

TEMPERATURA DE TRANSICIÓN DE FASE DE PARTÍCULAS DE POLI(N-ISOPROPILACRILAMIDA-co-N-ISOPROPILMETACRILAMIDA). T_{VPT} DE PARTÍCULAS DE POLI(NIPA-co-NIPMA)

Andrés Ortega García¹, Bryan Giovanni Martínez¹, Eduardo Mendizábal^{2*}, Lourdes Pérez Carrillo¹, Jorge E. Puig^{1*}

1) Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
Correo electrónico: puig_jorge@hotmail.com.

2) Departamento de Química, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.

Recibido: Enero de 2021; Aceptado: Febrero de 2021

RESUMEN

La síntesis de copolímeros de N-isopropilacrilamida (NIPA) y N-isopropilmetacrilamida (NIPMA) mediante polimerización en emulsión para producir micropartículas de poli(NIPA-co-NIPMA) con una temperatura de transición de volumen (T_{VPT}) de 38, 39 y 40°C se reporta en el presente trabajo. La composición de monómeros utilizada en la receta para preparar los copolímeros con las T_{VPT} deseadas fue estimada con la ecuación de Fox. Las temperaturas de transición de volumen se determinaron mediante dispersión cuasielástica de luz con barridos de temperatura de 25 a 44°C, confirmando que las T_{VPT} para estos copolímeros corresponden a los valores deseados. Los tamaños de partícula y su distribución fue corroborada mediante microscopía electrónica de transmisión.

Palabras clave: Temperatura de transición vítrea, copolímero, emulsión.

ABSTRACT

The synthesis of N-isopropylacrylamide (NIPA) and N-isopropylmetacrylamide (NIPMA) copolymers by emulsion polymerization for the production of poly(NIPA-co-NIPMA) microparticles with a volume transition temperature ($TVPT$) of 38, 39, and 40°C is reported in the present work. The monomer composition used in the recipe to prepare the copolymers with the desired $TVPT$ was estimated with the Fox equation. The volume transition temperatures were determined by quasi-elastic light scattering with temperature sweeps from 25 to 44°C, confirming that the $TVPT$ for these copolymers corresponds to the desired values. The particle sizes and their distribution were corroborated by transmission electron microscopy.

Key words. Volume transition temperature, Copolymer, emulsion.

INTRODUCCIÓN

Los hidrogeles poliméricos que pueden presentar transiciones de fase de volumen debido a estímulos externos están siendo ampliamente investigados debido a que se encuentran un gran número de aplicaciones tales como liberación de fármacos [1-3], actuadores para válvulas químicas [4], sistemas ópticos [5], bases para la formación de tejidos [6], músculos artificiales [7], interruptores “on/off” para reacciones químicas [8], matrices para bioseparación [9], ingeniería de tejidos [10], entre otros. Los polímeros sensibles a estímulos externos, se conocen también como “polímeros inteligentes” [11]. Las transiciones de fase de los hidrogeles poliméricos pueden ser

inducidas por estímulos físicos (temperatura, presión, luz, campos magnéticos o eléctricos) o químicos (pH, fuerza iónica, disolvente, concentración de iones) [11,12]. El polímero termosensible más comúnmente usado en aplicaciones biomédicas es la poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPA). Los hidrogeles de PNIPA presentan una transición de fase de volumen (T_{VPT}) de un estado hinchado a uno contraído con el aumento de la temperatura [13-15]. Esta transición de fase tiene lugar a los 32°C [16,17] debido a que por arriba de la T_{VPT} , los enlaces de hidrógeno entre los grupos amidas del NIPA y las moléculas de agua se debilitan o desaparecen y se promueven las interacciones hidrófobas [14].

Para algunas aplicaciones de liberación controlada de drogas es necesario tener hidrogeles con T_{VPT} entre 38 y 41°C, el cual es el intervalo de temperatura del cuerpo humano en respuesta a algunas enfermedades. Los hidrogeles a base de PNIPA son excelentes candidatos para ser utilizados como dispositivos de liberación controlada de drogas debido a su biocompatibilidad [1], sin embargo, es necesario aumentar su temperatura de transición de fase. Una forma de aumentar la temperatura de transición de los hidrogeles es copolimerizar la NIPA con un monómero de un ácido orgánico [15] o sus sales [13,14]. Otra forma es copolimerizar la NIPA con un monómero cuyo polímero tenga una T_{VPT} mayor que la de NIPA [18]. La poli(N-isopropilmetacrilamida) (PNIPMA) presenta una T_{VPT} de aproximadamente 46°C [18,19] por lo que el monómero NIPMA es un buen candidato para copolimerizarlo con la NIPA. La estructura del NIPMA es similar a la de la NIPA pero la presencia de grupos metilo a lo largo de la cadena principal afecta las interacciones hidrofóbicas y, por lo tanto, es necesaria una temperatura más alta para el colapsamiento de la PNIPMA [18].

En este trabajo, se reporta la obtención mediante polimerización en emulsión de hidrogeles de copolímeros de N-isopropilacrilamida-co-N-isopropilmetacrilamida con temperaturas de transición de fase, T_{VPT} , de 38, 39 y 40°C. Para obtener los copolímeros con las temperaturas de transición de fase necesarias se usó la ecuación de Fox para estimar las composiciones requeridas.

EXPERIMENTAL

Materiales y reactivos. Los monómeros utilizados fueron la N-isopropilacrilamida (NIPA) con una pureza del 99% de *Acros OrganicS* y la N-isopropilmetacrilamida (NIPMA) de *Aldrich* con una pureza de 97%. Como entrecruzante se utilizó la N,N'-metilenbisacrilamida (NMBA) con una pureza del 99% de *Sigma-Aldrich*, como tensioactivo el Brij® 58 de *Sigma*, como iniciador se utilizó el persulfato de potasio (KPS) grado ACS de *Fermont*, y gas nitrógeno de *Infra de Occidente* para eliminar el oxígeno presente en el medio de reacción. El agua utilizada fue bidestilada de *Productos Selectropura*.

Se utilizó una centrifuga *Allegra X-12* de *Beckman Coulter* para separar las partículas. La medición de tamaño de partícula se realizó en un dispersor de luz *Nano Zetasizer ZS90* de *Malvern Instruments*. Para la caracterización cualitativa se utilizó un espectrómetro FTIR *Nicolet iS5* de la marca *Thermo Scientific*.

Para observar la forma y tamaño de las partículas se empleó un microscopio electrónico de transmisión (TEM) de JEOL y celdas de Carbon Films on 200 Mesh Grids Copper.

Procedimiento experimental

Síntesis de copolímero Poli(N-isopropilacrilamida-co-N-isopropilmetacrilamida). Para determinar la relación molar de los monómeros que permitiera obtener T_{VPT} de 38, 39 y 40°C se utilizó la ecuación de *Fox* [20]

$$\frac{1}{T_{VPTc}} = \frac{x_1}{T_{VPT_1}} + \frac{x_2}{T_{VPT_2}} \quad (1)$$

donde x_i es la fracción molar de cada componente y T_{VPTc} es la temperatura de transición deseada del copolímero y T_{VPT_1} y T_{VPT_2} son las temperaturas de transición los homopolimeros 1 y 2. La Tabla 1 muestra los valores utilizados para el cálculo de la T_{VPT} deseada del copolímero.

Tabla 1. Datos para el cálculo de las fracciones molares de los monómeros a usar.

Monómero	T_{VPT} (K)	Masa Molar g/mol
1→NIPA	305,15	113,16
2→NIPMA	319,15	127,18

Las fracciones moles necesarias de los polímeros para obtener las T_{vsp} se pueden observar en la Tabla 2.

Tabla 2. Fracción mol requerida de copolímero para obtener una T_{vptc} dada.

T_{VPTc} (°C→K)	x_1	x_2
38 → 311,15	0,5604	0,4396
39 → 312,15	0,4888	0,5112
40 → 313,15	0,4176	0,5824

Copolímero con una $TVPT$ de 38°C. Para la síntesis del copolímero con una T_{VPT} de 38°C se utilizaron 1,594 g (0,0141 moles) de NIPA y 1,406 g (0,0111 moles) de NIPMA.

Copolímero con una TVPT de 39°C. Para la síntesis del copolímero con una T_{VPT} de 39°C se utilizaron 1,379 g (0,0122 moles) de NIPA y 1,621 g (0,0128 moles) de NIPMA.

Copolímero con una TVPT de 40°C. Para la síntesis del copolímero con una T_{VPT} de 40°C se utilizaron 1.169 g (0,0103 moles) de NIPA y 1,831 g (0,0144 moles) de NIPMA.

Las polimerizaciones se llevaron a cabo en un reactor de vidrio de tres bocas con capacidad de 250 mL de la marca *Pyrex*. La Tabla 3 muestra las cantidades de cada componente que se utilizaron para obtener los copolímeros con las temperaturas deseadas.

Tabla 3. Formulación del sistema de reacción.

<i>Componente</i>	<i>Peso g</i>
Brij® 58	0,033
<i>Monómeros</i> (NIPA y NIPMA)	3,000
NMBA	0,120
KPS	0,092
Agua	121,755
<i>Total</i>	<i>125,000</i>

Los monómeros (NIPA, NIPMA y NMBA) se agregaron al reactor que contenía 49,8 mL de agua. La mezcla se mantiene bajo agitación por 90 minutos a temperatura ambiente para asegurar la completa disolución de los monómeros. A un vaso de precipitado marca *Pyrex* de 100 ml conteniendo 49,8 g de agua se le agrega el tensioactivo (*Brij*® 58), dejándose en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente para asegurarse que la disolución del tensioactivo sea completa. El reactor se sumerge en un baño de agua a 70°C, manteniendo esta temperatura con un termostato de la marca *LAUDA*. Se inicia el burbujeo de gas nitrógeno para eliminar el oxígeno presente en el sistema de reacción. Para asegurarse que se elimina el oxígeno de la solución se mantiene el burbujeo del nitrógeno por 30 minutos. Para iniciar la reacción de polimerización se agregó el KPS disuelto en 2 g de agua al reactor y se mantuvo en las mismas condiciones de temperatura, agitación y burbujeo de gas nitrógeno durante 3 horas.

Purificación de copolímeros. Al finalizar la reacción el látex obtenido se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se colocó en bolsas para diálisis ($M_n = 12.000$ Da), las cuales se sumergieron en agua bidestilada a temperatura ambiente durante un periodo de 72 horas bajo condiciones “*sink*” para retirar el KPS y el monómero que no haya reaccionado. El agua bidestilada

se reemplazó cada 24 h hasta que estaba totalmente transparente, lo cual ocurría después de 48 h y se dejó otras 24 h para asegurar que los compuestos que no reaccionaron se hayan eliminado.

Posteriormente se agregó a una cierta cantidad del látex obtenido ya dializado, una mezcla de agua/etanol en una relación en volumen de 50/50 bajo agitación por 15 min, con el propósito de disolver el Brij® 58 y separarlo del copolímero. La dispersión de partículas se centrifugó por 30 min a 9.000 rpm, para después separar la capa sobrenadante del látex. Este látex se volvió a dispersar en una mezcla de agua/etanol (50/50), se colocó en agitación por 15 min y posteriormente se centrifugó otra vez por 30 min a 9.000 rpm. A continuación se separó el látex de la capa sobrenadante, la cual contenía el Brij® 58. Se repitió una vez más el mezclado del látex en agua/etanol y centrifugado bajo las mismas condiciones.

Análisis de termo-respuesta. La termo-respuesta es el cambio en el diámetro de partícula en función de la temperatura. Para estas pruebas se tomaron muestras de los látex de poli(NIPA-co-NIPMA) ya dializados y purificados y se diluyeron con agua. Se colocó una muestra del látex en una celda óptica y se midió el diámetro de partícula utilizando un difusor de luz QLS (*Quasielastic light scattering*).

El análisis de la termo-respuesta del tamaño de las partículas se inició a una temperatura de 25°C. Antes de tomar las lecturas a cada temperatura se esperaron 15 minutos para permitir que se llegara al equilibrio. Las determinaciones se realizaron en un intervalo de temperaturas de 25 a 44 [25, 30, 33, 36, 38, 39, 40, 42, y 44°C]. Se realizaron 5 mediciones a cada temperatura.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de las partículas. Al inicio la mezcla de reacción era transparente pero a medida que la reacción progresaba se volvía ligeramente turbia y al final se obtuvo un látex conteniendo partículas muy pequeñas.

La Figura 1 muestra el espectro de FTIR del P(NIPA-co-NIPMA). En esta figura se observan: la banda amplia característica del grupo amino alrededor de 3.400 y los picos a 1.360 y 1.380 cm^{-1} debidos al grupo isopropilo y la banda a 1.527 cm^{-1} correspondiente a la flexión del grupo amida de la PNIPMA y de la PNIPA, el pico debido a la vibración de estiramiento a 1.633 cm^{-1} característico de la amida (estiramiento de C = O), la absorción a 1.450 cm^{-1} debida a la flexión del grupo metilo y las bandas a 2.933 y 2.971 cm^{-1} correspondientes al estiramiento de los grupos CH₃- y -CH₂- respectivamente [21]. En la Figura 1 también se observa que las bandas relacionadas con el modo de estiramiento de los dobles enlaces de los monómeros no están presentes (1.667–640 cm^{-1}), ni tampoco las bandas de flexión de fuera del plano del C–H del alqueno (500 a 1.000 cm^{-1}) [21], lo que indica que no hay monómero sin reaccionar.

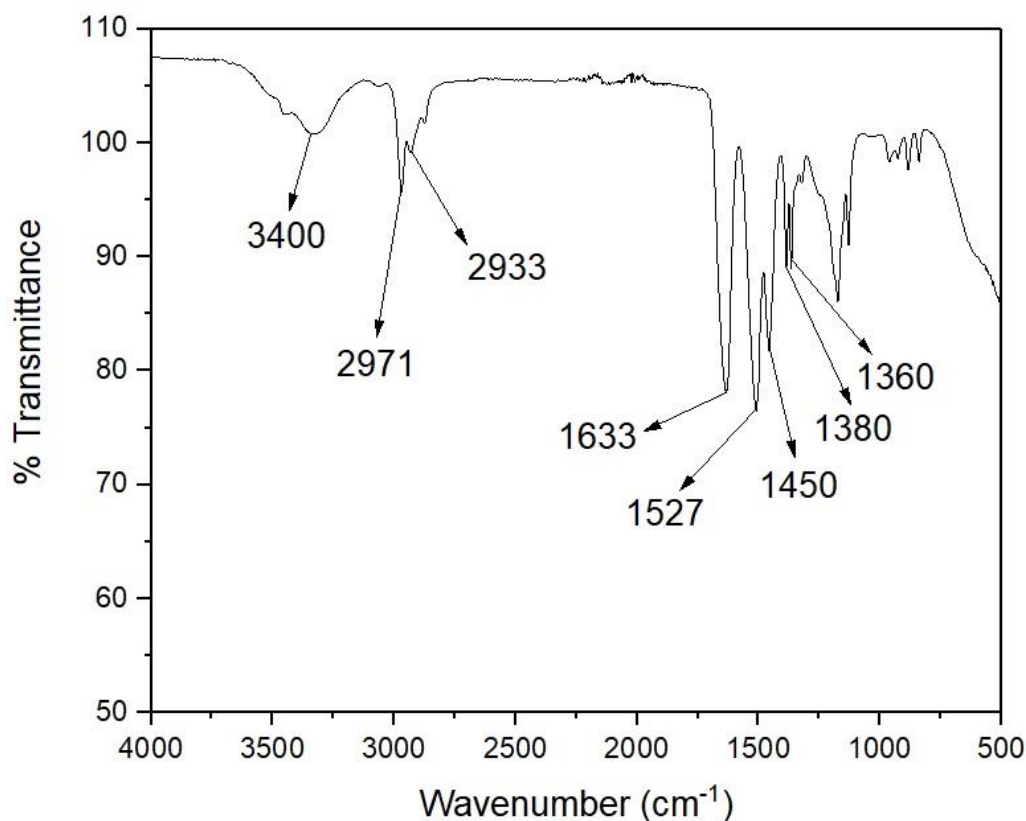


Figura 1. Espectro infrarrojo del Poli(NIPA-co-NIPMA).

Termo-respuesta del copolímero. La Figura 2 muestra cómo varía el diámetro promedio de las partículas medido por QLS en función de la temperatura para cada copolímero. Como es evidente en la figura a medida que se incrementa la temperatura rápidamente disminuye el diámetro de las partículas debido a que el polímero se hace más hidrofóbico y expulsa agua. Esta disminución en el diámetro de la partícula con la temperatura se detiene para cuando se tienen temperaturas mayores a la T_{VPT} del copolímero. En esta figura también se puede observar que al aumentar la cantidad de NIPMA el hinchamiento de las partículas es menor, lo que se explica porque la NIPMA es un monómero menos soluble en agua que la NIPA. En esta misma figura se puede observar que cuando se tiene la mayor proporción de NIPMA, el cambio de volumen es mucho mayor que el que muestran las otras dos composiciones.

En la Figura 2 se puede apreciar que las composiciones estimadas con la ecuación de Fox dieron como resultado T_{VPT} s muy cercanas a las deseadas. Esta buena concordancia de los valores estimados con la ecuación de Fox y los obtenidos experimentalmente se explica porque se ha reportado que la ecuación de Fox debe aplicarse solamente para componentes con estructura y/o parámetro de solubilidad similares (densidad de energía cohesiva), es decir, a las mezclas de componentes con una interacción intermolecular muy débil o nula, que es el caso de la PNIPA y PNIPMA que son moléculas muy semejantes.

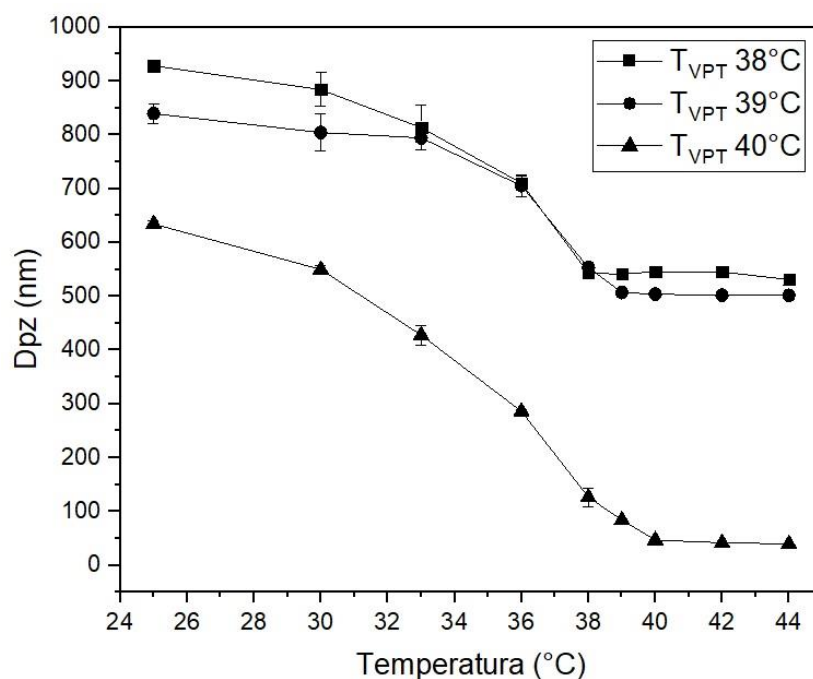


Figura 2. Termorespuesta del copolímero con T_{VPT} de 38, 39 y 40°C .

Microscopia. La morfología y el tamaño de las partículas se determinó a 25°C mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM). La Figura 3 muestra una micrografía del copolímero con T_{VPT} de 40°C . En ella se puede apreciar que las partículas son esféricas con un tamaño promedio de 550 nm. Las partículas con T_{VPT} de 39 y 38°C , también fueron esféricas con tamaño promedio de 840 y 930 nm, respectivamente.

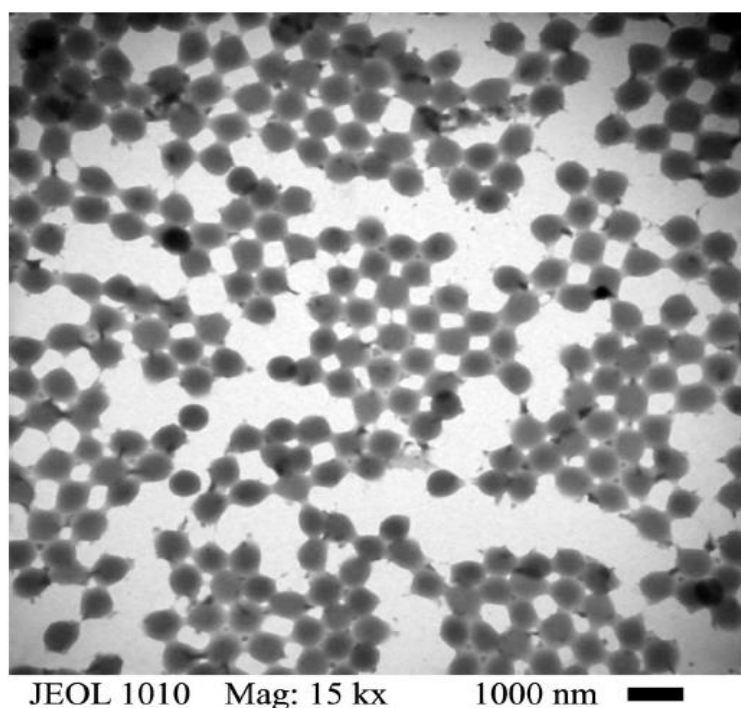


Figura 3. Micrografía del látex de poli(NIPAA-co-NIPMA) con T_{VPT} de 40°C .

CONCLUSIONES.

Se obtuvieron hidrogeles de poli (NIPAA–NIPMA) mediante polimerización en emulsión con temperaturas de transición de fase entre 38 y 40°C, es el intervalo de temperatura del cuerpo humano en respuesta a algunas enfermedades. Por este motivo estos hidrogeles son buenos prospectos para ser utilizados como agentes transportadores de fármacos para tratar enfermedades.

Al incrementar la relación de NIPMA/NIPAA se obtuvieron partículas más pequeñas y con una temperatura de transición de fase mayor.

Agradecimientos. Se agradece al CONACYT por la beca de maestría de uno de los autores (A.O.G) y la beca de ayudante de investigación a otro de los autores (B.G.M)

REFERENCIAS

- [1] Brannon L, Peppas N, *Med Plast Biomater Magazine*, Nov **1**–17 (1997)
- [2] Bajpai K, Shukla SK, Bhanu S, Kankane S, *Prog. Polym. Sci.*, **33**(11),1088 (2008)
- [3] Bawa P, Pillay V, Choonara YE, du Toit CL, *Biomed. Mater.*, **4**(2),22001 (2009)
- [4] Beebe DJ, *Nature*, **404**, 588 (2000)
- [5] Dong L, Agarwal AK, Beebe DJ Jiang H, *Nature*, **442**, 551 (2006)
- [6] Seliktart D, *Science*, 336, 1124 (2012)
- [7] Sidorenko A, Krupenkin T, Taylor A, Fratzl P, Aizenberg J., *Science*, 315:487 (2007)
- [8] Kumacheva E., *Nat. Mater.*, **11**, 665 (2012)
- [9] Nagase K, Kobayashi J, Okano T, *Soc. Interface*, **6**, S293 (2009)
- [10] Chatterjee Sudipta, Chi–Leung Hui Patrick, Chi–Wai Kan, *Polymers*, **10**, 480 (2018)
- [11] Ferreira LMB, Ferreira VMO, Cardoso FI, Boni ALR, Souza MPD, Gremião *Europ. Polym. J.*, **99**, 117, (2018)
- [12] Aguilar C, Elvira A, Gallardo B, Vázquez JS, Román N, Ashammakhi R, Reis E, Chiellini, *E-book Topics in Tissue Engineering*, **3**, (2007)
- [13] Hirotsu, S.; Hirokawa, Y.; Tanaka, T. *J Chem Phys*, **87**, 1392, (1987).
- [14] Erbil, C.; Aras, S.; Uyanir, N. *J. Polym. Sc. Part A: Polym Chem*, **17**, 1847 (1999)
- [15] Cortés E, Mendizábal E, Katime I, *J. Appl. Polym. Sci.* **8**, 1792 (2008)
- [16] Huang CH, Wang CF, Dong TM, Chiu WY, *Cellulose*, **20**,1791, (2013)
- [17] Alvarado AG, Ortega A, Pérez–Carrillo LA, Ceja I, Arellano M, López RG, Puig JE, *J. Nanomater.*, **1**–7 (2017)
- [18] Fundueanu G, Constantin M, Bucatariu S, Ascenzi P, *Macromol. Chem. Phys.*, **217**(22), 2525 (2016)
- [19] Salmerón Sanchez M, Hanyková L, Ilavský M, Monleón Pradas M, *Polymer* **45**:4087 (2004)
- [20] Fox TG, *Bull. Am. Phys. Soc.*, **1**, 123 (1956)
- [21] Silverstein RM, Francis X, Kiemle, DJ, Bryce DL “*Spectrometric identification of organic compounds*”, John Wiley & Sons, New York, 2012