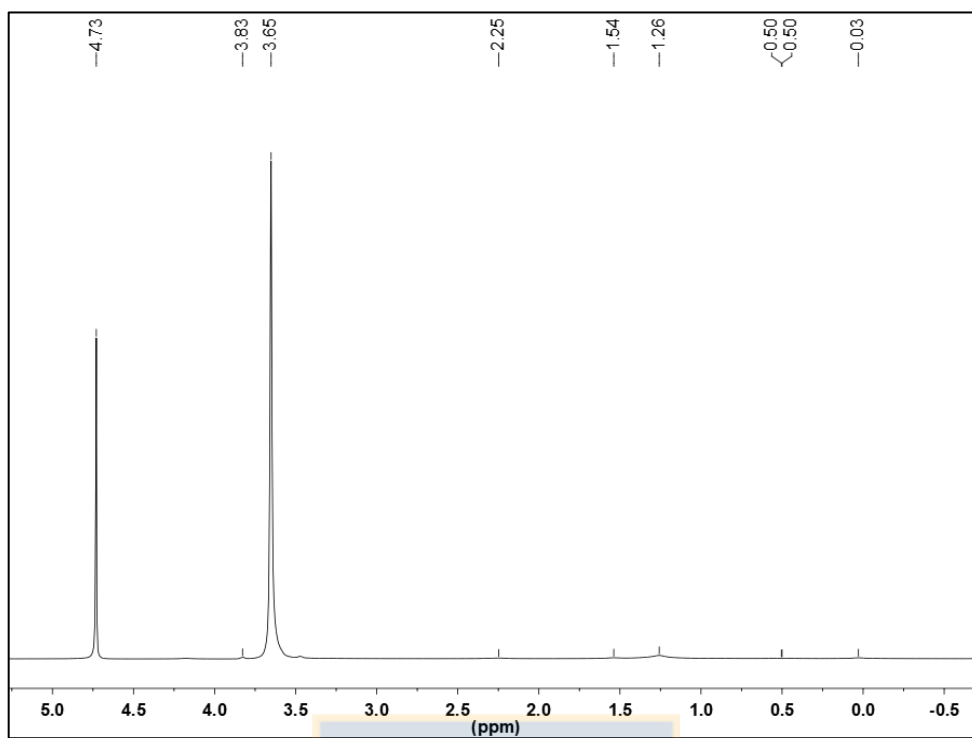
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEE1000.



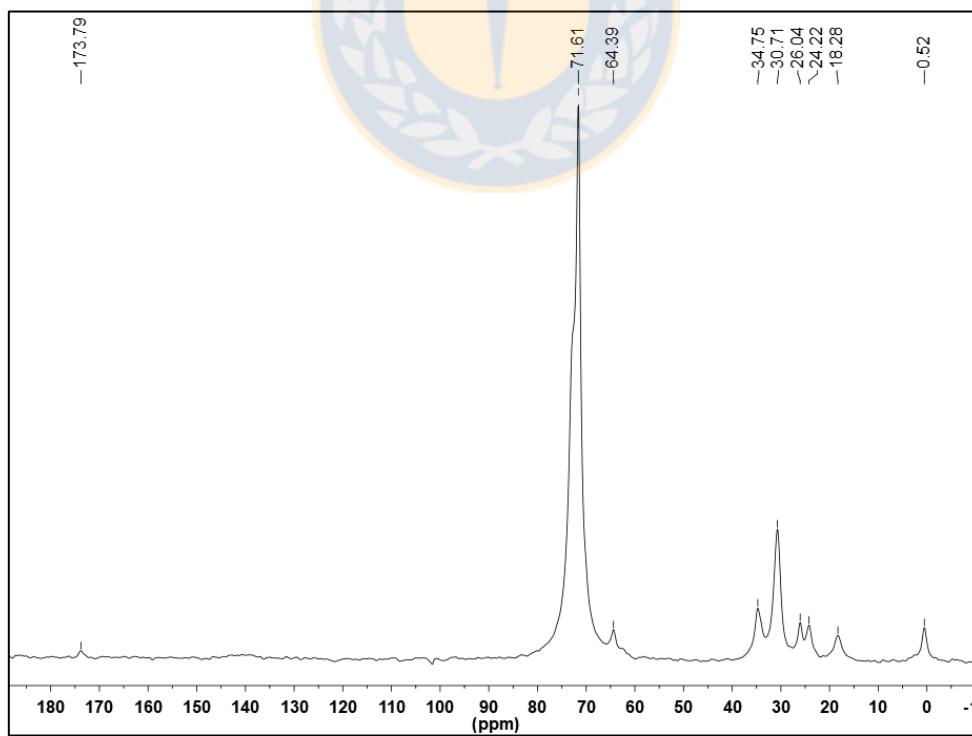
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón mediante HR-MAS para PEE1500.



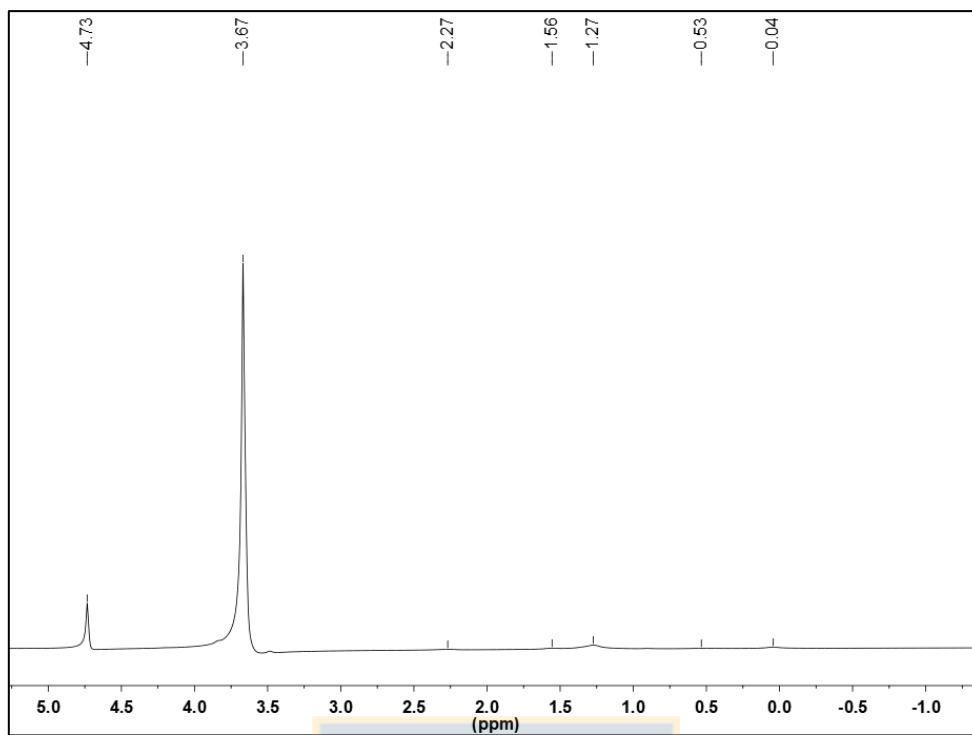
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEE1500.



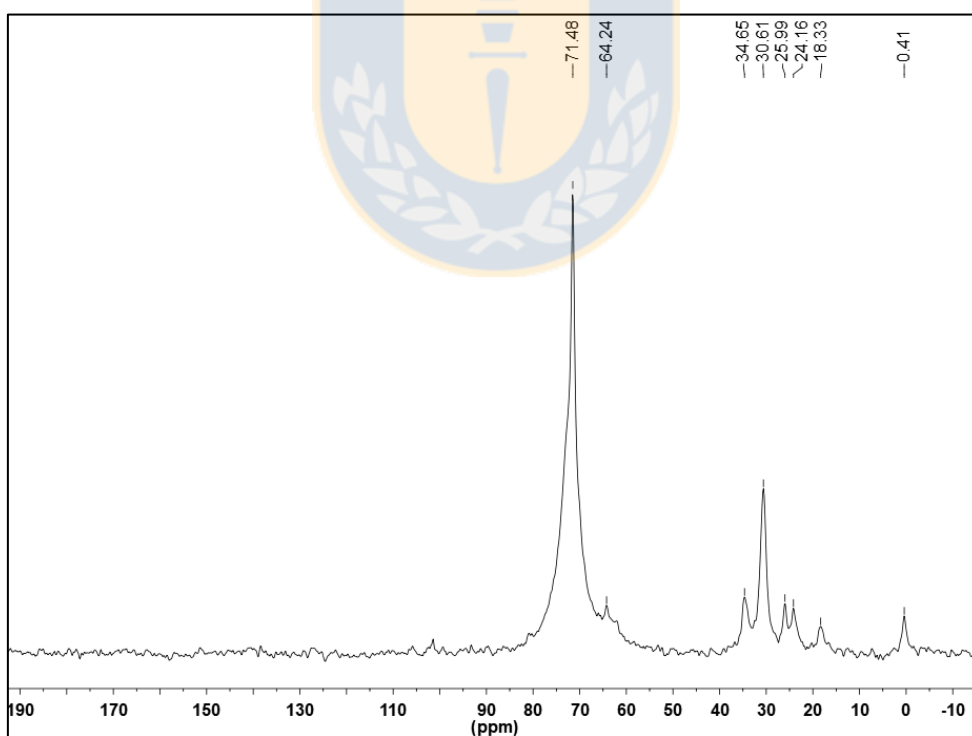
Espectro de resonancia magnética nuclear de protón mediante HR-MAS para PEE3000.



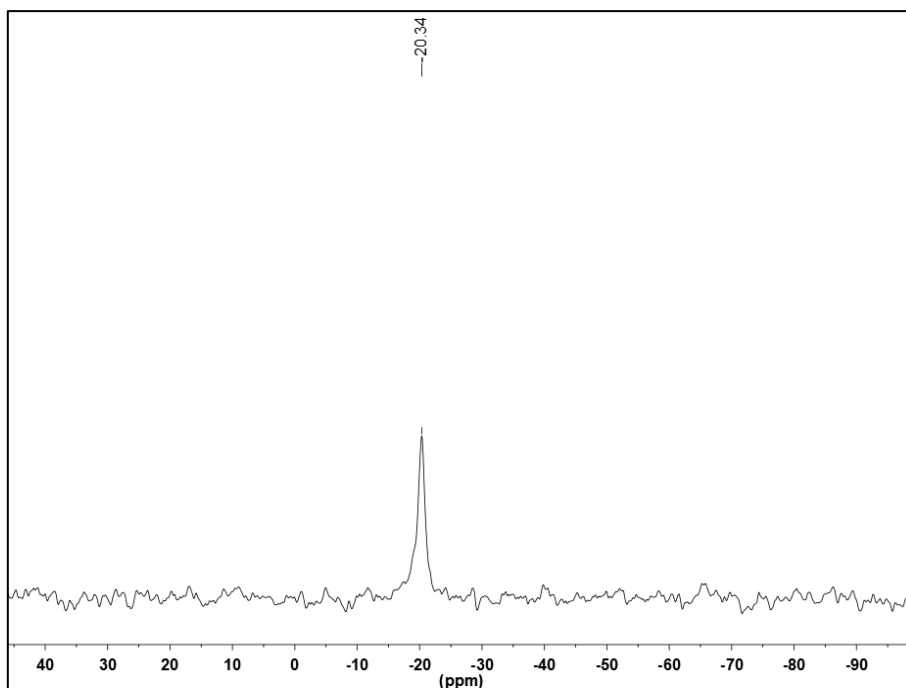
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEE3000.



Espectro de resonancia magnética nuclear de protón mediante HR-MAS para PEE6000.



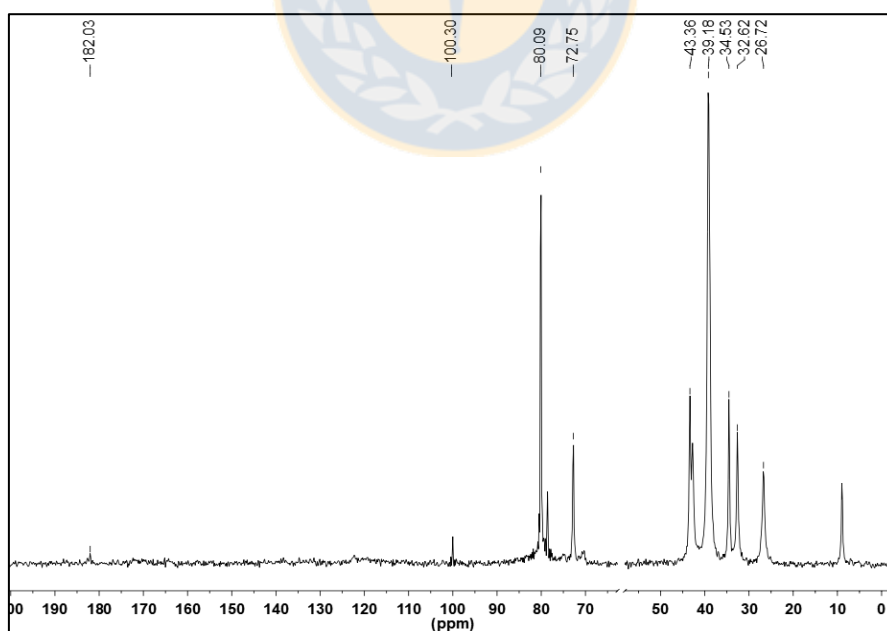
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEE6000.



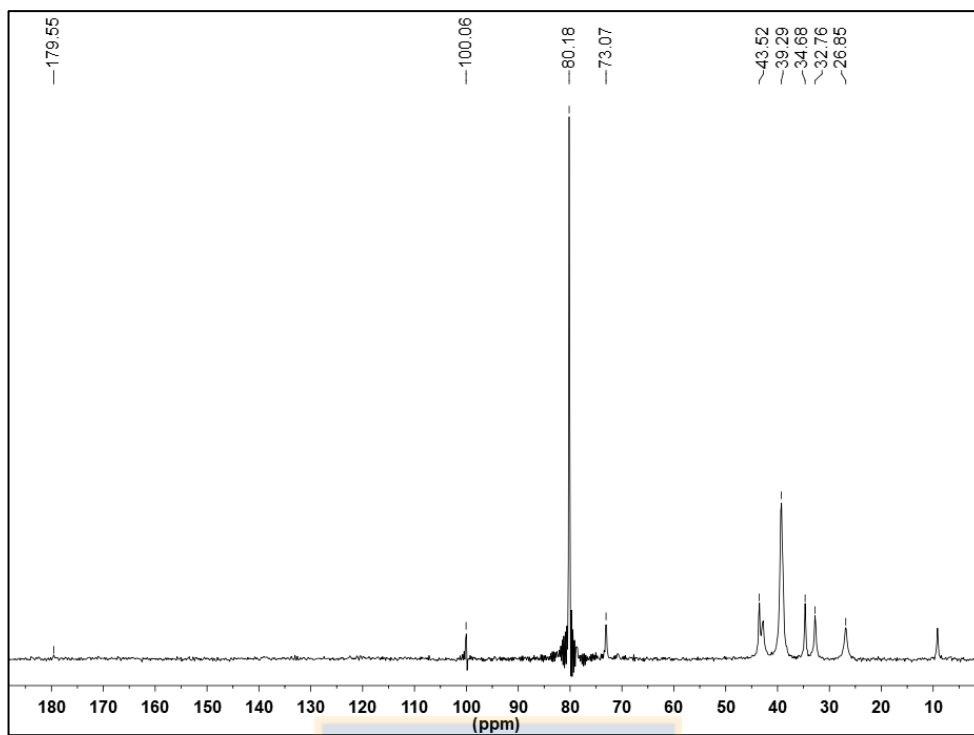
Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEE6000.

C. Poliésteres fluorescentes

1. Espectros de resonancia magnética nuclear para la serie PEEF



Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEEF400.



Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono mediante CP-MAS para PEEF1500.

