

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATÓLICA DEL PERÚ**

Escuela de Posgrado



Elaboración de macromonómeros de 2-oxazolinas,
funcionalizados con grupos amonio cuaternarios, y su
posterior polimerización

Tesis para obtener el grado académico de Maestro en Ingeniería y
Ciencia de los Materiales que presenta:

Aurelio Estanislao Contreras Córdova

Asesor:

Juan Carlos Rueda Sánchez


Lima, 2025

Informe de Similitud

Yo, Juan Carlos Rueda Sánchez, docente de la Escuela de Posgrado de la Pontificia Universidad Católica del Perú, asesor de la tesis titulada **“Elaboración de macromonómeros de 2-oxazolinas, funcionalizados con grupos amonio cuaternarios, y su posterior polimerización”**, del autor Aurelio Estanislao Contreras Córdova, código PUCP: 20194227, alumno de la Maestría en Ingeniería y Ciencia de los Materiales, dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 20%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el 09/04/2025.
- He revisado con detalle dicho reporte y la Tesis o Trabajo de Suficiencia Profesional, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las pautas académicas.

Lima, 09 de abril de 2025.

Rueda Sánchez, Juan Carlos	
DNI: 08948955	Firma
ORCID: 0000-0001-8567-321X	

RESUMEN

La presente tesis trata de la síntesis de dos macromonómeros de 2-oxazolina, MKA-1 y MKA-2, funcionalizados con grupos amonio cuaternarios y la posterior polimerización de estos prepolímeros para la obtención de hidrogeles y copolímeros injertados. Los macromonómeros de 2-oxazolina se sintetizaron mediante una polimerización catiónica por apertura de anillo de la 2-etil-2-oxazolina usando como iniciador el 4-clorometilestireno, como catalizador el yoduro de sodio y como agente terminador la N,N-dimetildodecilamina. De esta manera se incorporó en la estructura del macromonómero el grupo amonio cuaternario. Los hidrogeles se sintetizaron mediante la polimerización por radicales libres del macromonómero de 2-oxazolina y el hidroxietilmetacrilato usando a la etilenbisacrilamida como agente entrecruzador. La polimerización fue iniciada por el persulfato de amonio y la N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina. También se sintetizaron copolímeros injertados, vía polimerización por radicales libres, a partir de los macromonómeros de 2-oxazolina y el hidroxietilmetacrilato, utilizando como iniciador el 2,2'-azoisobutironitrilo. Los macromonómeros, fueron caracterizados por espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) e infrarroja (FTIR). Mediante espectroscopia ¹H-RMN se determinó que los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 tuvieron grados de polimerización de 21 y 9, valores que estuvieron en excelente concordancia con los valores teóricos. El grado de funcionalización de MKA-1 y MKA-2 con grupos amonio cuaternarios fue de 98 y 99%, respectivamente. Mediante espectrometría infrarroja (FTIR) se caracterizaron cualitativamente los hidrogeles y copolímeros injertados demostrándose la presencia en su estructura de los meros del macromonómero y del hidroxietilmetacrilato.

Para evaluar la actividad antibacteriana del macromonómero MKA-2 y los hidrogeles se aplicó la norma "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing" (ATCC 6538P) una cepa de prueba estándar para desinfectantes. Se determinó la capacidad biocida de los hidrogeles frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*. Algunos de los hidrogeles elaborados mostraron excelente actividad biocida contra esta bacteria.

La presente tesis se realizó como parte del proyecto de investigación PUCP-DFI-PI-1000: "Elaboración de un material polimérico con propiedad antibacteriana", con el auspicio económico de la PUCP.

AGRADECIMIENTOS

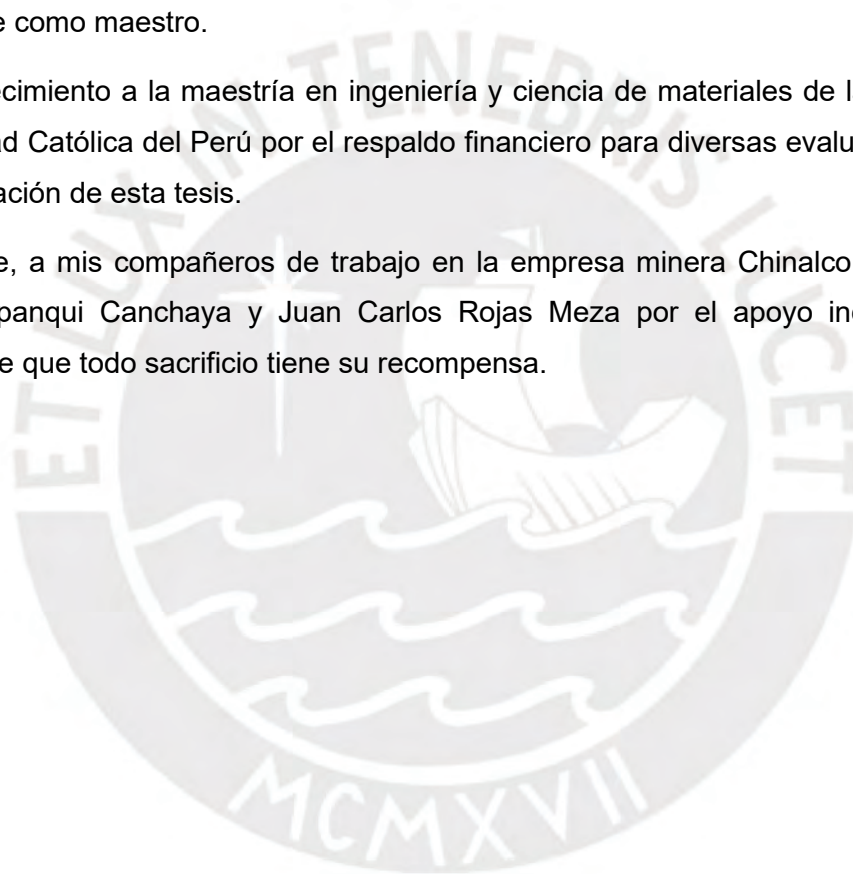
Expreso mi más profunda gratitud por el amor incondicional y la constante provisión de Dios. Esta tesis no hubiera sido posible sin su gracia y apoyo. Agradezco su guía divina y su presencia en todas las etapas de este trabajo.

A mi querida esposa July Rosabel Romero Velásquez y mi pequeño hijo Josías Raúl Contreras Romero, que confiaron en mí y me dieron la oportunidad de continuar estudiando una maestría en la Pontificia Universidad Católica del Perú.

A mi asesor profesor el Dr. Juan Carlos Rueda Sánchez, quien con su conocimiento y experiencia me brindó la oportunidad de cerrar este ciclo de mi formación profesional y graduarme como maestro.

En agradecimiento a la maestría en ingeniería y ciencia de materiales de la Pontificia Universidad Católica del Perú por el respaldo financiero para diversas evaluaciones de caracterización de esta tesis.

Finalmente, a mis compañeros de trabajo en la empresa minera Chinalco ingenieros Arturo Yupanqui Canchaya y Juan Carlos Rojas Meza por el apoyo incondicional diciéndome que todo sacrificio tiene su recompensa.



INDICE DE ABREVIATURAS

AIBN: Azoisobutironitrilo AIBN.

APS: Persulfato de amonio.

ATCC 6538P: Método estándar de prueba cuantitativo que se utiliza para determinar la efectividad antibacteriana de un material.

BIS: Metilenobisacrilamida.

CMI: Concentración mínima inhibidora.

CMS: Clorometilestireno.

DMDA: N, N-dimetil-dodecilamina.

DMSO: Dimetilsulfóxido.

Etoxa: 2-etil-2-oxazolina.

FDA: Administración de alimentos y medicamentos de Estados Unidos.

FTIR: Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier.

GPC: Cromatografía de permeación gel.

HEMA: Hidroxietilmetacrilato.

IUPAC: Unión internacional de química pura y aplicada.

LCST: Temperatura crítica de solución más baja.

MeOxa: 2-Metil-2-oxazolina.

MMA: Monómero metacrilato de metilo.

MKA: Macromonómero sintetizado, el cual contiene un grupo vinilo y un grupo amonio cuaternario.

Nal: Ioduro de sodio.

NiPPAm: N-isopropilacrilamida.

PCAA: Polimerización catiónica por apertura de anillo.

PEG: Polietilenglicol.

PEI: Polietilenoimina

PEtoxa: Poli(2-etil-2-oxazolina).

PMeoxa: Poli 2-metil-2-oxazolina.

POx: Poli (2-oxazolina).

RMN: Espectrometría de Resonancia magnética nuclear.

TEMED: Tetrametiletilendiamina.



ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.1.** Tipos de isómeros de oxazolinas dependiendo de la ubicación del doble enlace (R: Sustituyente)
- Figura 1.2.** Método de Witte-Seeliger para síntesis de 2 oxazolinas
- Figura 1.3.** Obtención de 2-oxazolinas mediante la reacción de ácido carboxílico y una amina
- Figura 1.4.** Obtención de 2-oxazolinas mediante la reacción de hidroxiamidas
- Figura 1.5.** Obtención de poli (2-oxazolinas) mediante polimerización catiónica por apertura de anillo conteniendo un iniciador (circulo negro) y un terminador (rectángulo amarillo)
- Figura 1.6.** Iniciación de la polimerización de la 2-oxazolina mediante ataque nucleofílico del monómero al iniciador (por ejemplo: X= anión triflato y circulo negro= grupo metilo)
- Figura 1.7.** Mecanismo iónico para la polimerización de las 2-oxazolinas R'X (iniciador), CROP (polimerización catiónica por apertura de anillo), PROX (poli 2-oxazolina)
- Figura 1.8.** Mecanismo covalente y parcialmente iónico para la polimerización de las 2-oxazolinas
- Figura 1.9.** Polimerización de las 2-oxazolinas: etapa propagación con mecanismo iónico y covalente
- Figura 1.10.** Mecanismo de terminación de PCAA donde un agente terminador (rectángulo azul) que ataca la posición 5 de la cadena propagante con el agente iniciador (círculo rojo)
- Figura 1.11.** Representación esquemática síntesis de macromonómeros de polietiloxazolina iniciado con metacrilato etil 2-(p-nitrobenceno sulfonato)
- Figura 1.12.** Representación esquemática síntesis de macromonómeros de polietiloxazolina terminada con ácido acrílico
- Figura 1.13.** Diferentes estrategias de síntesis que conducen a redes químicas entrecruzadas derivadas de polietiloxazolinas. 1) Monómeros bifuncionales multivalentes, 2) Método de macromonómeros entrecruzador, 3) Funcionalización de grupos laterales/terminales
- Figura 1.14.** Acción bacteriana de una poli(2-oxazolina) que contiene grupos terminales alquilo y amonio cuaternario
- Figura 1.15.** Formación de radicales iniciantes por el sistema persulfato de amonio y TEMED
- Figura 2.1.** Sistema de destilación del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa)

- Figura 2.2.** Sistema de destilación del clorometil estireno
- Figura 2.3.** Molde de vidrio para la elaboración de hidrogeles
- Figura 2.4.** Síntesis hidrogel HGA4
- Figura 2.5.** Distribución de condiciones en microplaca
- Figura 2.6.** Enfrentamiento de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6, HGA7, control positivo (Eritromicina) y control negativo (HGA1) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, luego de 24 horas de incubación
- Figura 3.1.** Espectro ^1H -RMN de macromonómero MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C
- Figura 3.2.** Espectro ^1H -RMN de macromonómero MKA-2 en cloroformo deuterado a 25°C
- Figura 3.3.** Espectro ^1H -RMN de macromonómero MKA-1 en agua deuterada a 25°C
- Figura 3.4.** Espectro ^1H -RMN de macromonómero MKA-2 en mezcla 1:1 en agua y dimetilsulfóxido a 25°C
- Figura 3.5.** Espectro ^1H -RMN de macromonómero MKA-2 en dimetilsulfóxido a 25°C
- Figura 3.6.** Espectro FTIR del macromonómero MKA-1
- Figura 3.7.** Espectro FTIR del macromonómero MKA-2
- Figura 3.8.** Espectro FTIR de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2
- Figura 3.9.** Espectro FTIR de hidrogel HGA1 hidroxietilmetacrilato (HEMA)
- Figura 3.10.** Espectro FTIR de hidrogel HGA4 que contiene el macromonómero MKA-2 y el HEMA
- Figura 3.11.** Espectro ^1H -RMN del hidrogel HGA9 en cloroformo deuterado a 25°C
- Figura 3.12.** Espectro ^1H -RMN de copolímero injertados GA1 en cloroformo deuterado a 25°C
- Figura 3.13.** Espectro ^1H -RMN de copolímero injertado GA2 en dimetilsulfóxido a 25°C
- Figura 3.14.** Espectro FTIR de copolímero injertado GA1
- Figura 3.15.** Espectro FTIR de copolímero injertado GA2
- Figura 3.16.** Espectro FTIR de copolímero injertado GA3
- Figura 3.17.** Espectro FTIR de copolímero injertado GA4
- Figura 3.18.** Espectros FTIR de copolímeros injertados GA1, GA2, GA3 y GA4
- Figura 3.19.** Acción antibacteriana del macromonómero MKA-2 frente a *Staphylococcus aureus* durante 24 horas y en diferentes concentraciones
- Figura 3.20.** **A)**(parte superior de la figura, lado izquierdo) enfrentamiento de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6 y HGA7 frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, luego de 24 horas de incubación, **B)**(parte superior de la figura lado derecho) controles positivos (antibiótico Eritromicina) e hidrogel blanco (HGA1) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, luego de 24 horas de incubación, **C)**(parte inferior de la figura lado

izquierdo) cultivo luego del retiro de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6 y HGA7. y **D)** Cultivo luego del retiro de los hidrogeles HGA1

Figura 3.21. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x

Figura 3.22. Imagen de la superficie del hidrogel HGA4 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x

Figura 3.23. Imagen de la superficie del hidrogel HGA5 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x

Figura 3.24. Imagen de la superficie del hidrogel HGA6 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x

Figura 3.25. Imagen de la superficie del hidrogel HGA7 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x

Figura 5.1. Espectro ^1H -RMN del 2-etil-2-oxazolona (Etoxa) en cloroformo deuterado a 25°C

Figura 5.2. Espectro ^{13}C -RMN del 2-etil-2-oxazolona en cloroformo deuterado a 25°C

Figura 5.3. Espectro ^1H -RMN del 4-clorometilostireno (CMS) en cloroformo deuterado a 25°C

Figura 5.4. Espectro ^1H -RMN del N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA) en cloroformo deuterado a 25°C

Figura 5.5. Espectro ^{13}C -RMN del N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA) en cloroformo deuterado a 25°C

Figura 5.6. Espectro ^{13}C -RMN de macromonómero MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C

Figura 5.7. Espectro ^1H -RMN de macromonómero MKA-1 en dimetilsulfóxido a 25°C

Figura 5.8. Espectro FTIR de N,N-dimetil-dodecilamina

Figura 5.9. Espectro FTIR de PHEMA

Figura 5.10. Espectro FTIR de hidrogel HGA5 con macromonómero MKA-1

Figura 5.11. Espectro FTIR de hidrogel HGA6 con macromonómero MKA-1

Figura 5.12. Espectro FTIR de hidrogel HGA7 con macromonómero MKA-2

Figura 5.13. Espectro FTIR de hidrogel HGA8 con MKA-2

Figura 5.14. Espectro FTIR de hidrogel HGA9 con MKA-1

Figura 5.15. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA1/HGA4

Figura 5.16. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA1/HGA6

Figura 5.17. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA1/HGA7

Figura 5.18. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA6/HGA7

Figura 5.19. Espectro FTIR de los hidrogeles PHEMA/HGA8/HGA9

Figura 5.20. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 1000x

Figura 5.21. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x

Figura 5.22. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 4000x

Figura 5.23. Imagen de la superficie del hidrogel HGA4 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 1000x

Figura 5.24. Imagen de la superficie del hidrogel HGA5 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x

Figura 5.25. Imagen de la superficie del hidrogel HGA6 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x

Figura 5.26. Imagen de la superficie del hidrogel HGA6 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 4000x

Figura 5.27. Imagen de la superficie del hidrogel HGA7 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x

Figura 5.28. Imagen de la superficie del hidrogel HGA7 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 4000x

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1.1.** Monómeros y contraiones en PCCA de 2-oxazolinas
- Tabla 2.1.** Contenido de los diferentes controles para el ensayo de MIC
- Tabla 3.1.** Síntesis de los macromonómeros de 2-oxazolinas. Condiciones de reacción y resultados
- Tabla 3.2.** Síntesis de hidrogeles. Condiciones de reacción y resultados
- Tabla 3.3.** Síntesis de copolímeros injertados. Condiciones de reacción y resultados
- Tabla 3.4.** Actividad antibacteriana hidrogeles HGA
- Tabla 5.1.** Propiedades físicas y químicas de insumos químicos usadas en la tesis
- Tabla 5.2.** Síntesis de los macromonómeros resultados y condiciones de reacción



ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1.1: Estructura molecular de la 2-oxazolinas y la poli(oxazolinas) obtenida de la misma

Esquema 3.1: Síntesis de los macromonómeros de 2-etil-2-oxazolina, usando como iniciador al 4-clorometrilestireno y como terminador a la N, N-dimetil-dodecilamina

Esquema 3.2: Mecanismo de síntesis de macromonómeros 2-etil-2-oxazolina

Esquema 3.3: Síntesis de los hidrogeles a partir de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 de 2-oxazolina y el hidroxietilmetacrilato (HEMA)

Esquema 3.4: Mecanismo de polimerización en la formación de los hidrogeles

Esquema 3.5: Síntesis de los copolímeros injertados de hidroxietilmetacrilato y macromonómero 2-etil-oxazolina

Esquema 3.6: Mecanismo de reacción en la síntesis de copolímeros injertados



INDICE GENERAL

RESUMEN.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	xii
INDICE GENERAL.....	xiii
CAPITULO I.....	15
MARCO TEÓRICO.....	15
1.1. Las oxazolinas.....	15
1.2. Síntesis de 2-oxazolinas.....	16
1.2.1. Síntesis de 2-oxazolinas mediante el método Witte-Seeliger.....	16
1.2.2. Usando catalizadores de Lewis.....	16
1.2.3. Ciclación de hidroxiamidas.....	17
1.3. Polimerización de 2-oxazolinas.....	18
1.3.1 Iniciación.....	19
1.3.1.1. Mecanismo de polimerización iónico de las 2-oxazolinas.....	20
1.3.1.2. Mecanismo de polimerización covalente de las 2-oxazolinas.....	21
1.4. Propiedades de 2-oxazolinas.....	24
1.4.1. Propiedades térmicas.....	24
1.4.2. Propiedades sensibles al pH.....	25
1.5. Macromonómeros de poli 2-oxazolinas.....	25
1.5.1. Macromonómeros.....	25
1.5.2. Síntesis de macromonómeros de poli 2-oxazolinas.....	26
1.5.2.1. Método del iniciador.....	26
1.5.2.2. Método del terminador.....	28
1.6. Hidrogeles.....	29
1.7. Síntesis de hidrogeles.....	31
1.7.1. Polimerización en solución.....	31
1.8. Polioxazolinas con propiedades antimicrobianas.....	31
1.9. Poli(Hidroxietilmetacrilato) (HEMA).....	33
1.10. Persulfato de amonio (APS) y tetrametilendiamina (TEMED).....	33
CAPITULO II.....	35
PARTE EXPERIMENTAL.....	35

2.1. Equipos.....	35
2.2. Materiales.....	36
2.3. Destilación y purificación de 2-etil-2-oxazolina.....	37
2.4. Purificación de clorometilestireno.....	38
2.5. Síntesis de los macromonómeros de 2-etil-2-oxazolina funcionalizados con amonio.....	39
2.6. Síntesis de hidrogeles.....	41
2.7. Prueba de absorción de agua.....	43
2.8. Síntesis de copolímeros injertados.....	43
2.9. Análisis de actividad antibacteriana de macromonómero e hidrogeles mediante la norma ATCC 6538.....	44
2.10 Análisis de actividad antibacteriana de hidrogeles mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM).....	47
 CAPITULO III.....	 48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
3.1. Síntesis y caracterización de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2.....	48
3.2. Síntesis y caracterización de los hidrogeles.....	66
3.3. Síntesis y caracterización de los copolímeros injertados.....	80
3.4. Evaluación de la actividad antibacteriana de los polímeros elaborados.....	92
 CAPITULO IV.....	 101
CONCLUSIONES.....	101
 BIBLIOGRAFIA.....	 103
ANEXO I.....	107
ANEXO II.....	109
ANEXO III.....	137
ANEXO IV.....	143
ANEXO V.....	147
ANEXO VI.....	150

CAPITULO I MARCO TEÓRICO

1.1. Las oxazolininas

Las oxazolininas son compuestos heterocíclicos con anillos de 5 miembros no aromáticos que presentan un doble enlace en el anillo oxazolínico (Makino y Kobayashi, 2010). Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) a las oxazolininas se les denomina 4,5-dihidro-1,3-oxazol-2-ilos.

Existen tres isómeros estructurales de las oxazolininas: 2-oxazolinina, 3-oxazolinina, y 4-oxazolinina, como se muestra en la Figura 1.1 y de las cuales las más estudiadas son las 2-oxazolininas (Frump 1971, Bansal y Halve, 2014).

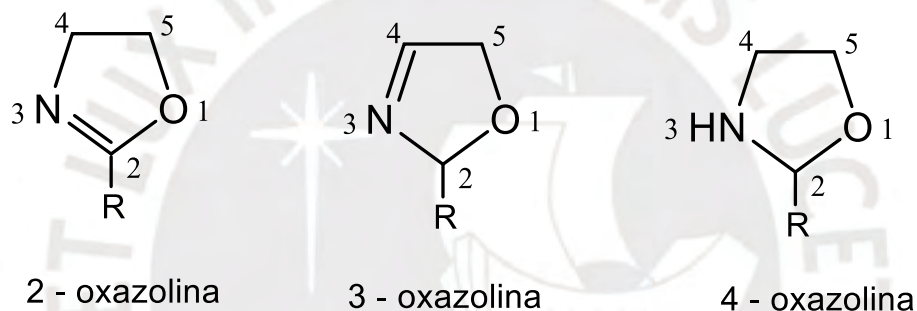
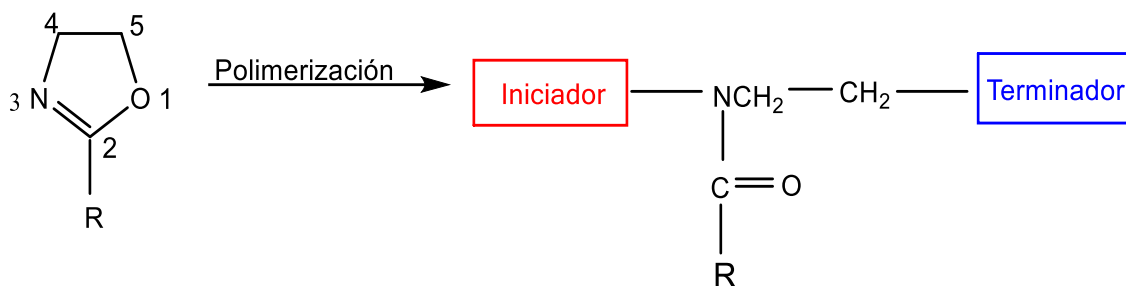


Figura 1.1. Tipos de isómeros de oxazolininas dependiendo de la ubicación del doble enlace (R: Sustituyente).

Gracias a su estructura cíclica las 2-oxazolininas pueden ser utilizadas como compuestos de partida para la sintetizar otros compuestos. Las 2-oxazolininas se utilizan para la síntesis de polímeros, por ejemplo, como comonómeros o macromonómeros con propiedades hidrofílicas o hidrofóbicas. El anillo de la 2-oxazolinina tiene dos lugares en las posiciones 4 y 5, que son grupos reactivos y el nitrógeno de la oxazolinina es básico y forma compuestos cuaternarios y sales cuando reacciona con ácidos (Frump, 1971).

Los monómeros de 2-oxazolinina pueden ser sometidos a una polimerización del tipo catiónica por apertura de anillo (Esquema 1.1) formando diferentes estructuras poliméricas. También los macromonómeros de 2-oxazolinina son utilizados en la síntesis de hidrogeles como liberadores de fármacos, aglutinantes, aditivo alimentario, floculante, etc. (Verbraeken et al., 2017).



Esquema 1.1: Estructura molecular de la 2-oxazolina y la poli(oxazolina) obtenida a partir de la misma (Verbraeken et al., 2017).

1.2. Síntesis de 2-oxazolinas

Existen varios métodos para sintetizar las 2-oxazolinas, entre otros:

- Síntesis de 2-oxazolinas a partir de nitrilos mediante el método Witte-Seeliger.
- Usando catalizadores de Lewis, a partir de ácidos carboxílicos.
- Ciclación de hidroxiamidas.

1.2.1. Síntesis de 2-oxazolina mediante el método Witte-Seeliger

Se genera a partir de nitrilos y aminoalcoholes con un catalizador de ácido Lewis moderado como el acetato de zinc o de cadmio di-hidratados ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) siendo de mayor uso por su baja toxicidad a comparación del acetato de cadmio y el cloruro de zinc. La reacción es necesario realizarla a altas temperaturas (120-140°C) y produce la 2-oxazolina y amoniaco (Figura 1.2) (Witte y Seeliger, 1974).

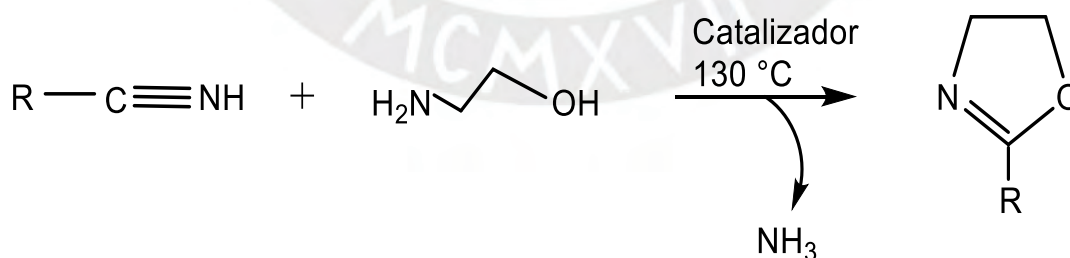


Figura 1.2. Método de Witte-Seeliger para síntesis de 2 oxazolinas (Witte y Seeliger, 1974).

1.2.2. Usando catalizadores de Lewis

Se realiza en dos etapas a temperaturas de 170 y 230 °C en un solo reactor a partir de

la reacción de un ácido carboxílico con una amina para formar una amida secundaria y el cierre del anillo que es catalizado con un ácido Lewis que contenga Fe o Ti (por ejemplo, tetracloruro de titanio (TiCl₄)) (Figura 1.3). Este método se utiliza muy poco a escala de laboratorio debido a las altas temperaturas de reacción (Verbraeken et al., 2017; Aoi y Okada, 1996).

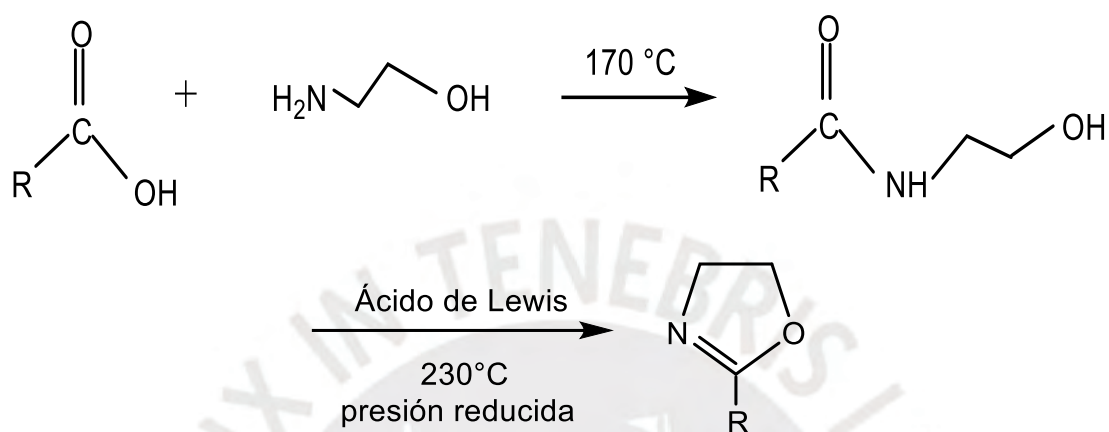


Figura 1.3. Obtención de 2-oxazolinas mediante la reacción de ácido carboxílico y una amina (Aoi y Okada, 1996).

1.2.3. Ciclación de hidroxiamidas

Es un método fácil y sencillo para la obtención de oxazolinas, se realiza en la fase gaseosa donde el componente hidroxiamida es deshidratado mediante un catalizador ácido (por ejemplo, el tricloruro de aluminio (AlCl₃)) que se encuentra en estado sólido (Figura 1.4). Uno de los agentes deshidratantes más utilizados es la trifenilfosfina (PP₂) en combinación con el dietilazodicarboxilato (EtO₂CNNCO₂Et) en una reacción a baja temperatura (Aoi y Okada, 1996).

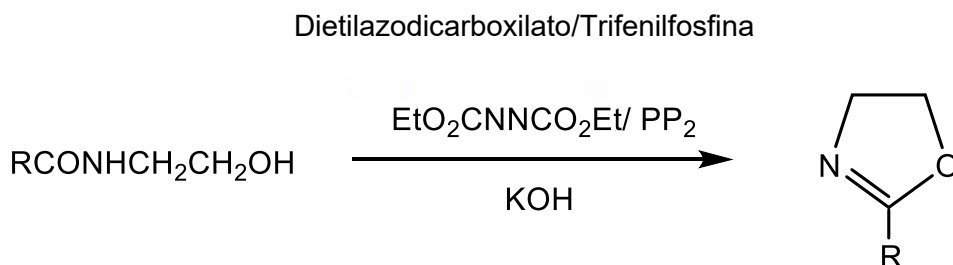


Figura 1.4. Obtención de 2-oxazolinas mediante la reacción de hidroxiamidas (Aoi y Okada, 1996).

1.3. Polimerización de 2-oxazolinas

La polimerización de la 2-oxazolinas ocurre mediante polimerización catiónica por apertura de anillo (PCAA), la cual fue desarrollada por primera vez entre los años 1966 a 1967 por los investigadores Tomalia y Sheetz (1966), Seeliger et al. (1966), Kagyia et al. (1966) y Bassiri et al. (1967). En la polimerización se produce una isomerización termodinámicamente favorable del grupo imino éter al grupo amida formando así poli (N-acetilanimidas) lineales (Figura 1.5). Las propiedades hidrosolubles y biocompatibles de la poli (2-metil-2-oxazolina) o poli (2-etil-2-oxazolina) las hacen esenciales para aplicaciones biomédicas.

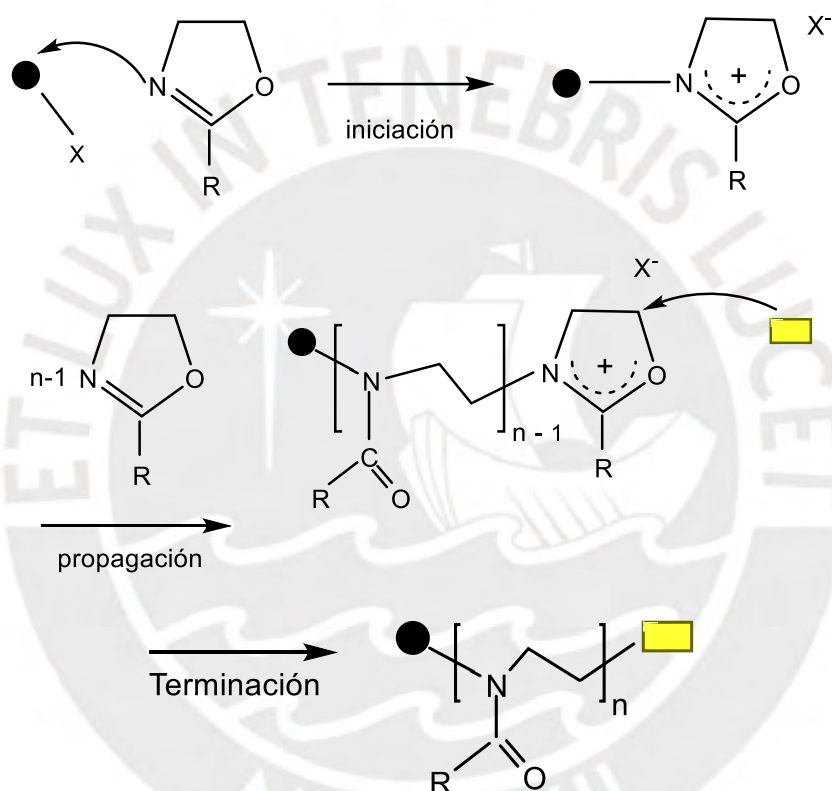


Figura 1.5. Obtención de poli (2-oxazolinas) mediante polimerización catiónica por apertura de anillo conteniendo un iniciador (círculo negro) y un terminador (rectángulo amarillo).

La PCAA se desarrolla de forma “viva” en condiciones adecuadas es decir cuando no existen ninguna terminación o transferencia de cadena. La pureza y sequedad de la 2-oxazolinas es muy primordial para la polimerización “viva” y de esta manera se puede obtener bajas polidispersión de los polímeros, entre ellos, por ejemplo, los macromonómeros (Kempe et al., 2009).

La polimerización de la 2-oxazolinas por PCAA ocurre en tres etapas que son iniciación, propagación y terminación.

1.3.1. Iniciación

Es la primera etapa de la polimerización de la 2-oxazolina por PCAA en la que se utiliza un iniciador electrofílico (por ejemplo, triflato de metilo), que es atacado por el imino éster cíclico, dando como resultado de la reacción la formación de un catión 2-oxazolínico. A condiciones normales de temperatura y presión la iniciación puede ser lenta y se genera una cinética de primer orden y por ende alta distribución de peso molecular, por lo que en la práctica se utilizan iniciadores electrofílicos altamente reactivos.

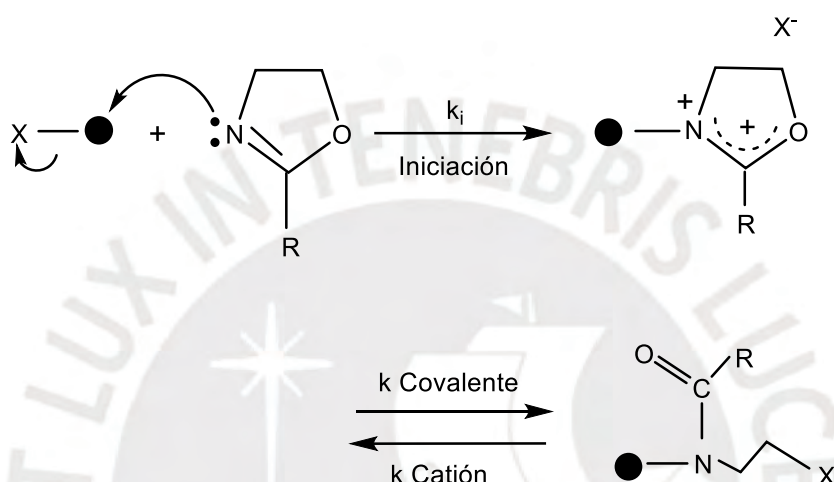
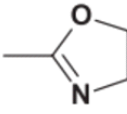
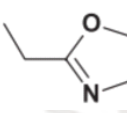
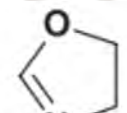
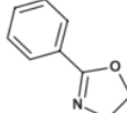
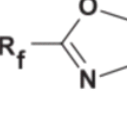


Figura 1.6. Iniciación de la polimerización de la 2-oxazolina mediante ataque nucleofílico del monómero al iniciador (por ejemplo: X^- = anión triflato y círculo negro = grupo metilo).

Teniendo en cuenta el balance de la nucleofilicidad entre el monómero y el contraión se formará una especie propagante de tipo iónico o covalente (Figura 1.6). Si el monómero es más nucleofílico que el contraión el mecanismo será iónico en caso contrario será covalente. Después de continuar con la adición de monómeros se forma la poli(2-oxazolinas) con un extremo activo propagante (catión oxazolínico). La PCAA es preferible que ocurra por el mecanismo iónico ya que es de mayor velocidad y produce polímeros con baja polidispersidad (Fijten et al., 2008). La polimerización PCAA se realiza en solventes apróticos polares siendo el de mayor uso el acetonitrilo (CH_3CN).

La mayor cantidad de iniciadores usados para de la 2-oxazolinas como se muestra en la Tabla 1.1 son los ácidos Lewis, ácidos próticos fuertes o ácidos de brønsted catiónicos fuertes.

Tabla 1.1 Monómeros y contraiones en PCCA de 2-oxazolinas (Fijten et al., 2008).

		← INCREMENTO DE LA BASICIDAD					
		Cl ⁻	Br ⁻	I ⁻	OTs ⁻	ONs ⁻	OTf ⁻
↑ INCREMENTO DE NUCLEOFILICIDAD		Covalente	Iónico	Iónico	Iónico	Iónico	Iónico
		Covalente	Covalente e Iónico	Covalente e Iónico	Iónico	Iónico	Iónico
		Covalente	Covalente	Covalente e Iónico	Iónico	Iónico	Iónico
		-	Covalente	Covalente e Iónico	Iónico	Iónico	Iónico
		-	-	Covalente	Covalente	-	Iónico

Según la Tabla 1.1, la nucleofilicidad de los monómeros aumenta de abajo hacia arriba y la basicidad de los contraiones aumenta de la derecha hacia la izquierda.

Donde. R_f: grupo perfluoroalquilo, Ts: grupo tosilato, Ns: grupo nosilato y Tf: grupo triflato.

1.3.1.1. Mecanismo de polimerización iónico de las 2-oxazolinas

Este tipo de polimerización se produce cuando el monómero tiene una mayor nucleofilicidad que el contraión, el cual no es capaz de poder abrir el anillo oxazolinico, sino que solamente estabiliza la carga de la especie propagante mediante la formación

de un par iónico como se observa en la Figura 1.7 (Verbraeken et al., 2017). En la polimerización iónica la especie propagante es una sal.

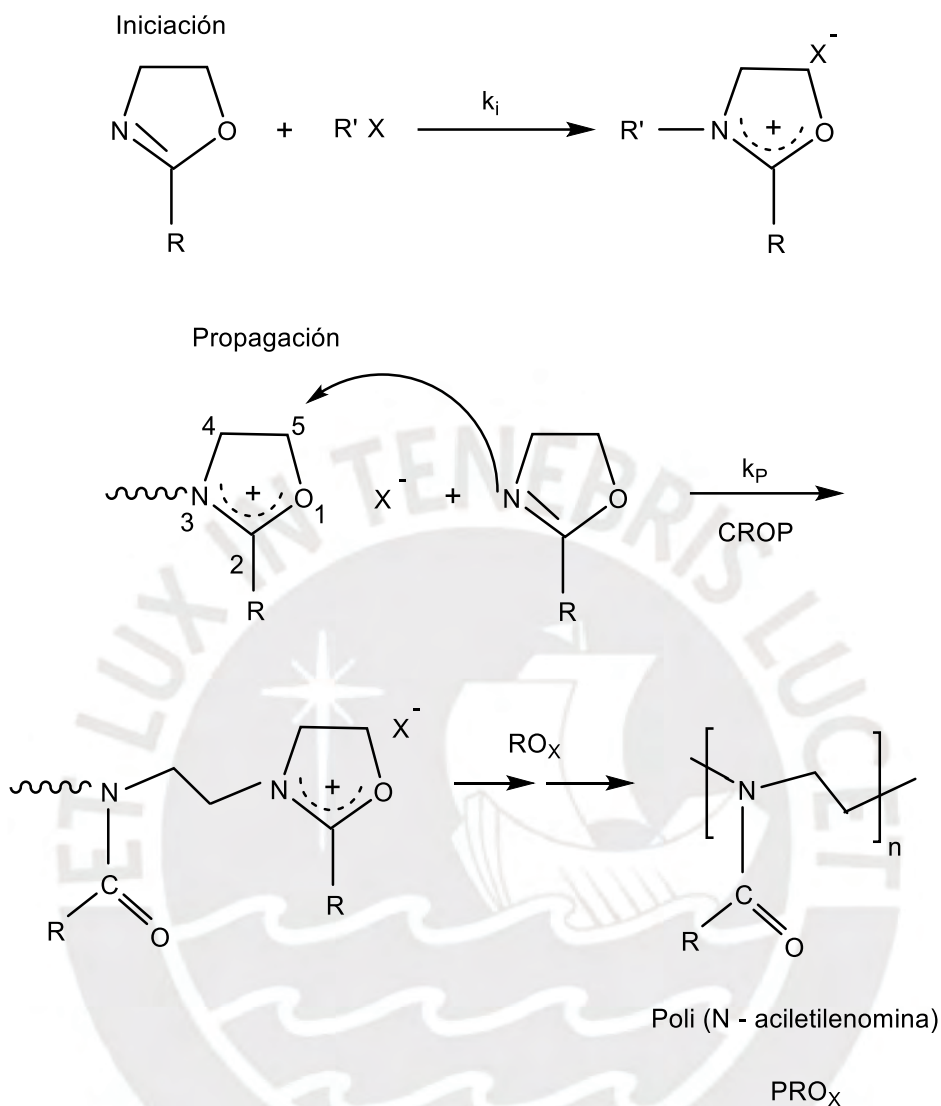


Figura 1.7. Mecanismo iónico para la polimerización de las 2-oxazolin.

R'X (iniciador), CROP (polimerización catiónica por apertura de anillo), PROX (poli (2-oxazolina)).

1.3.1.2. Mecanismo de polimerización covalente de las 2-oxazolin

En este caso el contraión X^{-1} generado por el iniciador RX es más nucleofílico que el monómero 2-oxazolina y entonces abre el anillo oxazolinico y la especie propagante es neutra (Figura 1.8).

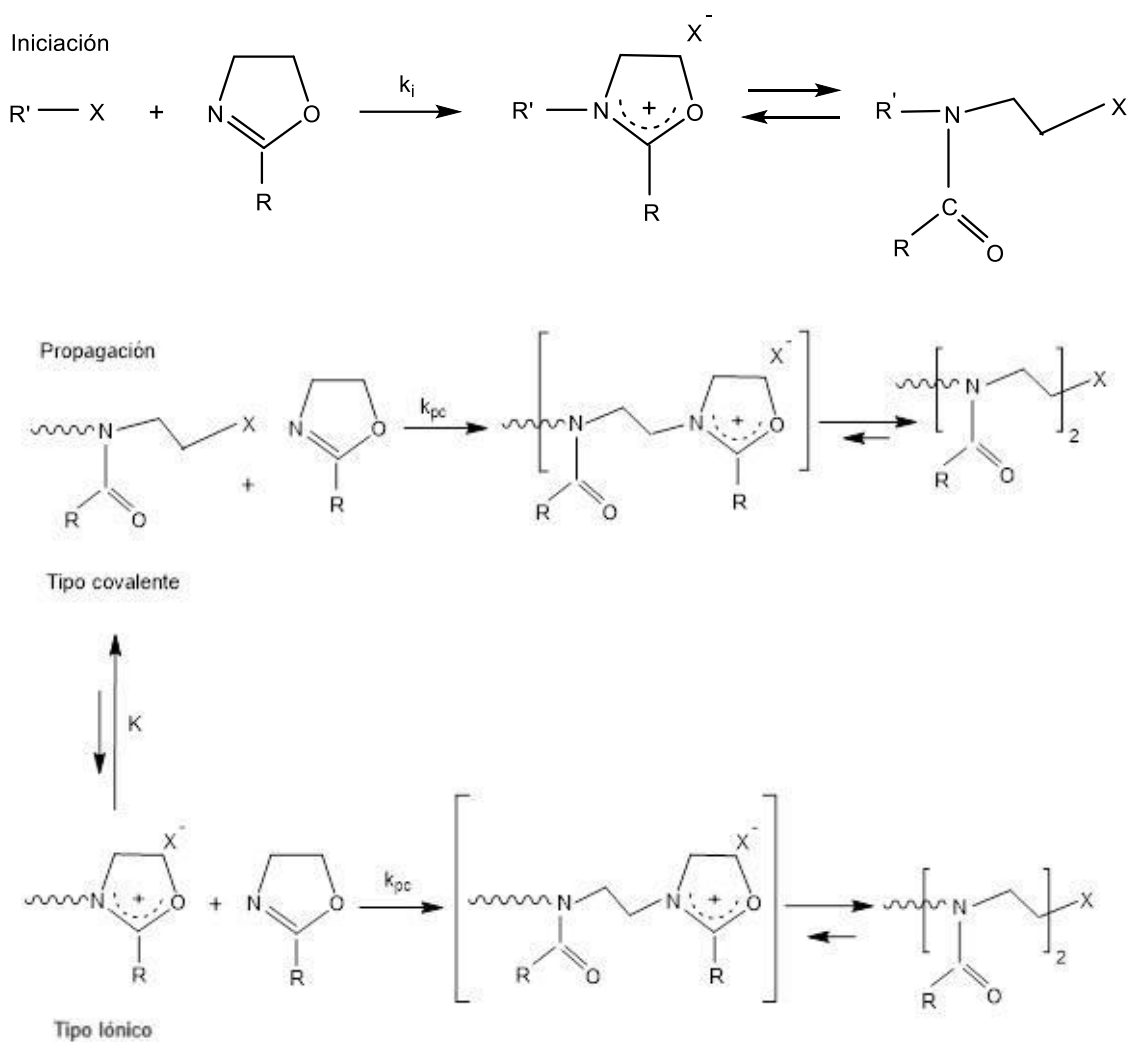


Figura 1.8. Mecanismo covalente y parcialmente iónico para la polimerización de las 2-oxazolinás

Iniciada la polimerización la etapa trascendental es la etapa de crecimiento de la cadena polimérica donde la constante de velocidad inicial K_i , se incrementa a K_{pc} debido a la interacción intramolecular ion dipolo del oxígeno del grupo amida con el nitrógeno del catión oxazolinico y así se mantiene estable la carga de la especie propagante. En esta etapa hay un equilibrio iónico-covalente, que está muy relacionado a la polaridad del solvente (Figura 1.9) (Verbraeken et al., 2017).

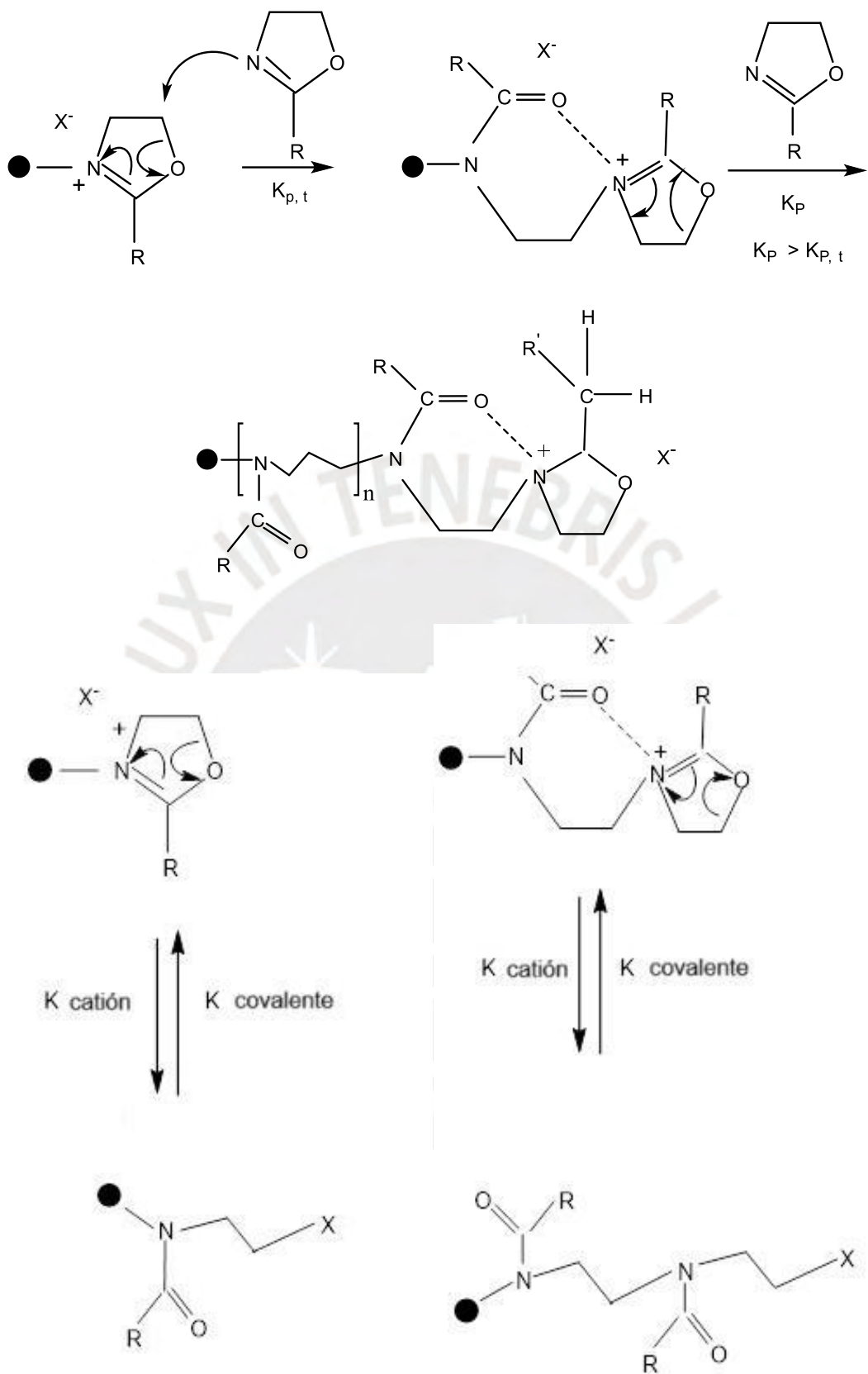


Figura 1.9. Polimerización de las 2-oxazolinas: etapa de propagación con mecanismo iónico y covalente.

En la PCAA la terminación ocurre mediante la adición de un nucleófilo (por ejemplos, piperidina e hidróxido de potasio KOH) que ataca principalmente la posición 5 del anillo oxazolinico lo que da como resultado la introducción final del terminador en la estructura del polímero (ver Figura 1.10).



Figura 1.10. Mecanismo de terminación de PCAA donde un agente terminador (rectángulo azul) ataca la posición 5 de la cadena propagante con el agente iniciador (círculo rojo).

El uso de terminadores tipo aminas terciarias da como resultado polímeros con finales de cadena funcionales con grupos amonio cuaternario, los cuales son muy investigados como agentes biocidas de bacterias (Waschinski et al., 2008a, 2008b).

1.4. Propiedades de 2-oxazolininas

La solubilidad de las polioxazolininas está estrechamente relacionada con el grupo sustituyente en la posición 2 del anillo oxazolinico, así, por ejemplo, si es metilo y etilo la polioxazolinina es de carácter hidrofílico. Mientras si los sustituyentes fueran propilo, butilo, grupos arilos o fluorados tendría un carácter hidrofóbico. Las poli(Metoxa) y poli(Etoxa) son polímeros solubles en agua y tienen buena biocompatibilidad y son candidatos para aplicaciones médicas (Verbraeken et al., 2017; Hoogenboom, 2009).

Las polioxazolininas tienen utilidad como emulsificantes ya que pueden poseer simultáneamente un carácter hidrofóbico e hidrofílico.

1.4.1. Propiedades térmicas

Las polioxazolininas tienen alta estabilidad térmica y se degrada a partir de 300°C y además por la presencia en su estructura principal de un grupo amida tiene alta rigidez. La temperatura de transición vítrea (T_g) con cadenas laterales cortas es alta por ejemplo en la polimetil y polietil es de 80°C y 60°C, respectivamente (Hoogenboom, 2009).

1.4.2. Propiedades sensibles al pH

La polioxazolina PAOx es sensible al cambio de pH en el solvente, cuando es capaz de donar o aceptar protones. Al reaccionar con la acidez o basicidad del solvente conduce a una expansión o colapso de la cadena del polímero, inducida por las repulsiones electrostáticas de las cargas generadas.

1.5. Macromonómeros de poli 2-oxazolinás

1.5.1. Macromonómeros

Un macromonómero es aquel prepolímero que contiene un grupo vinilo en uno de sus extremos de cadena y por esto puede formar posteriormente polimerizar y formar diferentes estructuras poliméricas finales tales como copolímeros en bloque, e injertados y también polímeros tridimensionales o hidrogeles (Kempe et al., 2009). Si el macromonómero contiene grupos funcionales en ambos extremos de la cadena polimérica se le llama telequérico o bis-macromonómero.

Los macromonómeros de poli 2-oxazolina (POx) fueron sintetizados hace más de cinco décadas mediante polimerización catiónica por apertura de anillo (PCAA) a partir del monómero de 2-oxazolina. En la actualidad las polioxazolinás son muy utilizadas, en comparación a su antecesor polietilenglicol (PEG), debido a su facilidad de síntesis y diversidad química.

Los macromonómeros de poli 2-oxazolinás (POx) tienen como característica que son biocompatibles y además que sus propiedades fisicoquímicas son ajustables debido a que la polimerización es de carácter "vivo" en la que no hay reacciones de transferencia de cadena ni de terminación, por lo cual podemos controlar la longitud de cadena, el tamaño del macromonómero (peso molecular) y su baja dispersión polimérica. Se puede controlar en forma precisa la funcionalidad del polímero con el uso adecuado de iniciadores y terminadores. Con los cuales se le proporciona al macromonómero funcionalidades que uno desea para aplicación biomédica y también como liberadores controlados de medicamentos (Verbraeken et al., 2017).

Dependiendo de la longitud de cadena principal el macromonómero de poli 2-oxazolina puede ser soluble en agua o con carácter hidrofílico y así también dependiendo del tamaño de las cadenas laterales puede tener un carácter hidrofóbico (Weber et al., 2012; Hoogenboom y Schlaad, 2017).

Los macromonómeros de polioxazolinas se sintetizan con la finalidad de generar estructuras complejas como copolímeros de injerto, copolímeros tipo estrella, dendrímeros, nanogeles e hidrogeles que son difíciles de conseguir por otros métodos de síntesis (Kempe et al., 2009).

1.5.2. Síntesis macromonómeros de poli 2-oxazolina

Los monómeros de mayor uso para síntesis de macromonómeros de poli 2-oxazolina son principalmente especies alifáticas cortas como son la 2-metil-2-oxazolina (Meoxa), la 2-etil-2-oxazolina (Etoxa), la 2-propil-2-oxazolina (nProxa), la 2-isopropil-2-oxazolina (iProxa) y la 2-ciclopropil-2-oxazolina (cProxa). Los macromonómeros obtenidos son solubles en agua y muestran una transición térmica en soluciones acuosas a excepción del poli 2-metil-2-oxazolina que es insoluble en agua.

Los macromonómeros se pueden sintetizar por los siguientes métodos:

1.5.2.1. Método del iniciador

El método consiste en la reacción de un iniciador, que contiene el grupo funcional vinilo, con el primer monómero de 2-oxazolina. De esta manera se introduce el grupo vinilo en la estructura del futuro macromonómero. Esta polimerización se caracteriza por su naturaleza "viva", en la cual se presentan solo las etapas de iniciación y propagación. La terminación de la polimerización para formar el macromonómero se puede realizar al final de la polimerización y de diferentes maneras. Se pueden introducir otras funcionales en el extremo de cadena ya que la polimerización es de carácter "vivo".

Es crucial que la velocidad de iniciación sea mayor que la de propagación. De lo contrario, la dispersión del peso molecular del macromonómero será amplia y se obtendrán macromonómeros de variados pesos moleculares, lo que afecta la uniformidad y propiedades del material final (Pizzi et al., 2019).

La temperatura juega un papel fundamental en la obtención del peso molecular o grado de polimerización deseado. Temperaturas relativamente altas pueden provocar polimerizaciones prematuras, un obstáculo significativo en la síntesis de macromonómeros. El tiempo de reacción también debe ser cuidadosamente controlado. Tiempos prolongados pueden favorecer polimerizaciones no deseadas, así como transferencias de cadena que perjudican el resultado final. Un tiempo de reacción ajustado es esencial para garantizar la calidad de los macromonómeros producidos. Por lo tanto, se recomienda una temperatura aproximada de 78°C, manteniendo el tiempo de reacción en alrededor de 8 horas (Schelestow, 2018).

El contraíón es fundamental para facilitar la reactividad lenta del anillo oxazolinico. Una reactividad controlada es esencial para asegurar que la propagación del polímero se realice de manera eficiente y predecible. Si el contraíón (por ejemplos, triflato, cloruro, ioduro) no se elige adecuadamente, pueden surgir reacciones secundarias indeseadas, como la transferencia de cadena, que pueden comprometer la calidad y las propiedades del polímero final (Verbraeken et al., 2017). Para optimizar el proceso de polimerización, es recomendable utilizar iniciadores que sean electrofílicos. Algunos de los iniciadores más efectivos incluyen el iodometilestireno, el tosilato y el triflato de metilo, así como el 1,4-trans-dibromobuteno. Estos compuestos no solo inician la polimerización de manera eficiente, sino que también ayudan a mantener la estabilidad del contraíón, lo que a su vez favorece una propagación controlada del polímero.

- **Ejemplo de polimerización por el método de iniciador**

Un ejemplo específico de síntesis es utilizando clorometilestireno como iniciador y 2-metil-2-oxazolina como monómero, en un entorno controlado. La síntesis se realizó a una temperatura de 75°C durante un periodo de 8 horas, utilizando acetonitrilo como disolvente. Estas condiciones son cruciales para garantizar la efectividad de la reacción y la formación de los macromonómeros deseados. La elección de acetonitrilo no es casual, ya que este solvente es conocido por su capacidad para disolver una amplia gama de compuestos, lo que facilita la interacción entre el iniciador y el monómero. El clorometilestireno actúa como un iniciador eficaz en la polimerización, proporcionando grupos reactivos que permiten la formación de cadenas poliméricas y también proporciona el necesario grupo vinilo al macromonómero. Por otro lado, el 2-metil-2-oxazolina es un monómero que aporta características únicas a los macromonómeros, como la capacidad de formar estructuras poliméricas polares que son esenciales para la creación de hidrogeles (Schelestow, 2018).

Ejemplo de reacción de síntesis de macromonómero de polietiloxazolina es el polímero iniciado con metacrilato etil 2- (p-nitrobencono sulfonato) siendo el contraíón $\text{OSO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2^-$ Ver Figura 1.11.

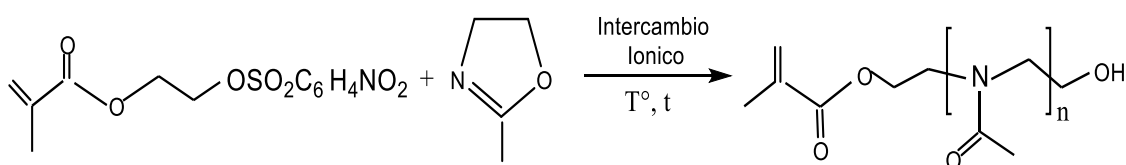


Figura 1.11. Representación esquemática síntesis de macromonómeros de polietiloxazolina iniciado con metacrilato etil 2-(p-nitrobencono sulfonato) (Pizzi et al., 2019).

1.5.2.2. Método del terminador

El método del terminador consiste en la reacción rápida e irreversible de un terminador fuertemente nucleofílico con el final de cadena propagante “viva” de la polioxazolina. Este proceso tiene como objetivo detener la propagación de la cadena polimérica y, al mismo tiempo, introducir un grupo funcional vinilo en el extremo final del macromonomero. Este método se distingue por su capacidad para ofrecer mejores rendimientos y una dispersidad superior en comparación con el método del iniciador.

Una de las principales ventajas del método del terminador es la flexibilidad en la elección de diferentes terminadores. Esta versatilidad permite utilizar una variedad de terminadores sin comprometer el carácter “vivo” de la cadena en crecimiento del macromonomero previamente sintetizado. Esto es crucial, ya que la funcionalidad del macromonomero se mantiene intacta, lo que abre la puerta a una amplia gama de aplicaciones (Jiménez, 2021).

El método del terminador se utiliza, desde la fabricación de materiales poliméricos avanzados (por ejemplos, polímeros sensibles al pH y a la temperatura) hasta la creación de productos químicos especializados (hidrogeles liberadores de fármacos) por ser biocompatibles. La capacidad de controlar la estructura y funcionalidad de los macromonomeros permite a los investigadores y fabricantes desarrollar productos con propiedades específicas que satisfacen las demandas del mercado.

- **Ejemplo de polimerización por el método de terminador**

Los terminadores más utilizados en la síntesis de macromonomeros son por ejemplo grupos que contienen ácidos carboxílicos. Su capacidad para reaccionar con grupos funcionales en las cadenas poliméricas permite la creación de estructuras más complejas y funcionales, como se ilustra en la Figura 1.12. Esta figura representa esquemáticamente la síntesis de macromonomeros de polietiloxazolina terminados con grupos ácido acrílico.

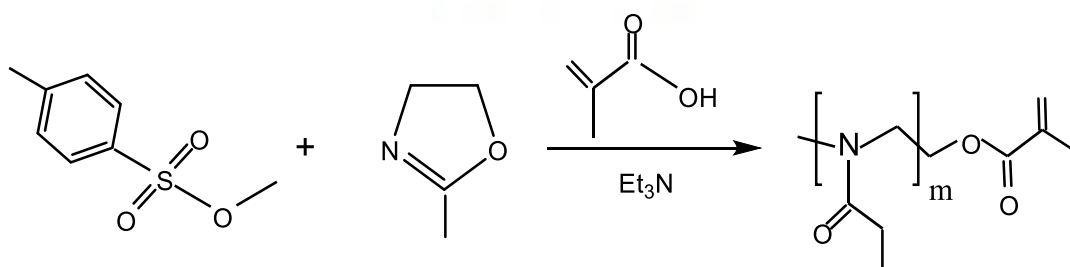


Figura 1.12. Representación esquemática de la síntesis de macromonomeros de polietiloxazolina terminada con ácido acrílico (Pizzi et al., 2019).

Jiménez et al. reportó la síntesis de macromonómeros utilizando el método del terminador empleando una amina secundaria obteniéndose así prepolímeros (macromonómeros) conteniendo un grupo vinilo en el extremo de cadena. En este proceso, se utilizaron como monómeros el 2-metil-2-oxazolona y 2-eter-2-oxazolona, y la reacción fue iniciada con triflato de metilo. La terminación de la polimerización fue realizada con la N-vinilbencil piperazina (Jiménez, 2021).

1.6. Hidrogeles

Los hidrogeles son materiales que pueden ser de origen natural o sintético. De origen natural, por ejemplo, los tejidos celulares se clasifican como hidrogeles.

El primer hidrogel polimérico sintético de polihidroetilmetacrilato, PoliHEMA, fue descubierto por Otto Wichterle y Drahoslav Lím en 1960, durante su investigación de un material con propiedades adecuadas para la fabricación de lentes de contacto. Este hidrogel debía ser suave, capaz de hincharse en agua, transparente a los metabolitos e inerte frente a los procesos biológicos (como las lágrimas y el sudor) (Wichterle y Lim, 1960).

Los hidrogeles son macromoléculas entrecruzadas que absorben agua, formadas por interacciones físicas o enlaces covalentes (Harlieb et al., 2015). Los hidrogeles contienen grupos polares tales como grupos OH, grupos COOH, aminas, etc., lo que les permite tener la capacidad de absorber agua. A partir de las 2-oxazolinas es posible obtener hidrogeles debido a que estos polímeros presentan carácter altamente polar. Los hidrogeles a base de 2-oxazolinas se obtienen de 3 maneras (Figura 1.13):

- Hidrogeles que se obtienen en un solo paso utilizando monómeros bifuncionales.
- Hidrogeles preparados a partir de macromonómeros funcionalizados, los cuales llevan grupos polimerizables.
- Hidrogeles, que se sintetizan a partir de 2-oxazolinas con diferentes grupos funcionales laterales y terminales.

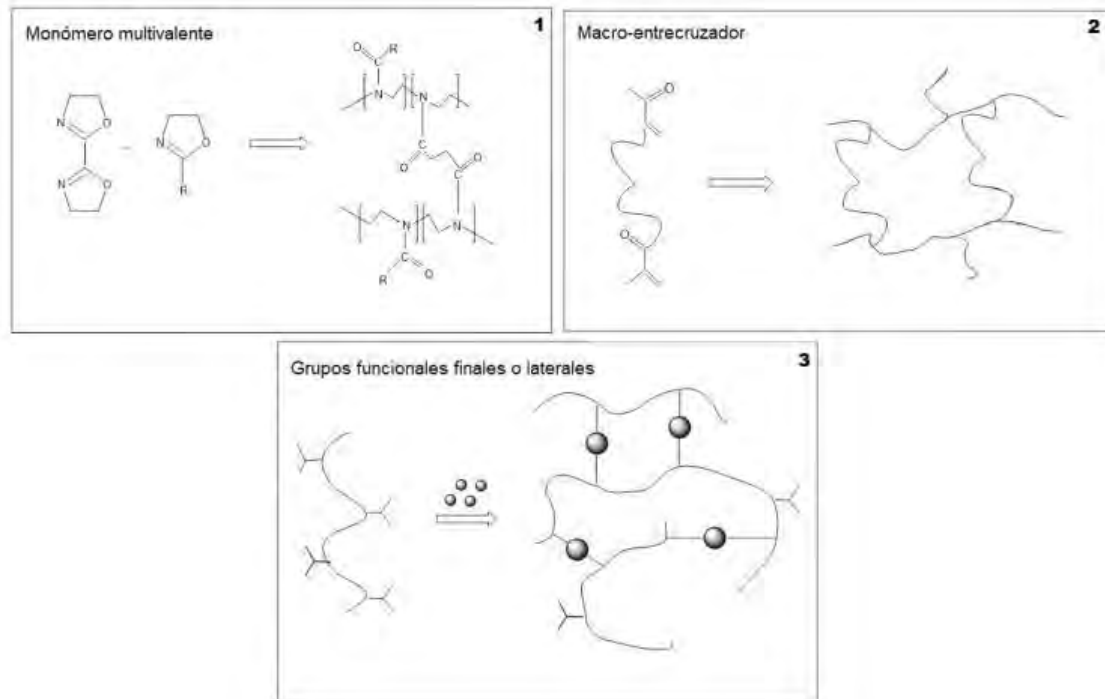


Figura 1.13. Diferentes estrategias de síntesis que conducen a redes químicas entrecruzadas derivadas de polioxazolininas. 1) Monómeros bisfuncionales multivalentes, 2) Método del macromonómero entrecruzador, 3) Funcionalización de grupos laterales/terminales (Harlieb et al., 2015).

En las aplicaciones de los hidrogeles, la capacidad de retener un alto contenido de agua se ha convertido en una herramienta fundamental y necesaria en el ámbito biomédico y biomedicinal (Dargaville et al., 2018). Los hidrogeles basados en poli (2-oxazolininas) son importantes para su uso en la administración de fármacos, ingeniería de tejidos, lentes de contacto, apósitos para heridas y superabsorbentes (Kelly y Wiesbrock, 2012).

Como, por ejemplo, en su investigación Rueda et al. utilizó iniciadores bisfuncionales como clorometilestireno (CMS) y monómeros el metacrilato de metilo (MMA) y oxazolininas alifáticas para la polimerización catiónica por apertura de anillo para formar así un hidrogel. Con esto se puede controlar la proporción del entrecruzamiento y formas estructuras rígidas hidrofóbicas (Rueda et al., 2003, 2014, 2018).

El método más comúnmente empleado para la síntesis de hidrogeles consiste en redes de polioxazolininas entrecruzadas mediante enlaces covalentes. Un ejemplo relevante es el estudio realizado por Rueda et al., en el cual se combinan macromonómeros de polioxazolininas con N-isopropilacrilamida (NiPPam), utilizando como iniciador el clorometilestireno (CMS) y como coiniador el yoduro de sodio (Ni). Este proceso da lugar a un hidrogel que presenta extremos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos (Rueda et al., 2014).

La elaboración de grupos funcionales terminables constituye un enfoque iniciador-terminador para la síntesis de polioxazolinas, lo que permite la obtención de hidrogeles. Sin embargo, este método presenta limitaciones conocidas, ya que requiere múltiples grupos polimerizables y el entrecruzamiento se torna muy complejo y difícil de controlar. Gracias a la polimerización catiónica por apertura de anillo (PCAA), es posible incorporar monómeros funcionales de 2-oxazolinas, permitiendo un control efectivo sobre el grado de polimerización y, por ende, limitando la funcionalidad del hidrogel.

Adicionalmente, se puede llevar a cabo la funcionalización mediante la hidrólisis total o parcial de las cadenas de polioxazolinas, lo que facilita su conversión en aminos secundarios. Este enfoque presenta numerosas ventajas, ya que no se requiere un grupo funcional final, lo que otorga versatilidad y permite una amplia variedad de nucleofílicos. Sin embargo, también presenta desventajas, como su baja selectividad y control en el proceso de hidrólisis, lo que puede resultar en la formación de copolímeros estadísticos con un grado de funcionalidad difícil de predecir (Harlieb et al., 2015).

1.7. Síntesis de hidrogeles

Para la obtención de hidrogel en tres dimensiones, es necesario contar con un iniciador, así como con monómeros y macromonómeros. El iniciador actúa como promotor de la polimerización por radicales libres, facilitando el crecimiento de la cadena al atacar al monómero. Además, se requiere un agente de entrecruzamiento, que puede ser un macromonómero o un monómero que contribuya a la formación de la red del hidrogel. Todo este proceso de síntesis se lleva a cabo en solución, mediante radiación o a través de la polimerización en suspensión.

1.7.1. Polimerización en solución

Método de síntesis ampliamente empleado en investigaciones, en el cual los monómeros neutros o iónicos se combinan con entrecruzadores multifuncionales. Una vez iniciada la polimerización mediante luz UV, calor o un sistema redox, se forma una cadena de mayor peso molecular, y los entrecruzadores se unen a esta a través de sus grupos funcionales. Todo este proceso se lleva a cabo en una solución que puede ser agua o alcohol (Malásquez, 2015).

1.8. Polioxazolinas con propiedad antimicrobiana

El crecimiento y propagación de microorganismos tales como hongos, bacterias,

levadura y algas) representa un problema grave para la salud humana, afectando no solo a las personas, sino también a las plantas y animales. Los controles actuales no son totalmente eficientes, lo que ha llevado al desarrollo de cepas bacterianas más resistentes e inmunes a los antibióticos convencionales (Lode, 2009). Los polímeros antibacteriales han demostrado ser efectivos en la lucha contra estos microorganismos, superando a los antibióticos clásicos de bajo peso molecular (Klein et al., 2007) porque no generan el efecto de la resistencia de las bacterias debido a que atacan a estos microorganismos destruyendo directamente la membrana celular en tanto que los antibióticos convencionales se introducen en el citoplasma de las bacterias. Hasta la fecha se conoce una gran afinidad de polímeros antibacteriales dándole mucho énfasis a los polímeros conteniendo grupos amonio cuaternario por su capacidad bactericida (Panarin et al., 1971).

Waschinski et al, (2005) sintetizaron polietiloxazolinas con extremos funcionalizados de amonio cuaternario la cual tiene una mayor actividad bactericida contra la bacteria *Staphylococcus aureus*. El acción antibacteriana se basa en las siguientes etapas: la adhesión a la pared celular, la cual se produce debido a la atracción electrostática entre la carga positiva del amonio cuaternario y la carga negativa de los ácidos teicoicos presentes en la bacteria; difundiendo el polímero a través de la pared celular; la posterior unión de las cadenas poliméricas a la membrana citoplasmática del microorganismo; la fuga de los elementos citoplasmáticos esenciales del microorganismo y, finalmente, la destrucción celular. Figura 1.14 (Waschinski et al., 2008a; Waschinski et al., 2005).

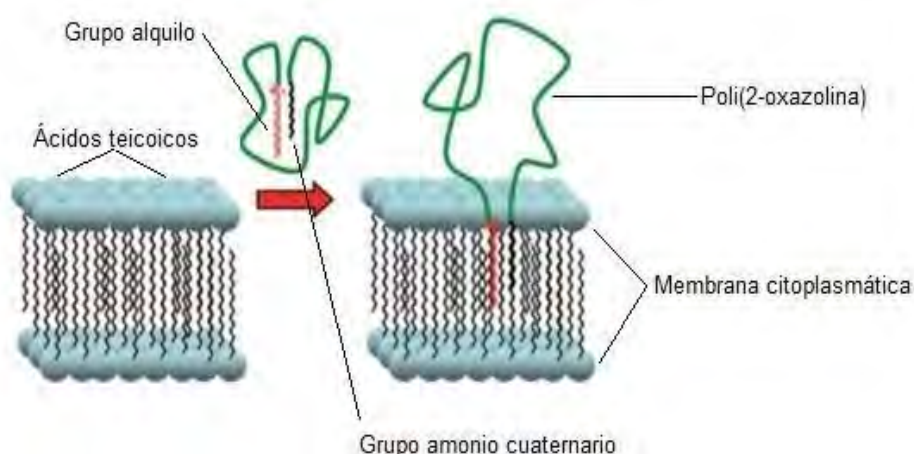


Figura 1.14. Acción antibacteriana de una poli(2-oxazolina) que contiene grupos terminales alquilo y amonio cuaternario (Waschinski et al., 2008a; Waschinski et al., 2005).

1.9. Poli(Hidroxietilmetacrilato) (HEMA)

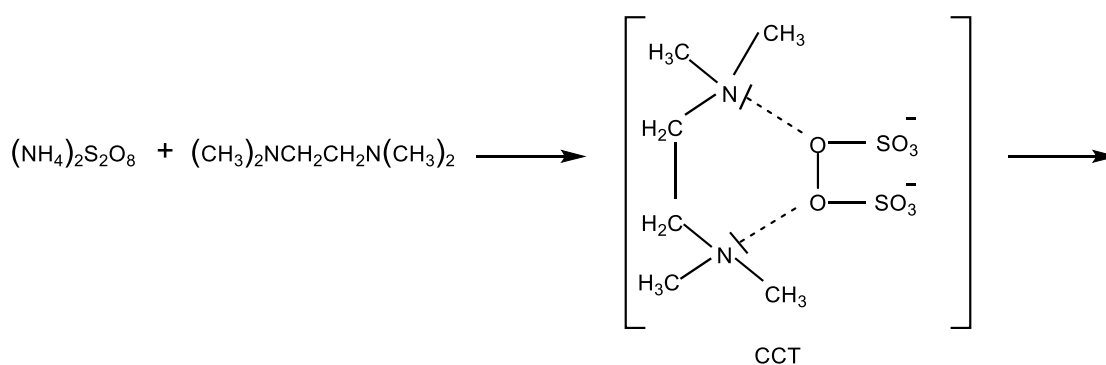
Es un polímero con características hidrofílica y adhesiva, muy utilizado como componente esencial en materiales adhesivos en la actualidad.

El poliHEMA es utilizado ampliamente en la fabricación de lentes de contacto y biomateriales. Debido a su afinidad con los tejidos biológicos, su compatibilidad bioquímica y su capacidad para administrar fármacos, se utilizan en la ingeniería de órganos biohíbridos artificiales (Tufani y Ince, 2015).

Una de las propiedades notables de los hidrogeles que contienen HEMA es que pueden hincharse absorbiendo del 40% al 60% de su peso seco en agua. El agua o solución absorbida en HEMA actúa como medio de transporte para liberar solutos (Tighe y Mann, 2016). La afinidad entre los hidrogeles HEMA y el agua es muy importante porque se ha demostrado que parte del agua contenida en el hidrogel forma enlaces de hidrógeno con este material y solo el agua restante se transporta a través del hidrogel (Wu y Brazel, 2008).

1.10. Persulfato de amonio (APS) y tetrametiletilendiamina (TEMED)

El persulfato de amonio (APS) y el catalizador tetrametiletilendiamina (TEMED) se utilizan como iniciadores para la síntesis de hidrogeles por polimerización de radicales libres. Es un sistema iniciante de tipo redox ampliamente utilizado en la polimerización de monómeros vinílicos. La reacción del persulfato de amonio (APS) y el TEMED produce radicales libres que son capaces de iniciar una polimerización de un monómero vinílico. Se postula la creación de un complejo de carga de contacto (CCT) y un estado de transición cíclica (CTS) como mecanismo de generación de los radicales libres por el sistema APS/TEMED (Figura 1.15) (Feng et al., 2006).



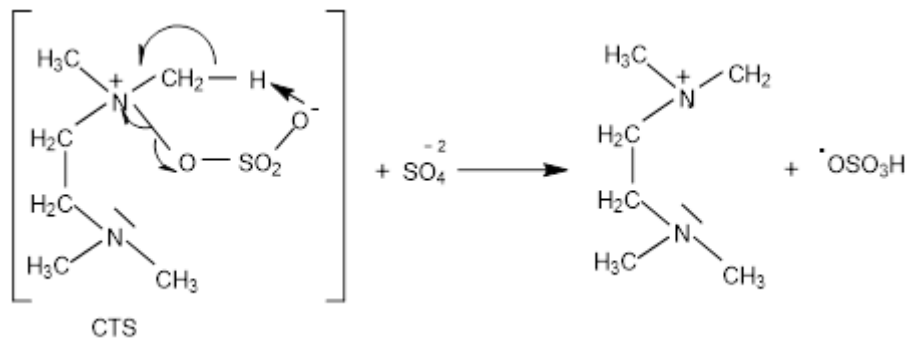


Figura 1.15. Formación de radicales iniciantes por el sistema persulfato de amonio y TEMED (Feng et al., 2006)

Por otro lado, se justifica la elaboración de materiales poliméricos que tengan actividad antibacteriales o antimicrobianas, porque podrían proporcionar una solución innovadora al problema de la resistencia a los antibióticos que presentan algunas bacterias debido a que los polímeros eliminan o matan a las bacterias destruyendo directamente su pared o membrana celular y además los polímeros presentan el fenómeno de la sinergia.

En nuestro estudio pretendemos como objetivo sintetizar nuevos macromonómeros de 2-oxazolinas mediante una polimerización catiónica por apertura de anillo de 2-etil-2-oxazolina iniciada por el 4-clorometil estireno y terminada por la N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA). Utilizando estos macromonómeros se sintetizarán posteriormente nuevos hidrogeles y copolímeros injertados funcionalizados, los cuales podrían tener un carácter antibacteriano debido a que contendrían grupos amonio cuaternarios que tienen propiedad antibacteriana.

La contribución de esta tesis sería en la elaboración de materiales poliméricos con propiedades antibacterianas para su uso en el ámbito hospitalario y culinario, utilizando hidrogeles para la desinfección y limpieza de superficies sucias o contaminadas (camas, utensilios hospitalarios, utensilios de cocina, tabla de cortar carne, etc.).

CAPITULO II

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Equipos

Para esta investigación de tesis se utilizaron los siguientes equipos:

- Bomba de vacío de membrana

Marca: Vacuum Brand

Modelo: MZ 2

Vacío máximo: 9.0 mbar

- Bomba de vacío de aceite

Marca: Vacuum Brand

Modelo: RZ6

Vacío máximo: 0.001 mmHg

- Balanza Analítica Digital

Marca: Sartorius

Modelo: BP-310S

Precisión: ± 0.001 gr

- Balanza Analítica Digital

Marca: Sartorius

Modelo: QUINTIX 124-1S

Precisión: ± 0.1 mg

- Estufa

Marca: Heraeus

Modelo: T-6060

- Plancha de calentamiento

Marca: Heidolph

Modelo: MR 3002.

- Evaporador Rotatorio

Marca: Heidolph

Modelo: Lavorota 4003

- Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (^1H -RMN y ^{13}C -RMN)

Marca: Bruker, modelo AC300

Frecuencia: 300 MHz para ^1H y 75.5 MHz para ^{13}C

Solventes deuterados: agua y cloroformo

- Microscopio Electrónico de Barrido (SEM)

Marca: FEI INSPECT

Modelo: S50

2.2. Materiales

Se utilizaron las siguientes sustancias químicas en la tesis:

- Acetonitrilo- CH_3CN de 99,0 % de pureza, marca Sigma-Aldrich. Fue secado mediante destilación sobre hidruro de calcio.
- Clorometilostireno- $\text{H}_2\text{C}=\text{CHC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{Cl}$, de 97% de pureza, marca Aldrich. Fue una mezcla de los isómeros *meta* y *para* en la proporción molar de 30 y 70% molar, respectivamente.
- Etanol- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ de 95% de pureza, marca Aldrich.
- 2-Etil-2-oxazolina (Etoxa) de 99.0% de pureza, marca Aldrich. Purificado y secado mediante destilación sobre hidruro de calcio.
- Hidruro de calcio- CaH_2 con más de 95% de pureza, marca Merck. Usado como recibido.
- Hidróxido de sodio- NaOH de 99% de pureza, marca Merck. Usado como recibido.
- Nitrógeno de alta pureza 99.999%, anhidro. marca Linde. Usado como recibido.
- Cloruro de sodio- NaCl de 99.5% de pureza, marca Merck. Usado como recibido.
- Cloroformo- CHCl_3 de 99.5% de pureza, marca Merck. Purificado por destilación.

- Acetona- CH_3COCH_3 de 97% de pureza, marca Aldrich. Usada como recibida.
- Éter dietílico- $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$ de 99,5 % de pureza, marca Sigma-Aldrich. Usado como recibido.
- Hidroxietilmetacrilato (HEMA) de 97% de pureza, marca: Aldrich. Purificado por destilación.
- Persulfato de amonio (APS) de 99% de pureza, marca Merck. Usado como recibido.
- Metilenobisacrilamida (BIS) de 99% de pureza, marca Merck. Usado como recibido.
- Tetrametiletilendiamina (TEMED) de 99% de pureza, marca Merck. Purificado por destilación.
- N,N-Dimetil-dodecilamina (DMDA) de 97% de pureza, marca Aldrich. Purificado por destilación al vacío.

Ver cuadro resumen adicional en Anexo I.

2.3. Destilación y purificación de 2-etil-2-oxazolina

El monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) se purificó mediante destilación fraccionada en presencia del agente secante hidruro de calcio. Este procedimiento se repitió tres veces.

Procedimiento: 60 ml de 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) y 1 gramo de hidruro de calcio molido se colocaron en un balón de 250 ml, el cual se instaló en un sistema de destilación. Al sistema de destilación se le introdujo nitrógeno de alta pureza y seco y además se protegió el sistema del ingreso de la humedad con una trampa de sílica gel (Figura 2.1). Antes de proceder a la destilación a presión atmosférica se secó todo el aparato de destilación calentándolo con una pistola de calentamiento a 450°C y bajo corriente de nitrógeno. Luego de enfriarse el sistema de destilación se colocó el balón con Etoxa y se procedió a destilar la Etoxa a 128°C bajo flujo constante de nitrógeno.

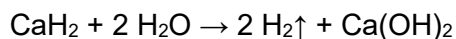
La Etoxa fue caracterizada por sus espectros RMN:

^1H -RMN (en CDCl_3) δ : 1.05 ($-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}-$); 2,15 (CH_2-CO); 3,65 (NCH_2); 4.1 (OCH_2).

^{13}C -RMN (en CDCl_3) δ : 10 ($-\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}-$); 21 (CH_2-CO); 54 (NCH_2); 67 (OCH_2); 169 (CH_2CO)

(Ver Figura 5.1 y 5.2 en anexo II)

El hidruro de calcio contribuye al secado de la Etoxa y de otras sustancias porque reacciona con el agua residual mediante la reacción mostrada seguidamente.



Este procedimiento de destilación fraccionada se realizó por tres veces para purificar el monómero Etoxa. El solvente acetonitrilo fue purificado y secado mediante el mismo procedimiento.

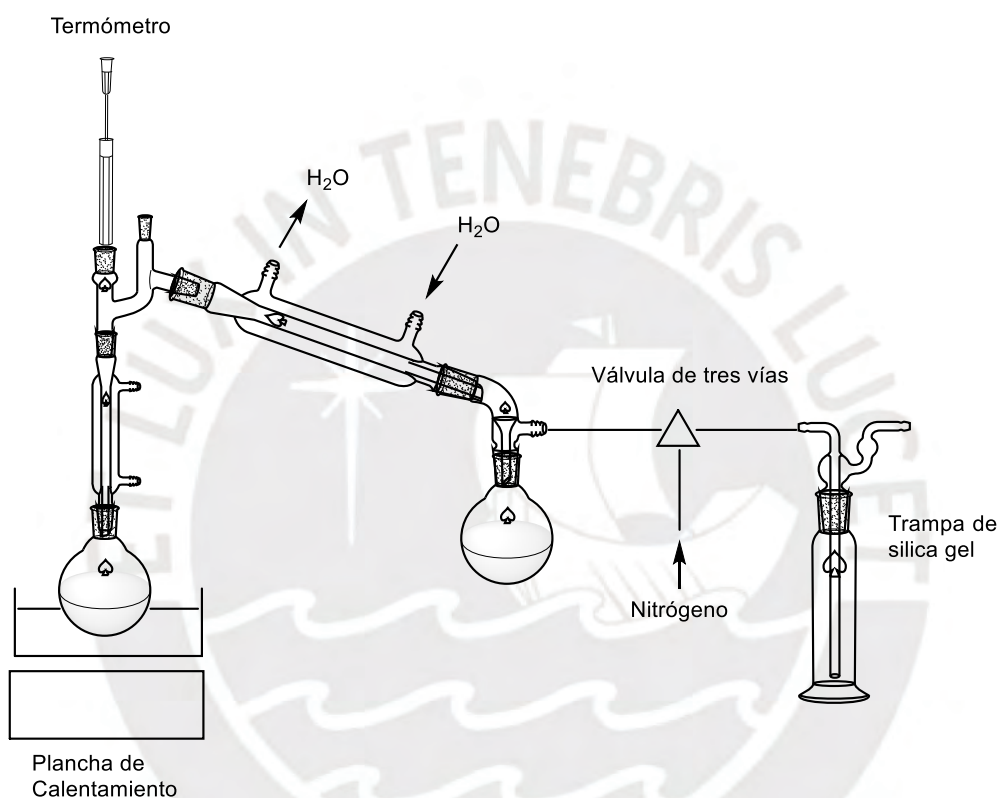


Figura 2.1. Sistema destilación del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa).

2.4. Purificación de clorometilestireno

El clorometilestireno (CMS) se purificó mediante una destilación a vacío sobre hidruro de calcio. En este caso se usó una bomba de vacío de aceite (Figura 2.2). El CMS destiló a 55°C a una presión atmosférica de 0.5 mm Hg. Se adicionó trazas de hidroquinona (inhibidor de radicales libres) al CMS antes de la destilación con la finalidad de evitar la polimerización prematura del CMS.

La destilación del CMS se realizó tres veces. La primera y segunda destilación se realizaron con anticipación días antes y la tercera destilación se realizó el mismo día de

la síntesis de los macromonómeros para garantizar la pureza del CMS. El CMS fue caracterizado por ^1H -RMN.

^1H -RMN (en CDCl_3) δ : 4.55 ($-\text{CH}_2\text{Cl}$); 5.25, 5.75, 6.7 ($\text{CH}=\text{CH}_2$); 7.3-7.4 (Ar-).

(Ver Figura 5.3 en anexo II)

La N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA) también fue purificada y secada por el mismo procedimiento y caracterizada por ^1H RMN y ^{13}C -RMN.

^1H RMN: en CDCl_3) δ : 0.85 ($-\text{CH}_3$); 1.2-1.3 ($(\text{CH}_2)_9$); 1.4 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{N}-$); 2.2 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-$).

^{13}C -RMN (en CDCl_3) δ : 14.1 ($-\text{CH}_3$); 22.7(CH_2); 28-32 ($(\text{CH}_2)_9$); 45.5 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 60.0 ($-\text{CH}_2-\text{N}$).

FTIR (cm^{-1}): 2,922 (C-H alifático), 1,460 (CH_2).

(Ver Figura 5.4, 5.5, 5.8 en anexo II)

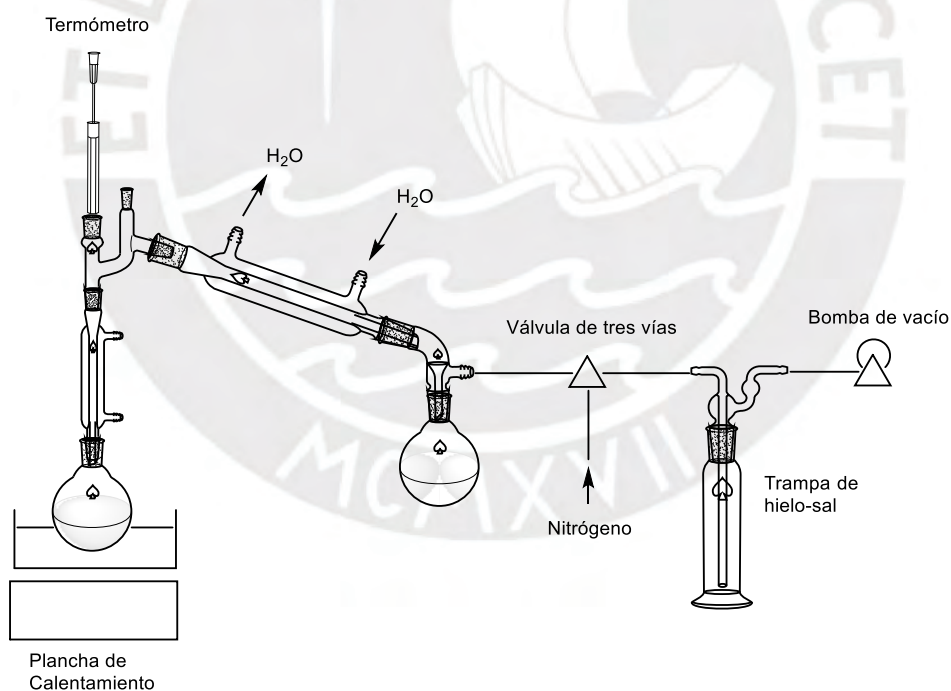


Figura 2.2. Sistema de destilación del clorometilestireno (CMS)

2.5. Síntesis de macromonómeros de 2-etil-2-oxazolina funcionalizados con grupos amonio (MKA-1 y MKA-2)

Previamente a la síntesis, el reactor de vidrio de 100 ml de capacidad fue secado

mediante una corriente de aire a 450°C, y fue enfriado hasta la temperatura ambiente mediante una corriente de nitrógeno de alta pureza y anhidro.

Para la síntesis de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2, se modificó la relación molar del monómero (2-etil-2-oxazolina) a iniciador (clorometilestireno) y coiniador (ioduro de sodio) y finalmente la cantidad molar del terminador (dimetil-dodecilamina); manteniendo los parámetros de tiempo y temperatura constante para los ambos macromonómeros.

Ejemplo típico (macromonómero MKA-1): a un reactor de 100 ml, se agregó 1.69 g. (11.26 mmol) de ioduro de sodio y se aplicó vacío de 0.5 mm Hg durante 30 minutos. Luego, se detuvo el vacío y se introdujo nitrógeno al sistema. Entonces se agregaron al reactor, 0.860 g. (5.61 mmol) de clorometilestireno, 11.56 g (116.7 mmol) de 2-etil-2-oxazolina, y 30 mL de acetonitrilo. Se cerró el reactor bajo una atmósfera de nitrógeno y se colocó en un baño de calentamiento a 75°C. Se procedió a agitar (a 400 RPM) durante 7 horas. Después de este tiempo, se enfrió la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se terminó la polimerización mediante la adición a la mezcla reaccionante de 12.01 g (56.3 mmol) de N,N dimetil-dodecilamina. Esta reacción de terminación se llevó a cabo durante 120 horas a 35°C y agitación de 400 RPM. Luego de este tiempo, la mezcla de reacción fue filtrada, se evaporó el solvente y el polímero resultante fue disuelto en 20 ml de cloroformo y se precipitó en éter dietílico. Este procedimiento de purificación se repitió tres veces. El polímero MKA-1 fue caracterizado por resonancia magnética nuclear (RMN) y espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

$^1\text{H-RMN}$ (en CDCl_3) δ : 0.9 (- CH_3); 1.0-1.2 (- $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-(Etoxa)}$); 1.2-1.4 ((CH_2) $_9$); 1.8 (CH_2); 2.2-2.6 ($\text{CH}_2\text{-(Etoxa)}$); 3.4 (- NCH_3); 3.5(- N-CH_2 -); 4.6 (Ar-CH_2 -); 5.3, 5.75, 6.7 (CH=CH_2); 7.1-7.5 (Ar). $_{13}\text{C}$: 10 y 13 (- CH_3); 24 y 26 (- CH_2); 42-48 (- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ -); 115 (CH_2 =); 128 (Ar -); 138 (CH=); 139 (C(Ar)), 177 (NC=O). Ver Figura 5.6 en anexo II.

FTIR (cm^{-1}): 2,976 (C-H alifático), 2,300 (grupo amonio), 1,625 (N-C=O , amida), 1,195 (C-N). Ver Figura 3.6 en capítulo III.

Para realizar el análisis de RMN se pesó 30 mg de macromonómero y se colocó en un vial de vidrio, el cual se colocó dentro de un balón de 250 ml. Se hizo vacío de 0.5 mm Hg en el balón por 30 minutos para eliminar la humedad residual del macromonómero. Luego, se añadió 1.5 ml de cloroformo deuterado al macromonómero para su disolución y la solución se colocó en un tubo de RMN y se selló la tapa del mismo con Parafilm para evitar la entrada de humedad. Se midió en el espectrómetro RMN.

Para los ensayos de solubilidad se disolvieron 0.5 gramos de macromonómero MKA-1 y MKA-2 en 20 mL de solvente (agua, dimetilsulfóxido, cloroformo).

2.6. Síntesis de hidrogeles

Se elaboraron hidrogeles a partir de la polimerización por radicales libres de los macromonómeros (MKA-1 y MKA-2), el hidroxietilmetacrilato (HEMA) y N,N' metilenobisacrilamida (BIS) siendo iniciada la polimerización por el persulfato de amonio (APS) y catalizada por la N, N, N', N'-tetrametiletilendiamina (TEMED). La síntesis de los hidrogeles se realizó en agua destilada.

Para la síntesis de los nueve hidrogeles con códigos HGA1, HGA2, HGA3, HGA4, HGA5, HGA6, HGA7, HGA8 Y HGA9 se modificó la relación molar de hidroxietilmetacrilato (HEMA) a macromonómeros (MKA-1 o MKA-2) y también relación molar porcentual de entrecruzador (BIS) respecto a la suma de macromonómeros (MKA-1 o MKA-2) y hidroxietilmetacrilato (HEMA). En la Tabla 3.2 se detallan los valores utilizados. Se mantuvo los parámetros de tiempo y temperatura constantes para todos los hidrogeles.

Procedimiento típico (HGA4): Se pesó en un vaso de 50 ml, 0.4620 g de macromonómero MKA-2, 0.4507 g de hidroxietilmetacrilato (HEMA), 0.0297 g. de N,N' metilenbisacrilamida (BIS), y 0.022 g de N,N, N',N'-tetrametiletilendiamina (TEMED), y se disolvió este contenido con 3 ml de alcohol etílico absoluto. Se pesó en otro vaso de 50 ml, 0.015 g. de persulfato de amonio (APS) y se disolvió en 1 ml de agua destilada.

Se hizo burbujear nitrógeno, de alta pureza y seco, durante 10 minutos en la solución de los monómeros. Luego, los vasos conteniendo esta solución y la solución de persulfato de amonio se colocaron en un recipiente que contenía una mezcla de agua y hielo por 15 minutos para lograr su enfriamiento. Luego de este tiempo, las soluciones de ambos vasos se mezclaron utilizando una pipeta Pasteur y se vertió la mezcla en el interior de un molde de vidrio, que estuvo previamente enfriado a 5°C, y se dejó en la refrigeradora a una temperatura de 5°C por 24 horas. Producto de este procedimiento se formó un hidrogel.

El molde de vidrio consistió en dos láminas de vidrio de 10 cm x10 cm x 2 mm y las láminas de vidrio se separaban por una cinta de caucho de 2 mm de espesor. En la Figura 2.3 se presenta una foto del molde utilizado.



Figura 2.3. Molde de vidrio para la elaboración de hidrogeles.



Figura 2.4. Síntesis de hidrogel HGA4.

Posteriormente a la síntesis, el hidrogel sintetizado se retiró del molde (ver Figura 2.4) con una espátula y se colocó dentro de un vaso conteniendo 200 ml de etanol, con la finalidad de eliminar los residuos de monómeros e iniciador que no hayan reaccionado y que estén como impurezas en el hidrogel sintetizado. Este lavado con etanol se realizó dos veces. Luego el hidrogel fue transferido a otro vaso y fue lavado con 500 ml de agua destilada. El lavado con agua destilada se realizó tres veces.

Finalmente, el hidrogel fue secado a baja temperatura (40°C) hasta constancia de peso.

El polímero hidrogel HGA4 fue caracterizado por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

FTIR (cm⁻¹): 3,385 (grupo OH), 2,937 (C-H, alifático), 2,300 (grupo amonio), 1,719 (C=O, éster), 1,623 (N-C=O, amida), 1,153 (C-N). Ver Figura 3.10 en el capítulo III.

2.7. Prueba de absorción de agua

El procedimiento típico de trabajo fue el siguiente:

Ejemplo: hidrogel HGA4. Se pesó en un vaso de 50 mL 0.2332 g de hidrogel seco y se le agregó 100 ml de agua destilada. Se dejó el hidrogel sumergido en agua durante 24 horas hasta el equilibrio. Después de este tiempo, se extrajo del vaso el hidrogel hinchado en agua, se secó su superficie y se pesó obteniéndose 0.7425 g de hidrogel hinchado en agua en el equilibrio.

El grado de absorción se agua se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Absorción Agua (g. H}_2\text{O/g. HGA seco)} = (W_h - W_s) / W_s$$

Donde W_h = peso del hidrogel hinchado en agua en el equilibrio

W_s = peso del hidrogel seco.

Se aplicó el mismo procedimiento para los hidrogeles HG1, HG2, HG5, HG6 Y HG7.

2.8. Síntesis de copolímeros injertados

Se elaboraron cuatro copolímeros injertados con códigos GA1, GA2, GA3 y GA4 donde se modificó la relación molar de hidroxietilmetacrilato (HEMA) respecto a los macromonómeros (MKA-1 o MK-2). En la Tabla 3.3 se detallan los valores utilizados. Se mantuvo constantes los parámetros de tiempo, temperatura y porcentaje de iniciador (Azoisobutironitrilo (AIBN) a la suma de moles de (MKA-1 o MK-2) y HEMA)) para todos los copolímeros injertados.

Procedimiento típico (copolímero GA1): Se disolvieron en un balón de 50 ml 0.200 gramos de hidroxietilmetacrilato (HEMA), 0.40 gramos de macromonómero MKA-1 y 0.0136 gramos de Azoisobutironitrilo (AIBN) en 2.5 ml. Se burbujeo nitrógeno seco en el balón durante 10 minutos y se cerró el balón bajo atmosfera de nitrógeno, se calentó la mezcla de reacción a 65°C durante 24 horas. Luego se obtuvo el copolímero injertado mediante precipitación en 50 ml de éter dietílico. Se obtuvo un polímero de color amarillo con un rendimiento de 85%.

¹H-RMN (en CDCl₃) δ: 0.9 ppm (CH₃); 1.0-1.2 ppm (-CH₃-(Etoxa)); 1.2-1.4 ppm (CH₂)₉, terminador + HEMA); 1.8 ppm (CH₂); 2.2-2.6 ppm (CH₂-(Etoxa)); 3.0-3.7 ppm(-N-CH₂-); 3.7-4.1 ppm (CH₂CH₂ del HEMA), 6.8-7.5 ppm (Ar). Ver Figura 3.14 en capítulo III.

FTIR (cm⁻¹): 3,409 (grupo OH), 2,938 (C-H, alifático), 2,323 (grupo amonio), 1,722 (C=O, éster), 1,623 (N-C=O, amida), 1,154 (C-N). Ver Figura 3.14 en el capítulo III.

2.9. Análisis de actividad antibacteriana de macromonómero e hidrogeles mediante la norma ATCC 6538

Los análisis de actividad antibacteriana de macromonómero e hidrogeles fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Procedimiento de actividad antibacteriana del macromonómero MKA-2: se realizó por espectrofotómetro Biotek Epoch 2 microplate de la siguiente manera:

Preparación de la dilución de macromonómero MKA-2

El macromonómero MKA-2 se diluyó en DMSO para alcanzar una concentración de stock de 60000 µg/mL. A partir de esta solución madre, se prepararon diluciones intermedias de 5000 µg/mL, 10000 µg/mL, 20000 µg/mL y 30000 µg/mL.

Preparación de la suspensión bacteriana

Para evaluar la actividad antimicrobiana, se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P. Esta se cultivó en caldo Trypticase de Soya (TSB) hasta obtener una concentración aproximada de 2×10^7 UFC/mL (número de bacterias en una muestra).

La prueba del macromonómero MKA-2 diluido en DMSO frente a la bacteria se realizaron por triplicado técnico. Se incluyeron un control positivo (TSB con bacteria), un control negativo (bacteria + TSB sin macromonómero, pero con DMSO) y controles para las diversas diluciones a evaluar del macromonómero MKA-2 (ver Tabla 2.1). Se utilizó TSB como blanco. Esta metodología se aplicó de manera independiente para el

macromonómero MKA-2. Todas las condiciones experimentales se llevaron a cabo con un volumen final de 200 μL por pocillo. Para la evaluación antibacteriana del macromonómero, se añadieron 185 μL de TSB y 5 μL de la suspensión bacteriana a cada pocillo, resultando en una concentración final de *Staphylococcus aureus* de 5×10^5 UFC/mL, adecuada según las directrices de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para pruebas de concentración mínima inhibidora (MIC). Adicionalmente, se inoculó 10 μL del macromonómero a evaluar de las diluciones intermedias, logrando concentraciones finales de 500 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$ y 3000 $\mu\text{g/mL}$.

Tabla 2.1. Contenido de los diferentes controles para el ensayo de MIC.

Control	Contenido del Pocillo	A comparación de la condición experimental, no se agregó
Control negativo	185 μL de TSB 10 μL de DMSO 5 μL de Bacteria	macromonómero
Control de estabilidad del macromonómero	185 μL de TSB 10 μL del macromonómero 5 μL de TSB	Bacteria
Control de estabilidad del DMSO	185 μL de TSB 10 μL de DMSO 5 μL de TSB	Bacteria
Control de crecimiento	195 μL de TSB 5 μL de Bacteria	macromonómero y DMSO
Blanco de crecimiento	200 μL de TSB	Bacteria, macromonómero y DMSO

En la Figura 2.5 la evaluación del macromonómero MKA-2 se muestra en color azul. Las columnas del 1 al 5 corresponden a la evaluación del macromonómero a concentraciones de 500 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$, 3000 $\mu\text{g/mL}$ y control negativo. La columna 7 contiene el control de estabilidad del macromonómero sin bacteria. La columna 8 muestra un control (blanco) de TSB con DMSO, mientras que la columna 9 corresponde al control crecimiento de la bacteria sin macromonómero con su respectivo blanco de crecimiento (TSB).

Mediante espectrofotometría donde se encuentra la absorbancia (a 600 nm) vs tiempo (horas), es el método normado y sencillo para estimar la concentración de bacterias en una muestra y medir el crecimiento bacteriano.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
500 µg/mL	1000 µg/mL	2000 µg/mL	3000 µg/mL	Control negativo		Control estabilidad 500 µg/mL		Control crecimiento
500 µg/mL	1000 µg/mL	2000 µg/mL	3000 µg/mL	Control negativo		Control estabilidad 1000 µg/mL		Control crecimiento
500 µg/mL	1000 µg/mL	2000 µg/mL	3000 µg/mL	Control negativo		Control estabilidad 2000 µg/mL		Control crecimiento
						Control estabilidad 3000 µg/mL	TSB con DMSO	TSB

Figura 2.5. Distribución de condiciones en microplaca.

Procedimiento de actividad antibacteriana de los hidrogeles HGA1, HGA4, HGA5, HG6 y HGA7: se realizó de la siguiente manera:

Preparación de la suspensión bacteriana

Para el ensayo piloto, se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Esta se cultivó en caldo Tripticasa de Soya (TSB) hasta obtener una concentración aproximada de 2×10^7 UFC/mL (número de bacterias en una muestra).

Siembra

Utilizando hisopos estériles, se impregnó la superficie del hidrogel (0.5 cm^3 de tamaño) del medio de cultivo con la suspensión bacteriana, empleando una técnica de siembra que asegurara la distribución uniforme del inóculo. Se realizó un barrido sistemático del hisopo sobre la placa en movimientos de ida y vuelta. Este procedimiento se efectuó tres veces, con rotaciones de la placa de 60° entre cada aplicación, para promover un crecimiento bacteriano uniforme y confluyente.

Enfrentamiento

Con la ayuda de una pinza estéril, se distribuyeron los discos de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6, HGA7 en placas de forma equidistante. También se realizó un control positivo (Eritromicina) y negativo (HGA1) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas (ver Figura 2.6).

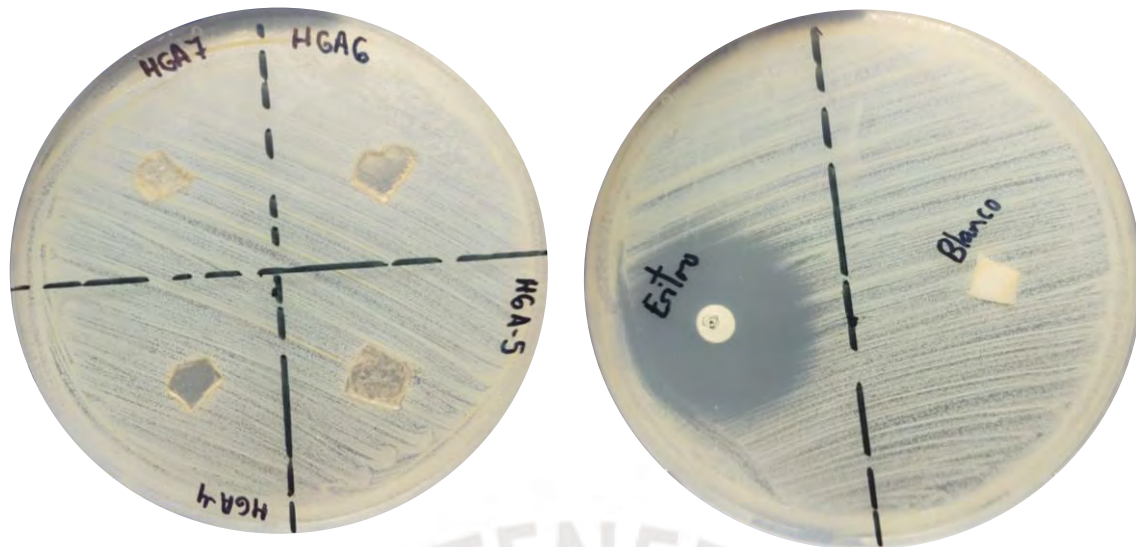


Figura 2.6. Enfrentamiento de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6, HGA7, control positivo (Eritromicina) y control negativo (HGA1) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, luego de 24 horas de incubación.

2.10. Análisis de actividad antibacteriana de hidrogeles mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM).

El análisis se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

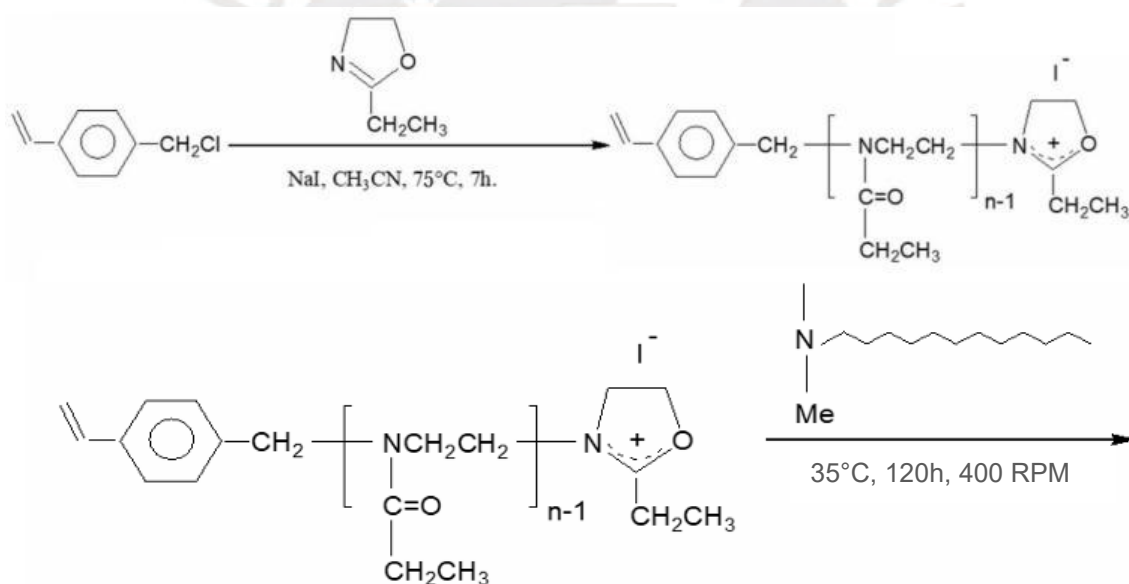
En el ensayo, se empleó la cepa de *Staphylococcus aureus*, que se cultivó en caldo Tripticasa de Soya (TSB) junto con cada uno de los hidrogeles HGA1, HGA4, HGA5, HGA6 y HGA7. La incubación se realizó a 37°C durante un período de 1 a 5 días. Las muestras biológicas se fijaron utilizando glutaraldehído, con el fin de preservar su estructura y evitar la degradación. Después de la fijación, las muestras fueron sometidas a un proceso de deshidratación progresiva utilizando una serie de soluciones de etanol en concentraciones crecientes (40% a 100%) con el propósito de eliminar rastro de agua de las muestras, que podría afectar la visualización en el microscopio debido a la alta energía de los electrones. Finalmente, todas las muestras fueron sometidas a desecado por punto crítico para eliminar cualquier rastro de agua. Luego, fueron montadas en fibra de carbono sobre plataformas de metal conocidas como "stubs" y recubiertas con oro mediante metalización. La caracterización se realizó utilizando el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) FEI INSPECT S50 en condiciones de alto vacío, con niveles de magnificación en el rango de 1000 x a 4000 x, con la finalidad de observar si hay alguna formación de un film bacteriano sobre el hidrogel (crecimiento bacteriano sobre la superficie de los hidrogeles). Ver Figura 3.12 capítulo III.

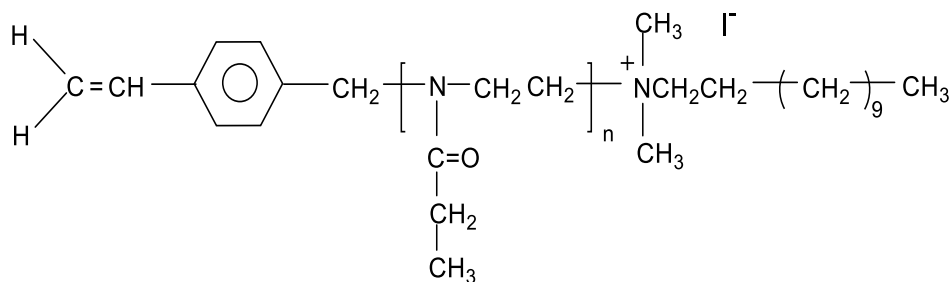
CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Síntesis y caracterización de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2

Se sintetizaron los macromonómeros de 2-oxazolinas, MKA-1 y MKA-2, mediante la polimerización catiónica por apertura de anillo (PCAA) del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) usando como iniciador al 4-clorometilestireno (CMS), y como co-iniciador al yoduro de sodio (NaI). El solvente usado en la polimerización fue el acetonitrilo. La síntesis se realizó a una temperatura de 75°C y por un tiempo de 7 horas bajo atmósfera de nitrógeno seco. Para finalizar la síntesis de los macromonómeros se utilizó como terminador la N, N-dimetil-dodecilamina (DMDA), la cual se adicionó a la mezcla de reacción en una proporción molar 10 veces mayor respecto a los moles de iniciador utilizados en la polimerización. La temperatura de la reacción de terminación fue de 35°C, y el tiempo de reacción fue 120 horas (Esquema 3.1).





Esquema 3.1: Síntesis de los macromonómeros de 2-etil-2-oxazolina, usando como iniciador al 4-clorometilestireno y como terminador a la N, N-dimetil-dodecilamina.

Para la síntesis de los macromonómeros se utilizó el método del iniciador, ya que el grupo vinilo fue introducido al inicio de la cadena polimérica de cada macromonómero mediante el 4-clorometilestireno (método del iniciador) (Rueda et al., 2014, 2020). En la polimerización se mantuvo una baja concentración del iniciador, baja temperatura de reacción (75°C) y un bajo tiempo de polimerización (7 horas) para evitar así una polimerización prematura del grupo vinilo proveniente del iniciador (CMS).

Se finalizó la polimerización con un gran exceso de terminador (N,N-dimetil dodecilamina) respecto del iniciador, para aumentar fuertemente la probabilidad de que todas las cadenas propagantes poliméricas reaccionen con el grupo amina del terminador y así formar un grupo amonio cuaternario en el final de cadena del macromonómero. Los datos teóricos y resultados experimentales de la síntesis de los macromonómeros se resumen en la Tabla 3.1 y los cálculos respectivos están en los anexos III y IV.

Es conocido de la literatura que la polimerización catiónica de las 2-oxazolinas transcurre de manera “viva” (sin reacciones secundarias) si se realiza en condiciones adecuadas (monómeros, solvente, iniciador y terminador puros y secos). En la polimerización de estos monómeros no se produce ninguna reacción de terminación o de transferencia de cadena y se pueden obtener, por ejemplo, macromonómeros con pesos moleculares y estructuras predeterminadas (Verbraeken et al., 2017).

Tabla 3.1. Síntesis de los macromonómeros de 2-oxazolinas. Condiciones de reacción y resultados.

MKA ^a	CMS ^b (mmol)	NaI ^c (mmol)	Etoxa ^d (mmol)	DMDA ^e (mmol)	R ₁ ^f	R ₂ ^g	F ^h (%)	M ₁ ⁱ	M ₂ ^j	Rend. ^k (%)
MKA-1	5.63	11.26	118.83	56.30	21.1	21.4	98	2,422	2,455	85.7
MKA-2	11.27	22.54	101.4	113	9.0	9.2	99	1,223	1,243	88.3

Donde: a: Macromonómero (MKA)

b: 4-Clorometilestireno (CMS).

c: Ioduro de sodio (NaI).

d: 2-Etil-2-oxazolina (Etoxa).

e: N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA)

f: Relación molar inicial de Etoxa/CMS mediante cálculo teórico.

g: Relación molar final de Etoxa/CMS calculado mediante el análisis cuantitativo del espectro ¹H RMN de cada macromonómero.

h: Porcentaje de funcionalización obtenido mediante la comparación de las señales del terminador e iniciador en el espectro ¹H-RMN.

i: Peso molecular teórico (g/mol) que fue calculado usando la relación molar inicial de Etoxa y CMS.

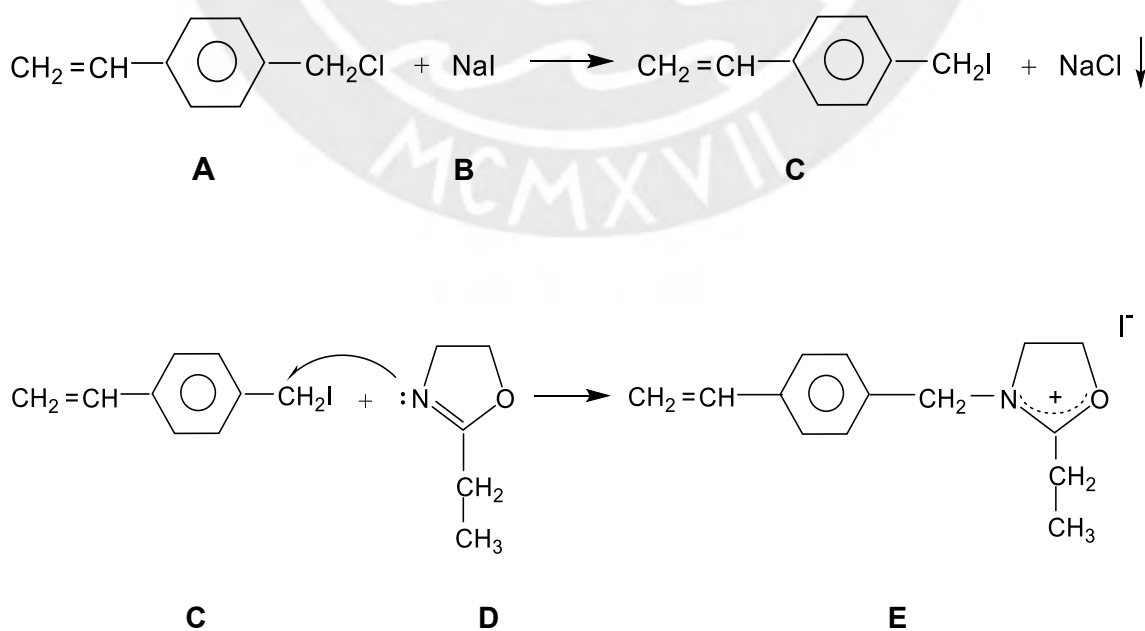
j: Peso molecular experimental determinado por ¹H-RMN (g/mol).

k: Porcentaje de rendimiento (masa de polímero obtenida / (suma de las masas de iniciador, monómero y terminador)).

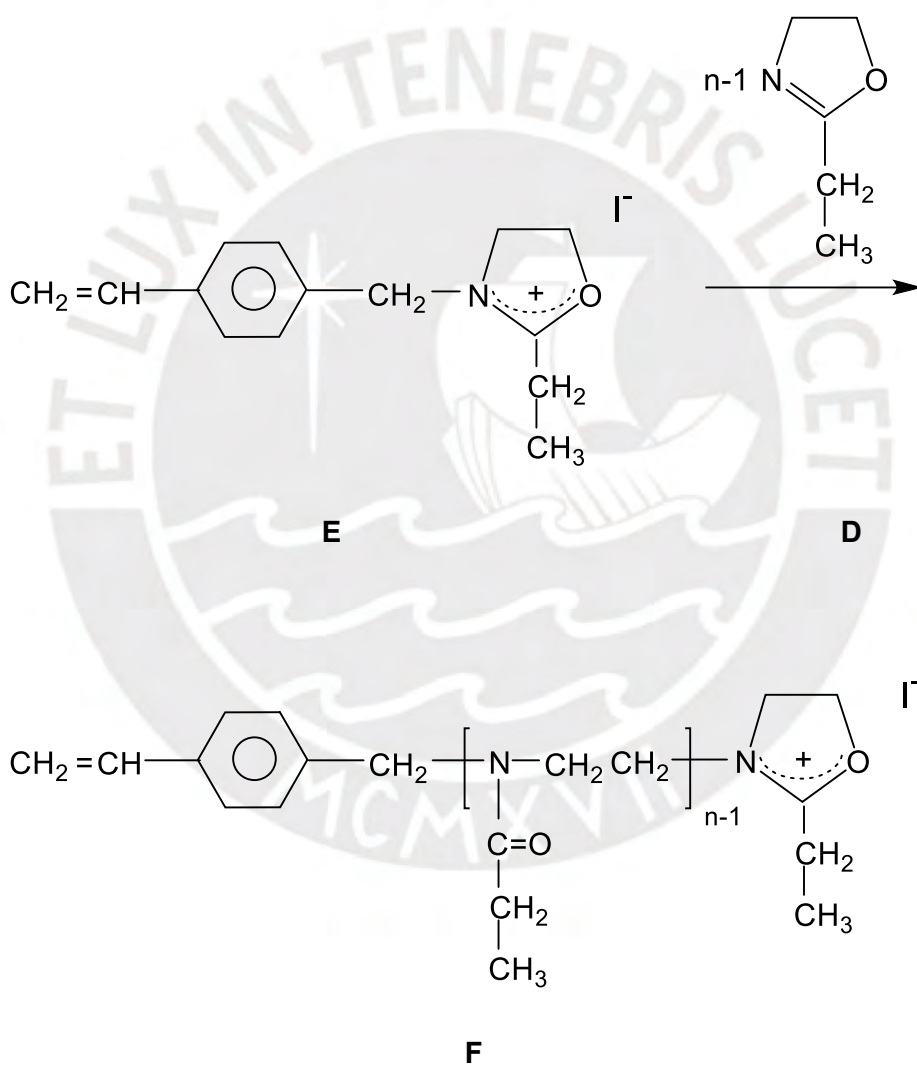
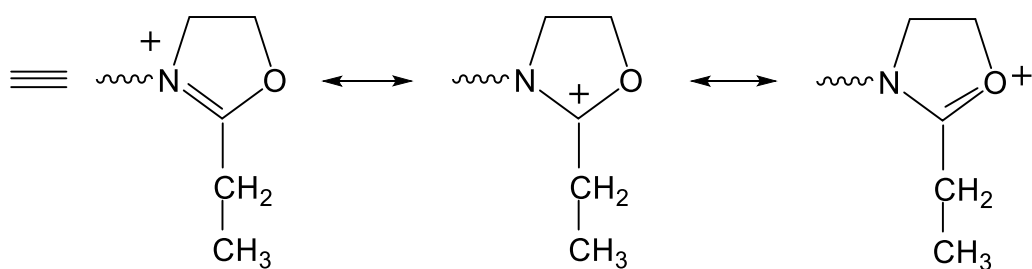
El mecanismo de la síntesis del macromonómero de 2-etil-oxazolina con el iniciador (CMS) y terminador (DMDA) se propone a ser de la siguiente manera:

La iniciación ocurre mediante la reacción del clorometilostireno (CMS) con el yoduro de sodio (NaI) (especies **A** y **B** en el esquema 3.2). Entonces como producto de esta reacción se genera *in situ* el agente iniciante iodometilostireno (IMS) **C** y además el cloruro de sodio (NaCl) que es insoluble en el solvente acetonitrilo (Esquema 3.2) (Rueda et al., 2014, 2020). El iodometilostireno (IMS) **C** inicia la polimerización catiónica por apertura de anillo (PCAA) de 2-etil-2-oxazolina **D** atacando a la primera molécula de monómero formándose de esta manera el primer catión oxazolínico propagante **E** y el contraión yodo. El catión oxazolínico propagante resuena lo que significa, que la carga positiva del catión del anillo oxazolínico toma posiciones diferentes en su estructura química pudiendo estar con el nitrógeno, con el carbono situado entre el nitrógeno y el oxígeno, o con el oxígeno. En la polimerización se produce una especie propagante iónica al ser el anión yoduro menos nucleófilo que el monómero Etoxa (Okada y Aoi, 1995).

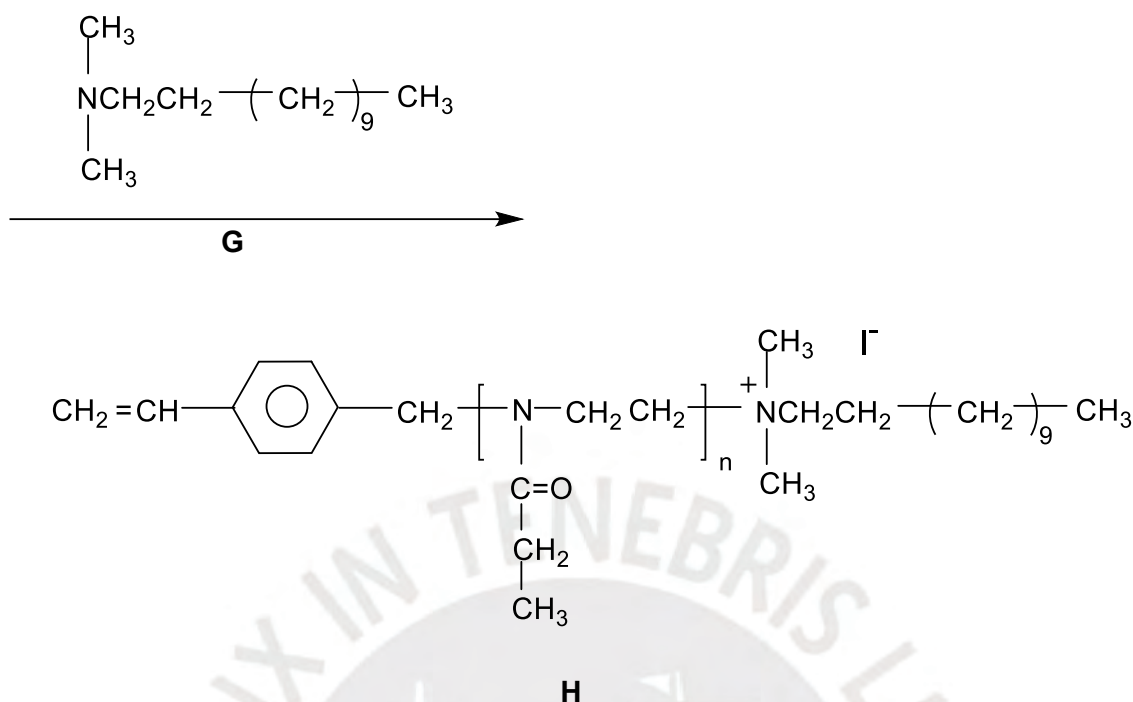
Se debe mencionar que, en la polimerización, se adicionó el coiniciador NaI en una proporción molar de 2:1 respecto al iniciador clorometilostireno con la finalidad de asegurar estadísticamente que todo el coiniciador reaccione cuantitativamente con el iniciador y de esta manera obtener una conversión completa del clorometilostireno en iodometilostireno.



Continuación...



Continuación...



Esquema 3.2: Mecanismo de síntesis de macromonómero 2-etil-2-oxazolina.

La propagación procedió mediante la reacción de las especies propagantes tipo **E** con los monómeros de 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) (Esquema 3.2).

El monómero 2-etil-2-oxazolina al ser más nucleofílico que el contraión yoduro abrió el anillo del catión oxazolínico y entonces la propagación de la cadena polimérica procedió mediante la reacción del catión propagante oxazolínico y el monómero sea el mecanismo de polimerización fue de tipo iónico. Las cadenas propagantes, una vez iniciadas, solo reaccionan con los monómeros de 2-etil-2-oxazolina dándose la reacción de forma “viva” y no ocurren reacciones de transferencia de cadena ni de terminación (Aoi, 1996, Rueda et al., 2014, 2018) y esta característica permite poder programar el peso molecular, la distribución del peso molecular y la funcionalidad del polímero.

La terminación ocurrió mediante la reacción de catión oxazolínico propagante **F** con la N, N-dimetil-dodecilamina (DMDA) **G**, formándose el macromonómero **H** funcionalizado con el grupo vinilo al inicio de la cadena y con el grupo de amonio cuaternario al final de la misma cadena. Se usó un gran exceso del terminador N, N-dimetil-dodecilamina (DMDA) respecto al iniciador clorometil estireno (CMS) para asegurar en términos estadísticos que todas las cadenas propagantes reaccionaran con el DMDA y se mantuvo una temperatura baja para evitar reacciones secundarias. También se usó un

tiempo de reacción de 120 horas para favorecer estadísticamente la reacción de terminación. El mecanismo de reacción de la polimerización fue el mismo tanto para MKA-1 como para MKA-2.

Concluida la polimerización se obtuvieron los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 con rendimientos de 85.7% y 88.3%, respectivamente. (Ver cálculos en anexo 3).

Los macromonómeros obtenidos fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear de hidrogeno ($^1\text{H-RMN}$) (Figura 3.1 y Figura 3.2).



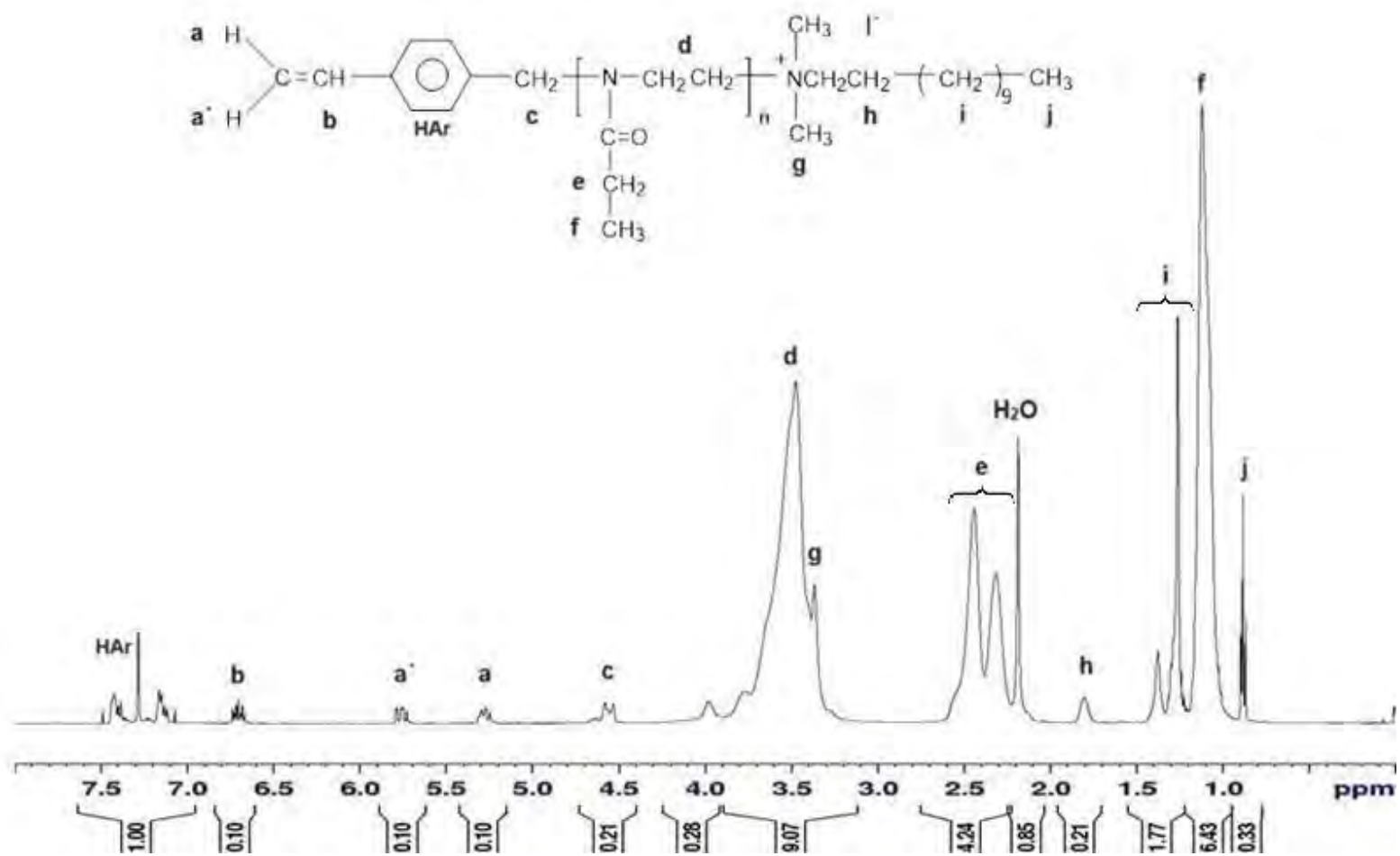


Figura 3.1. Espectro $^1\text{H-RMN}$ de macromonómero MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C .

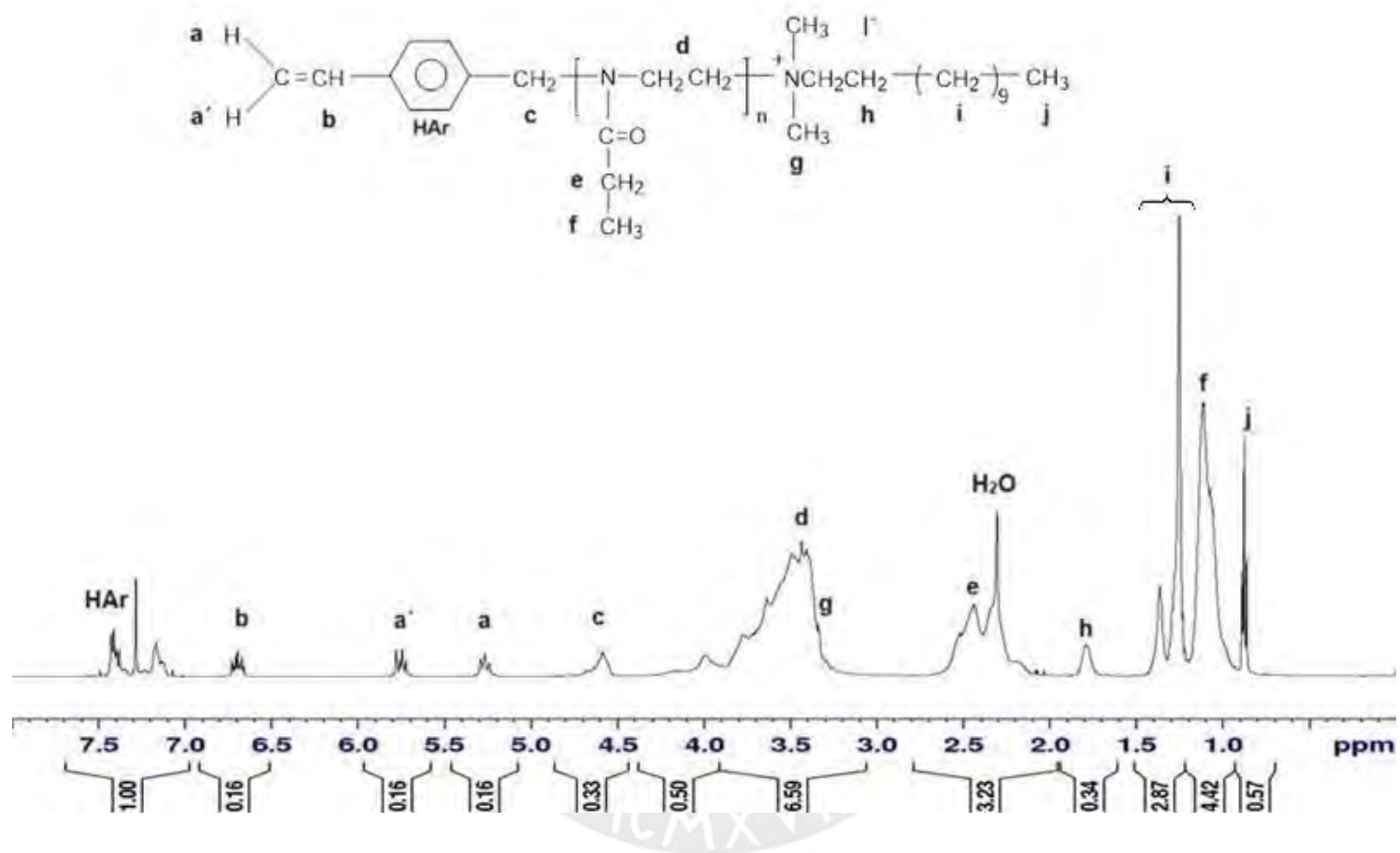


Figura 3.2. Espectro $^1\text{H-RMN}$ de macromonómero MKA-2 en cloroformo deuterado a 25°C.

Los espectros ^1H -RMN de MKA-1 y MKA-2 fueron similares y se demostró en ambos la presencia del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa), del iniciador iodometilestireno (IMS) y del terminador N, N-dimetil-dodecilamina (DMDA). Las señales H_{AR} a 7.1-7.5 ppm (anillo aromático), **b** a 6.7 ppm (-CH=), **a** y **a'** a 5.75 y 5.3 ppm ($\text{CH}_2=$) y **c** 4.5-4.6 ppm (grupo CH_2 junto al anillo aromático) demuestran la existencia del resto del iniciador iodometilestireno en el macromonómero. Las señales **d** a 3.5 ppm ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2$), **e** a 2.4 ppm ($\text{CH}_2\text{C=O}$) y **f** a 1.1 ppm (CH_2CH_3) muestran la presencia de la 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) y finalmente las señales **g** a 3.4 ppm ($\text{CH}_3\text{-N}^+\text{-CH}_3$), **h** a 1.8 ppm ($\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$), **i** a 1.25 ppm (CH_2)₉ y **j** a 0.9 ppm (CH_3) demuestran la presencia del terminador N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA) en la estructura del macromonómero.

Haciendo uso de las señales, y sus respectivas integrales, del espectro ^1H -RMN del macromonómero MKA-1 se calculó el grado de polimerización del mismo. Comparando la integral del pico de la señal **f** (CH_2CH_3) del monómero 2-etil-2-oxazolina, con el promedio de las integrales de los picos **a**, **á** y **b** del iniciador iodometilestireno se pudo calcular el grado de polimerización de MKA-1 de 21.4, que fue muy similar al grado de polimerización teórico (21). Por su parte, el grado de polimerización de MKA-2 calculado por RMN fue de 9.2, valor muy similar al teórico ($n=9$). Los pesos moleculares experimentales fueron de 2455 g/mol y de 1243 g/mol para MKA-1 y MKA-2, respectivamente (Ver Tabla 3.1). Los cálculos detallados para MKA-1 y MKA-2 constan en los anexos III y IV.

Para el cálculo del porcentaje de funcionalización del macromonómero con el terminador se comparó la integral del pico de la señal **i** (1.2-1.4 ppm) del terminador (N, N-dimetil-dodecilamina) con el promedio de las integrales de las señales **a**, **á** y **b** del iniciador iodometilestireno. Entonces, se obtuvieron los porcentajes de funcionalización de MKA-1 y MKA-2 de 98% y 99%, respectivamente. Por lo tanto, podemos concluir que todas las cadenas del macromonómero contienen en su extremo final un grupo de amonio cuaternario. Los cálculos detallados para los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 se encuentran en el Anexo IV.

Como conclusión, del análisis mediante RMN, podemos afirmar que los macromonómeros tienen un grupo vinilo al inicio de su cadena polimérica y un grupo amonio cuaternario al final de la cadena y fueron sintetizados tal como fueron planificados.

Estos macromonómeros funcionalizados MKA-1 y MKA-2 se utilizaron para sintetizar hidrogeles y copolímeros injertados ya que al tener un grupo vinilo en un extremo de la cadena polimérica pueden polimerizar vía radicales libres para formar estos tipos de polímeros.

Por otro lado, se probó la solubilidad de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 en varios solventes, tales como agua, dimetilsulfóxido y cloroformo. Se encontró que el macromonómero MKA-1 es soluble en agua porque contiene relativamente muchos monómeros polares de 2-etil-2-oxazolina ($n=21$), y la influencia tanto del iniciador como del terminador, que son elementos hidrofóbicos, es baja. En contraste, el macromonómero MKA-2 fue muy poco soluble en agua debido a que contiene en la cadena muy pocos monómeros de 2-etil-2-oxazolina ($n=9$) y por consiguiente la influencia de la hidrofobicidad del anillo aromático del iniciador y del grupo alifático dodecilo del terminador es alta y sobrepasa la polaridad de las pocas unidades de etiloxazolina.

En el espectro $^1\text{H-RMN}$ del macromonómero MKA-1 en agua deuterada a 25°C (Figura 3.3) las señales del grupo vinilo (**a**, **á**, **b**) y los protones aromáticos provenientes del iniciador (clorometilestireno) y las señales provenientes del terminador (por ejemplo, **i** y **j**) tenían una baja intensidad comparadas al espectro de este macromonómero en cloroformo (comparar fig. 3.1 vs Fig. 3.3). Esto puede ser debido a que ambos grupos son apolares (hidrofóbicos) y, por lo tanto, son poco solvatados por las moléculas de agua y básicamente aparecerían en el espectro $^1\text{H-RMN}$ porque están cercanos a los grupos hidrofílicos del mero que si están solvatados por las moléculas de agua. Las señales del mero de la 2-etil-2-oxazolina si se visualizaron en forma normal (grupo metilo, grupo metileno y grupo NCH_2CH_2) debido a que este mero es polar e hidrofílico y son bien solvatados por el agua.

El macromonómero MKA-2 si se disolvió en cloroformo y dimetilsulfóxido por ser solventes de baja polaridad. Se muestran los espectros RMN de MKA-2 en estos solventes en las Figuras 3.2, 3.4 y 3.5. Sin embargo, el macromonómero MKA-2 es insoluble en agua evidenciando este fenómeno que debido al bajo grado de polimerización del macromonómero ($n=9$) los grupos polares hidrofílicos se ven sobrepasados por la hidrofobicidad de los grupos aromático y grupos dodecilo de los extremos de cadena y prácticamente se anula la solubilidad de MKA-2 en agua. Sin embargo, el MKA-2 si es soluble en una mezcla de dimetilsulfóxido y agua (1:1, (v:v)) y se pudo obtener un espectro $^1\text{H-RMN}$ (Figura 3.4). Nuestra explicación es que en este caso las moléculas de DMSO solvatarían a las partes hidrofóbicas del MKA-2 y las moléculas de agua solvatarían a los meros hidrofílicos de etiloxazolina.

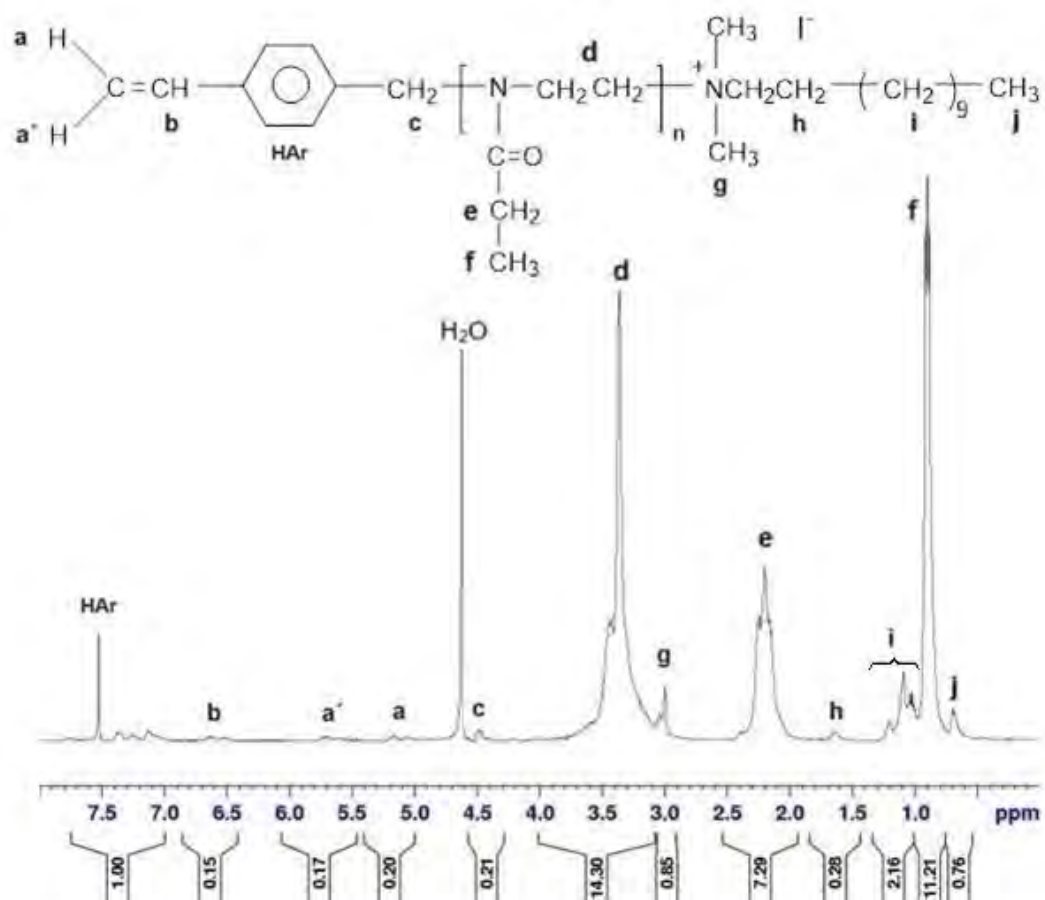


Figura 3.3. Espectro ¹H-RMN de macromonómero MKA-1 en agua deuterada a 25°C.

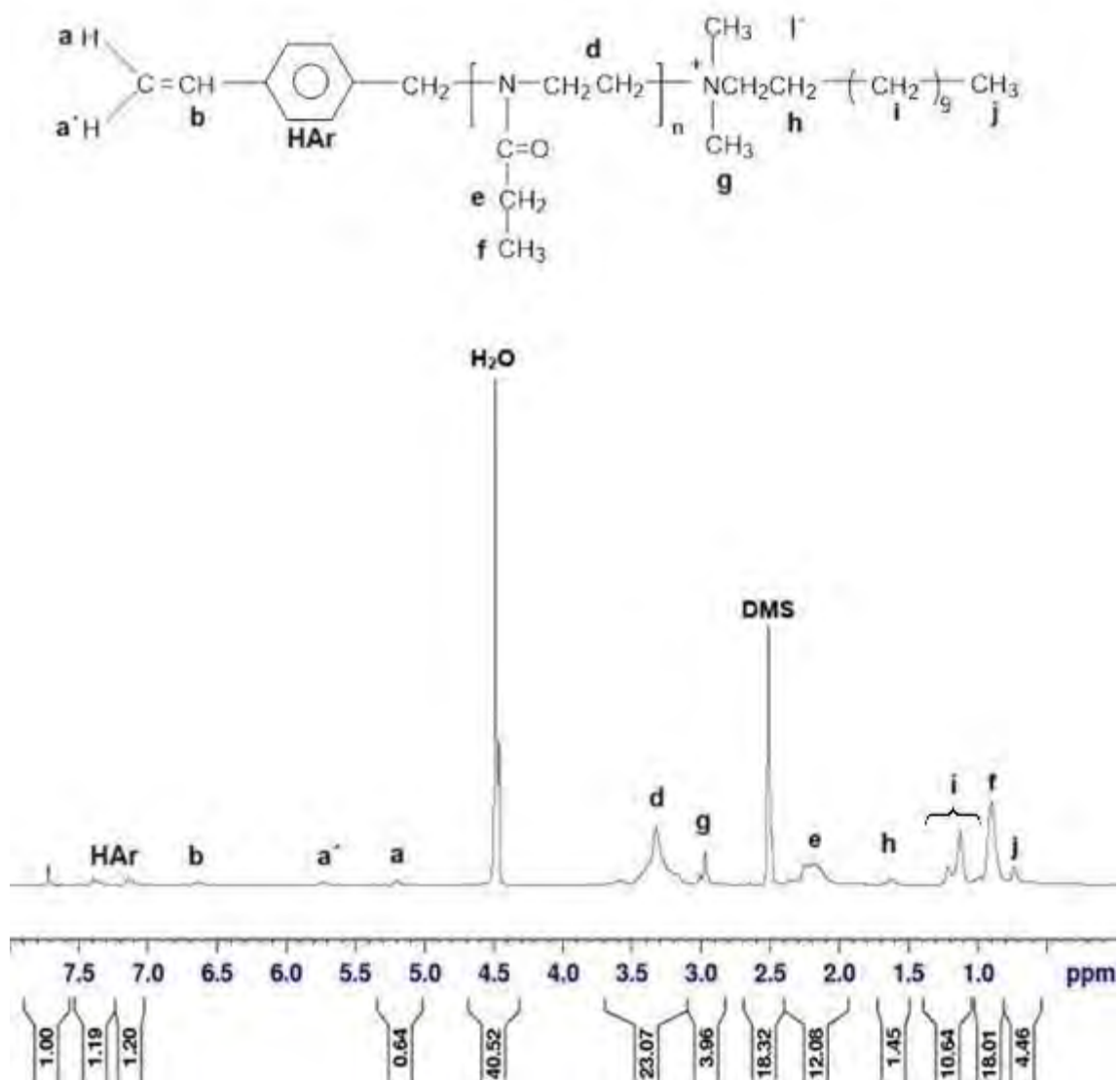


Figura 3.4. Espectro ¹H-RMN de macromonómero MKA-2 en una mezcla 1.1 de agua y dimetilsulfóxido a 25°C.

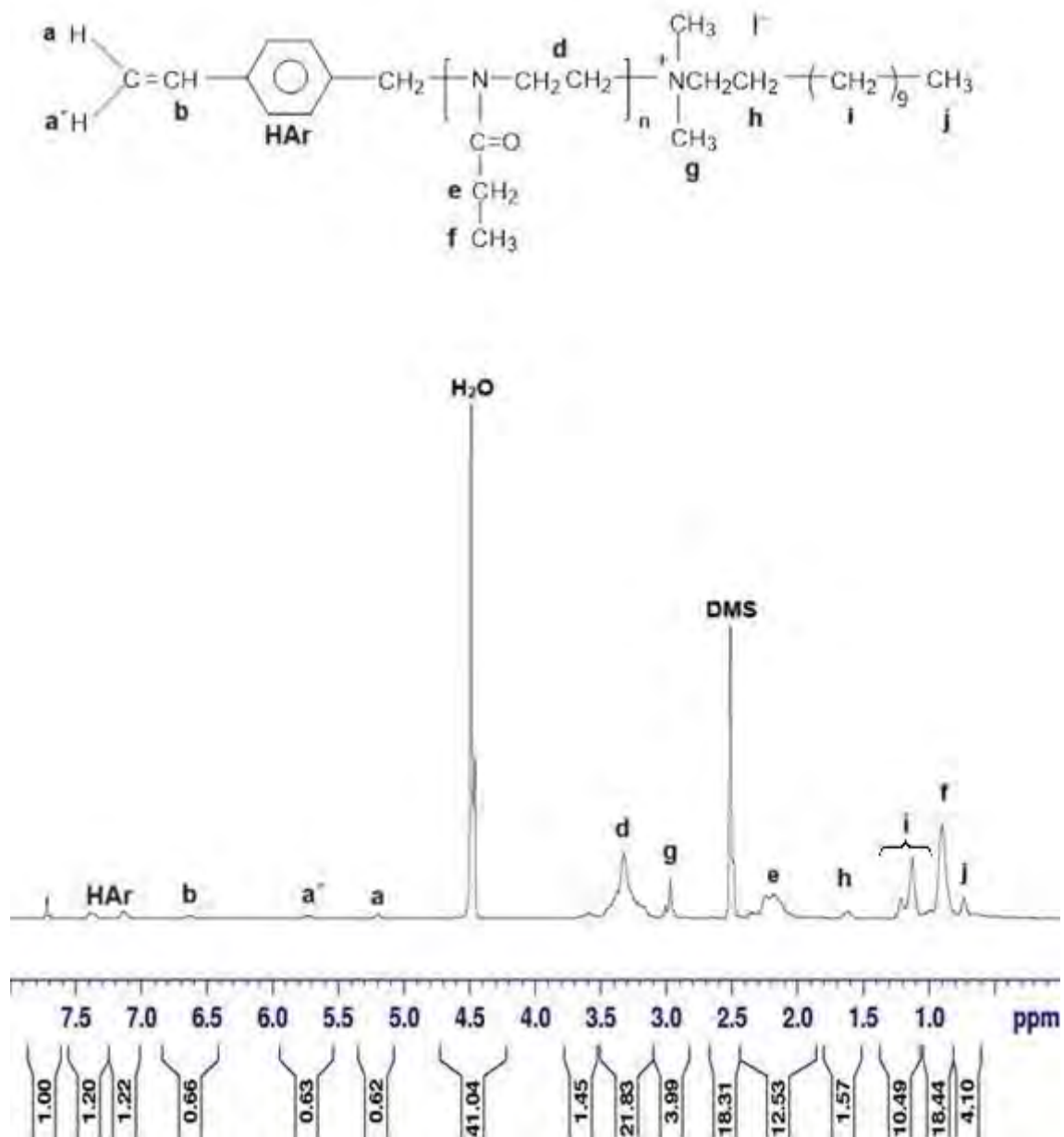
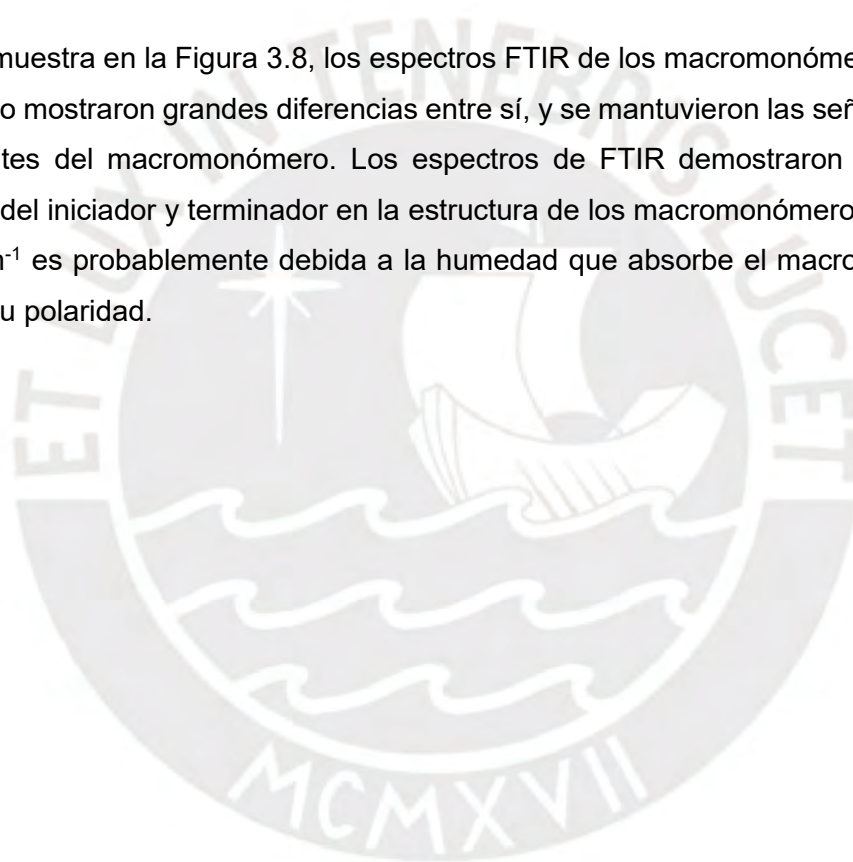


Figura 3.5. Espectro ¹H-RMN de macromonómero MKA-2 en dimetilsulfóxido a 25°C.

Los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 también fueron caracterizados mediante espectroscopia infrarroja (FTIR). Ambos macromonómeros mostraron un espectro similar (Figuras 3.6 y 3.7).

En los espectros FTIR de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 aparece la señal del grupo aromático del iniciador CMS a aproximadamente 3000 cm^{-1} y también se observa las señales del grupo alifático del monómero (Etoxa) y del terminador (DMDA) en 2975 y 2976 cm^{-1} . La señal del grupo amonio del terminador aparece entre 2000 a 2500 cm^{-1} y la señal del grupo carbonilo del grupo amida del mero del macromonómero (2-etil-2-oxazolona) aparece en 1625 cm^{-1} , y finalmente el grupo aromático del iniciador aparece también en 1060 cm^{-1} .

Como se muestra en la Figura 3.8, los espectros FTIR de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 no mostraron grandes diferencias entre sí, y se mantuvieron las señales de los componentes del macromonómero. Los espectros de FTIR demostraron también la presencia del iniciador y terminador en la estructura de los macromonómeros. La señal a 3440 cm^{-1} es probablemente debida a la humedad que absorbe el macromonómero debido a su polaridad.



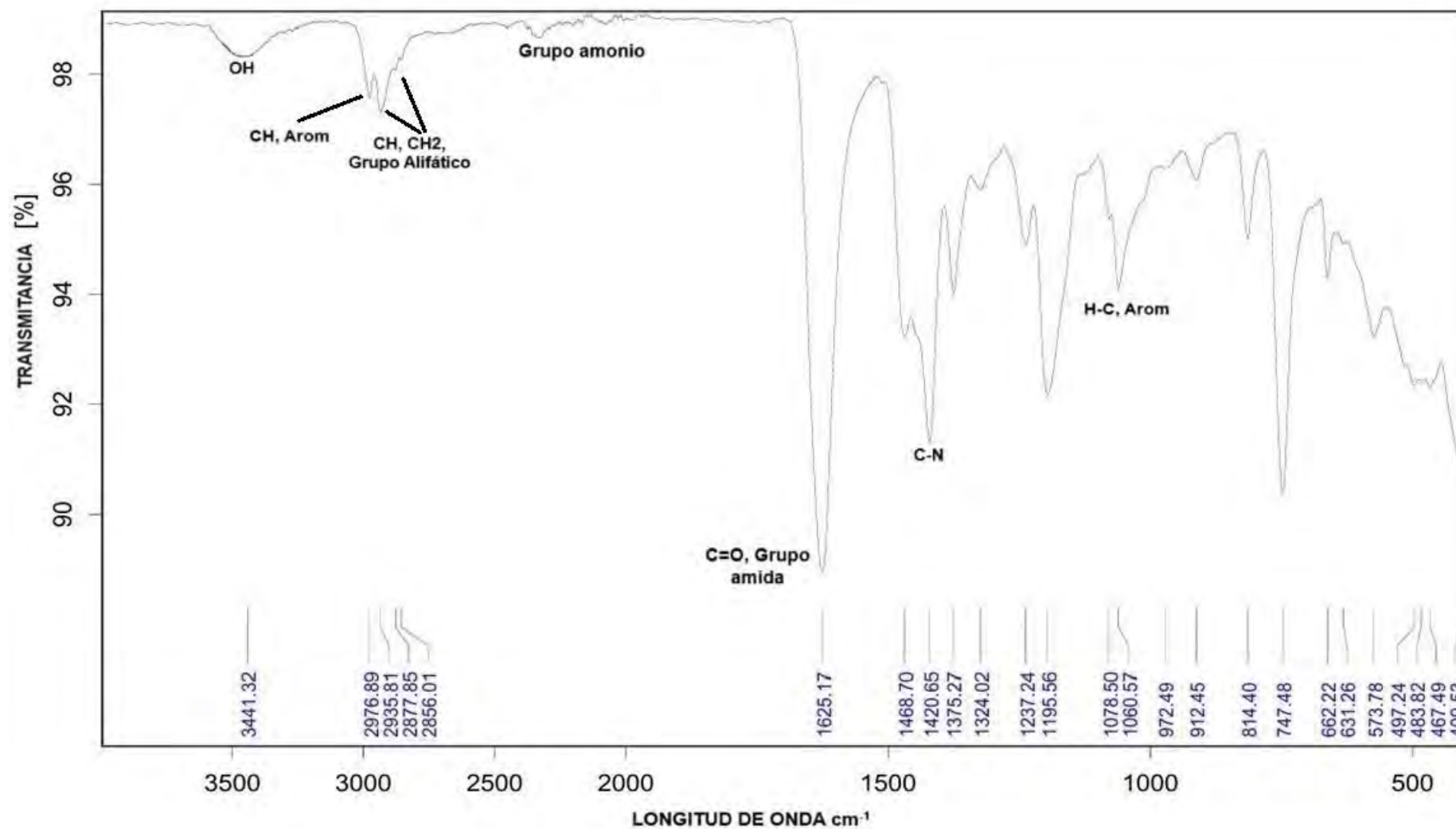


Figura 3.6. Espectro FTIR del macromonómero MKA-1.

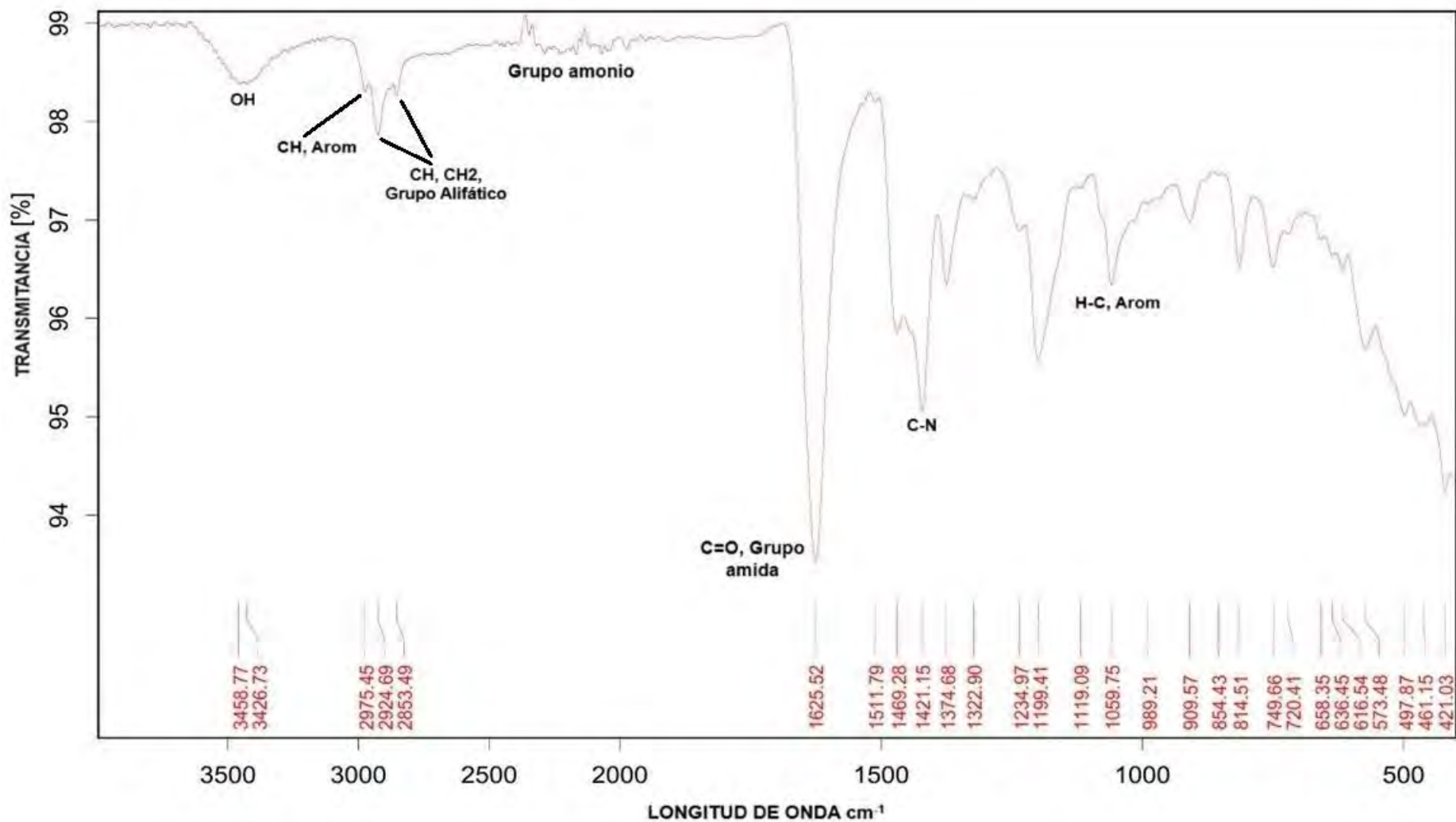


Figura 3.7. Espectro FTIR del macromonómero MKA-2.

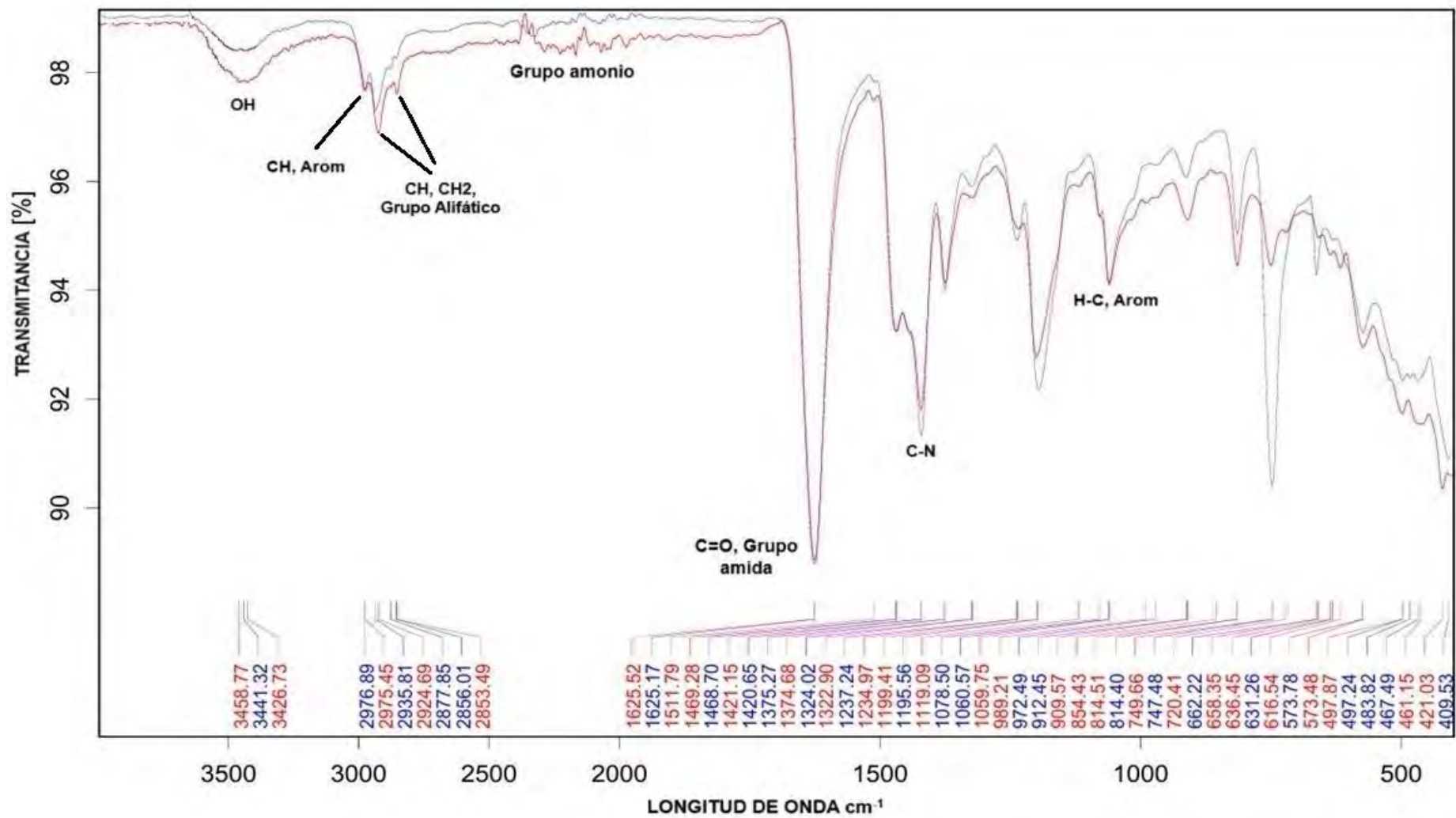
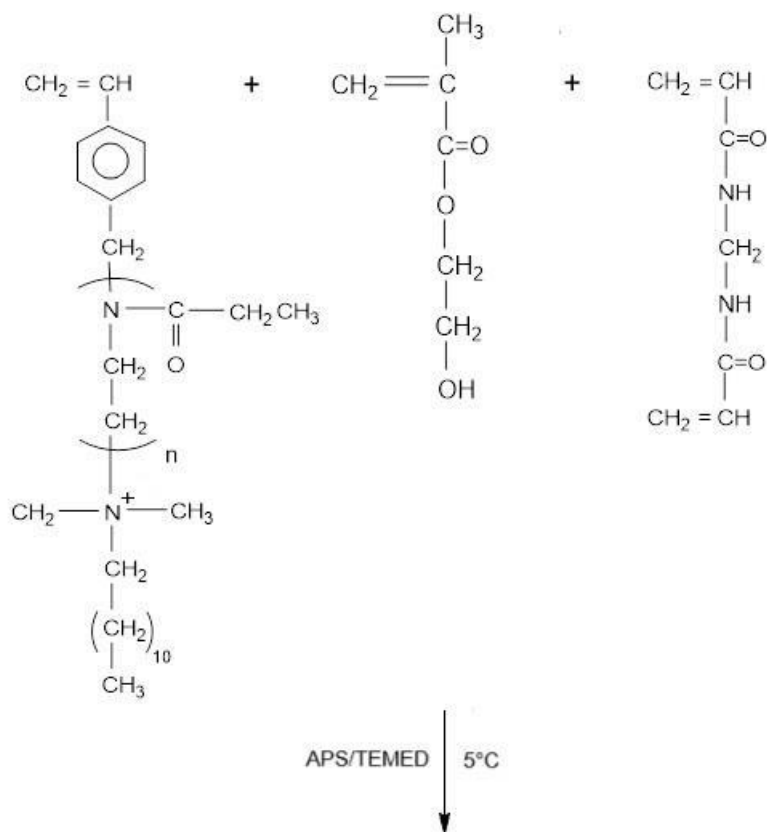


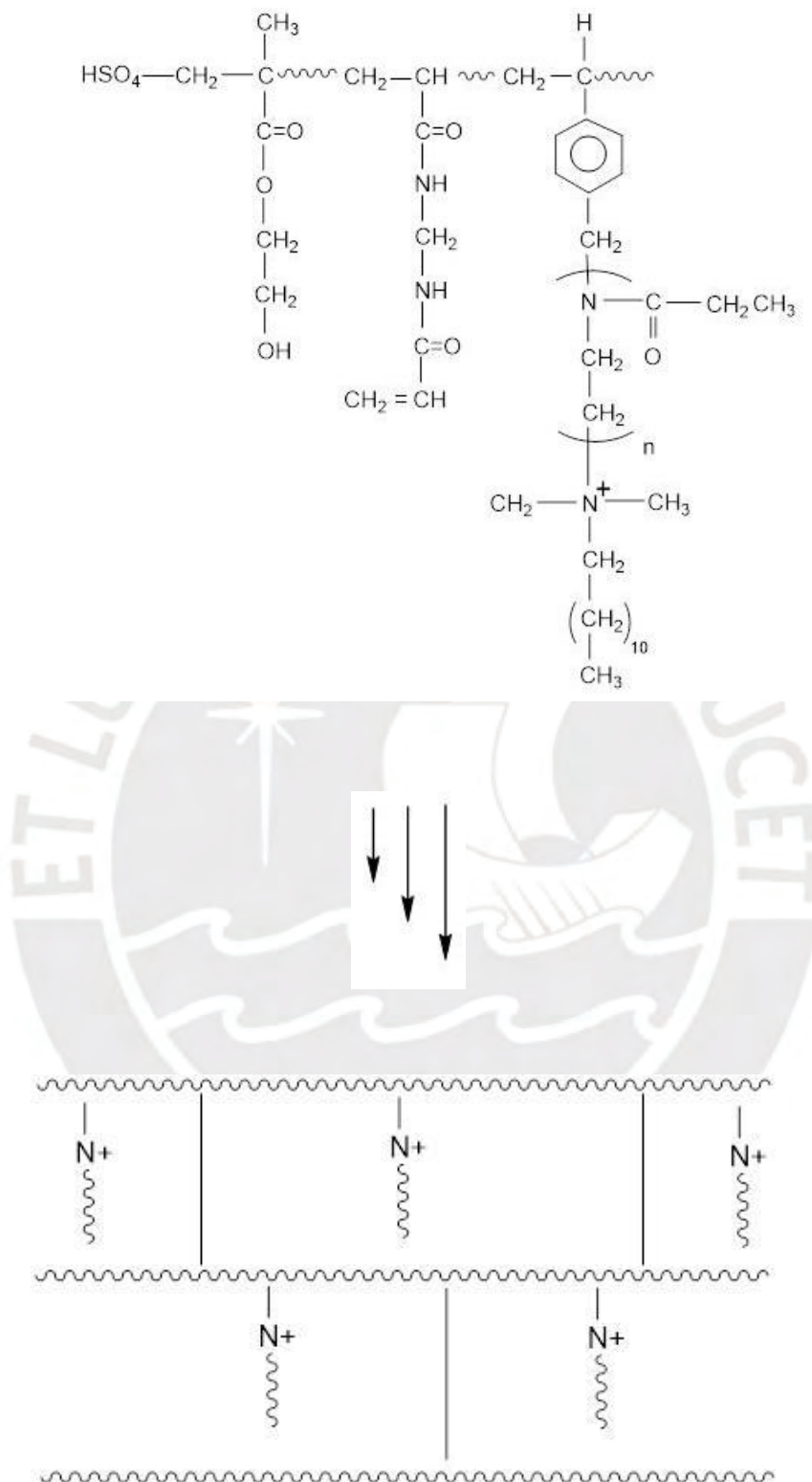
Figura 3.8. Espectro FTIR de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2.

3.2. Síntesis y caracterización de los hidrogeles

Se realizó la síntesis de hidrogeles mediante la polimerización por radicales libres de los macromonómeros de 2-etil-2-oxazolina (MKA-1 y MKA-2), el monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA) y el monómero N,N-metilenobisacrilamida (BIS). Se usó como sistema iniciante al persulfato de amonio (APS), combinado con el catalizador N,N,N',N'- tetrametiletilendiamina (TEMED). La síntesis fue llevada a cabo en una mezcla de etanol y agua. La reacción de síntesis se realizó a una temperatura de 5°C por un tiempo de 24 horas bajo atmósfera de nitrógeno. Ver Esquema 3.3.



Continuación...



Esquema 3.3: Síntesis de los hidrogeles a partir de los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 de 2-oxazolina y el hidroxietilmetacrilato (HEMA).

Para la síntesis de hidrogeles se usó una baja temperatura de reacción (baño de agua y hielo, 0-5°C) con el propósito de disminuir la velocidad de reacción, debido a que la

polimerización por radicales libres con iniciadores de tipo redox (como es el caso del persulfato de amonio y el Temed) es muy rápida si se realiza a temperatura ambiente y también se colocó la mezcla de reacción en un molde de vidrio y se puso en el refrigerador para completar la polimerización radicalar en forma lenta a 5°C. La formación del hidrogel se produjo aproximadamente en 20 minutos de reacción, pero se dejó reaccionar el sistema durante 24 horas. El monómero BIS funcionó como el entrecruzador en la polimerización ya que contuvo dos funciones vinilo y por esto polimerizó con ambos grupos y conectó los diferentes macroradicales propagantes y originó la gelación obteniéndose un material con una red tridimensional con la capacidad de absorber agua (debido a la polaridad de los componentes) o sea un hidrogel. También hay que mencionar que el monómero HEMA es el que otorgó estabilidad mecánica al hidrogel obtenido. En la Tabla 3.2 se muestran las condiciones de reacción y los resultados obtenidos. También se elaboró un hidrogel de HEMA “puro” para que sirva como blanco o hidrogel de referencia (HGA1).

En la síntesis de los hidrogeles se usó una relativamente alta proporción molar de macromonómero a HEMA, por ejemplo, una proporción de 1/5 o de 1/10 y esto se hizo así para intentar conseguir una alta concentración del grupo amonio cuaternarios del macromonómero en el hidrogel. En la síntesis de los hidrogeles se usó también un porcentaje de iniciador menor o igual al 2.2% molar (respecto de la suma de monómeros) e igualmente el contenido de entrecruzador BIS fue relativamente alto y menor o igual al 10% molar. Estos porcentajes de iniciador APS y de BIS son relativamente altos y mayores a lo que normalmente se usa en la síntesis de hidrogeles y se hizo de esta forma para conseguir una gelación efectiva del sistema reaccionante donde participen o se incorporen todos sus componentes. Se debe mencionar que los macromonómeros, debido a que son polímeros, presentan una dificultad para reaccionar ya que, a comparación de los monómeros de bajo peso molecular, muestran una baja movilidad o baja difusibilidad en el medio reaccionante y por esto se debe usar un mayor contenido de iniciador que posibilita una mayor generación de radicales y así mismo se debe usar un mayor contenido de BIS para obtener una gelación mediante el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas.

El experimento HGA3 no llegó a formar hidrogel aun cuando se usó una excesiva cantidad de entrecruzador de 21% molar. Esto se debió a que al no usar comonómero el macromonómero de difícil difusión no consigue polimerizar cuando esta solo en el sistema de reacción. En otros experimentos se redujo la proporción de entrecruzador a 5% a 8% molar.

También los experimentos HGA8 y HGA9 no gelaron debido a que en estos

experimentos se usó una proporción demasiado alta del macromonómero respecto del HEMA y entonces, debido a la ya mencionada dificultad de reacción de los macromonómeros por su baja difusión en el medio reaccionante no se consiguió obtener hidrogeles a pesar de que en estos experimentos se usó una gran proporción de BIS de 8% molar.

Debido a la relativamente alta proporción del entrecruzador BIS en todos los experimentos se obtuvo hidrogeles con una baja absorción de agua (< 5 gramos de agua/gramo de hidrogel) ya que la reacción con el BIS proporciona un alto grado de entrecruzamiento y se obtuvo poros del hidrogel mucho más cerrados y por consiguiente con baja capacidad de absorber agua. Desde el inicio la idea era obtener hidrogeles “duros”, con baja absorción de agua, pero una buena propiedad mecánica y se consiguió también el más alto contenido posible de macromonómeros, lo cual era el objetivo. Los rendimientos de los hidrogeles estuvieron en el rango entre 68 al 92%. Los cálculos detallados de la síntesis de los hidrogeles se muestran en el anexo V.

Se debe mencionar también que el experimento HGA3 no llegó a gelar debido a que en este caso no se usó el monómero HEMA y solo se usó el macromonómero y debido a la ya mencionada dificultad de difusión de estos polímeros no hubo el suficiente grado de reactividad para formar un entrecruzamiento y formar un hidrogel.

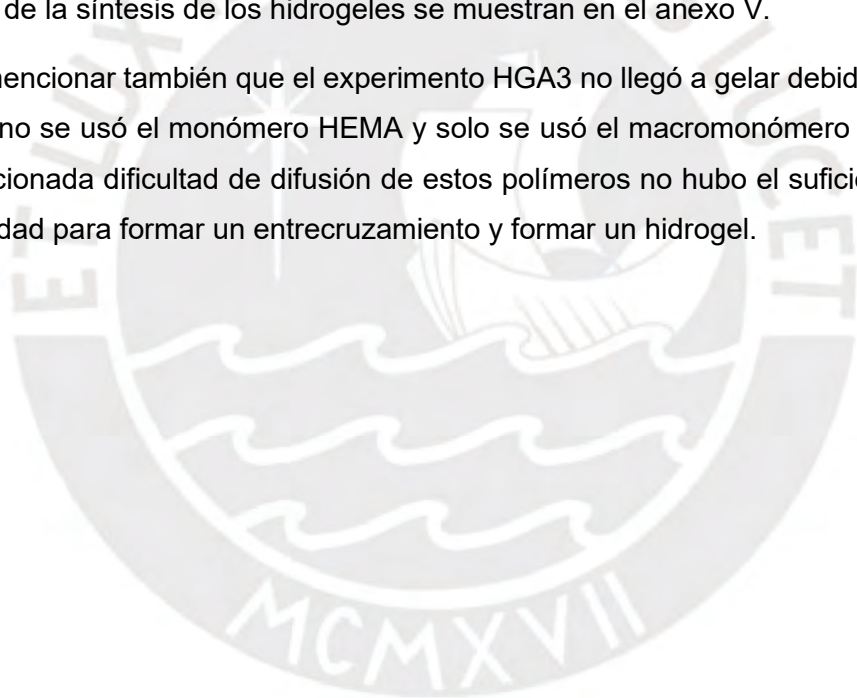


Tabla 3.2. Síntesis de hidrogeles. Condiciones de reacción y resultados.

HGA ^a	MKA ^b (mmol)		HEMA ^c (mmol)	BIS ^d (mmol)	APS ^e (mmol)	TEMED ^f (mmol)	R ₁ ^g	Gelación ^h	% Bis ⁱ	% Iniciador ^j	Abs. de agua ^k	Rend. % ^l
	MKA-1	MKA-2										
HGA1	-	-	3.927	0.115	0.058	0.115	-	Geló	3	1.5	5.12	95
HGA2	0.350	-	3.212	0.117	0.116	0.117	9	Geló	3	1.6	2.8	78
HGA3	0.204	-	0	0.043	0.011	0.181	0	No Geló	21	5	-	-
HGA4	-	0.384	3.463	0.193	0.066	0.189	9	Geló	5	1.7	2.18	68
HGA5	0.640	-	3.204	0.188	0.077	0.189	5	Geló	5	2.2	1.55	75
HGA6	0.650	-	3.252	0.321	0.082	0.207	5	Geló	8	2.2	2.03	92
HGA7	-	0.650	3.252	0.310	0.087	0.190	5	Geló	8	2.2	1.67	70
HGA8	-	0.582	1.325	0.148	0.041	0.082	2.3	No Geló	8	2.2	-	-
HGA9	0.289		0.758	0.085	0.023	0.046	2.6	No Geló	8	2.2	-	-

Donde:

a: Hidrogeles (HGA)

b: Macromonómeros MKA-1 y MKA-2

c: Hidroxietilmetacrilato (HEMA)

d: N,N'-metilenobisacrilamida (BIS)

e: Persulfato de amonio (APS)

f: N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED)

g: Relación molar de HEMA/MKA al inicio de la polimerización

h: El término "Gelación" indica la formación de un hidrogel

i: Bisacrilamida (BIS), agente entrecruzador: relación molar porcentual de BIS respecto de la suma del MKA y HEMA.

j: % iniciador: relación molar porcentual del APS respecto a la suma del MKA y HEMA.

k: Absorción de Agua

l: Rendimiento (%): $100 \times (\text{peso HGA obtenido} / (\text{suma de los pesos de reactantes (MKA, HEMA, BIS)}))$

Temperatura de reacción: en todos los casos se usó una temperatura de 5°C

Tiempo de reacción: en todos los casos el tiempo de reacción fue de 24 horas,

TEMED/APS: En todos los experimentos se usó una doble cantidad de moles de TEMED respecto al APS.

- En el caso de los hidrogeles HGA1, HGA2 y HGA3 se usó como iniciador al peroxidisulfato de potasio (KPS) en lugar del APS. Y se usó además como solvente 4 ml de etanol.

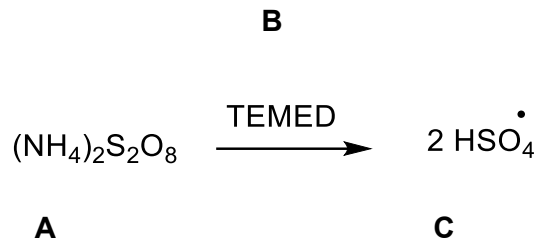
- El HGA1 es un hidrogel que en su estructura no contiene grupo de amonio cuaternario (hidrogel "blanco"), por lo cual no tiene capacidad antibacterial.

El mecanismo propuesto para la síntesis de los hidrogeles es el siguiente (Esquema 3.4.):

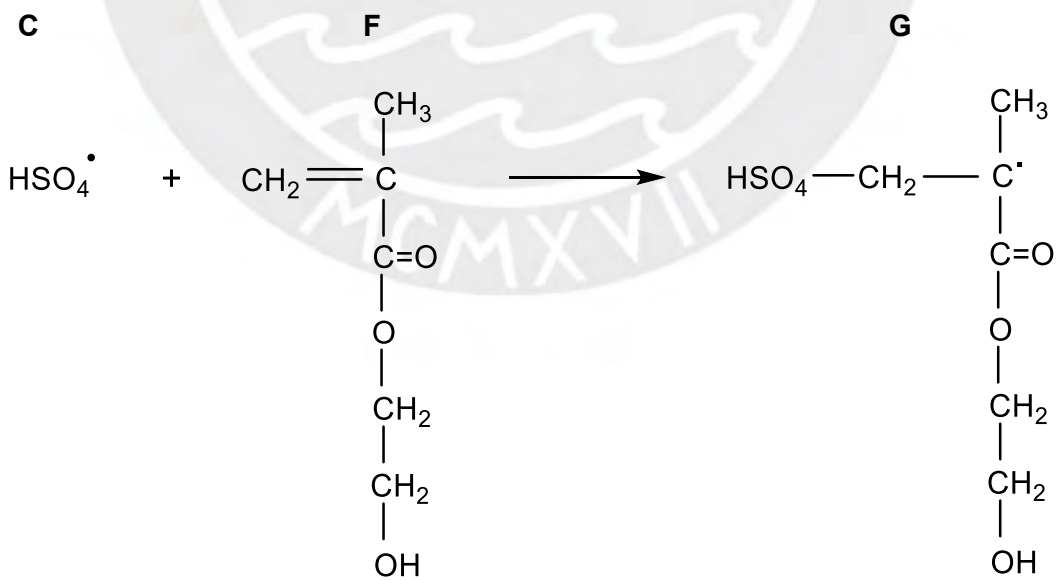
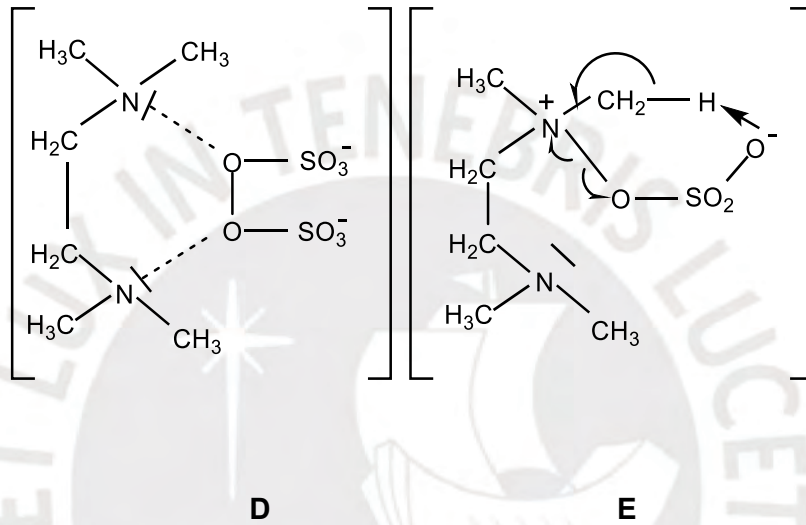
La síntesis del hidrogel comienza mediante la generación de radicales libres por el sistema de iniciación redox compuesto por el persulfato de amonio (APS) **A** y el catalizador N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED) **B**. Estos compuestos reaccionan y se postula en la literatura que se forma como producto el radical **C**, y también la formación de un complejo de transferencia de carga **D** y el complejo de estado de transición cíclica **E** (Feng et al., 1988). Al estar el catalizador TEMED en exceso respecto del APS se asume que todo el iniciador APS genera los radicales libres iniciantes. Luego los radicales libres generados **C** atacan a las moléculas del monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA) **F**, y forman los radicales propagantes **G**.

En la fase de propagación el radical propagante **G** reacciona de forma aleatoria con hidroxietilmetacrilato (HEMA) **F**, y también con los monómeros N,N'-metilenobisacrilamida (BIS) **H** y con el macromonómero de 2-etil-2-oxazolona (MKA) **I**, atacando al doble enlace del grupo vinilo de cada monómero y se forma una cadena polimérica con unidades polimerizadas de HEMA, BIS y Macromonómero MKA (copolímero **L**). Como el monómero metilenobisacrilamida (BIS) **H** contiene dos grupos vinilo actúa como entrecruzador o reticulador ya que puede polimerizar con ambos grupos vinilo y entonces conecta entre sí a las macromoléculas generadas en la propagación y de esta manera se forma una estructura tridimensional (gelación) **M** o un hidrogel ya que los monómeros de partida son compuestos polares.

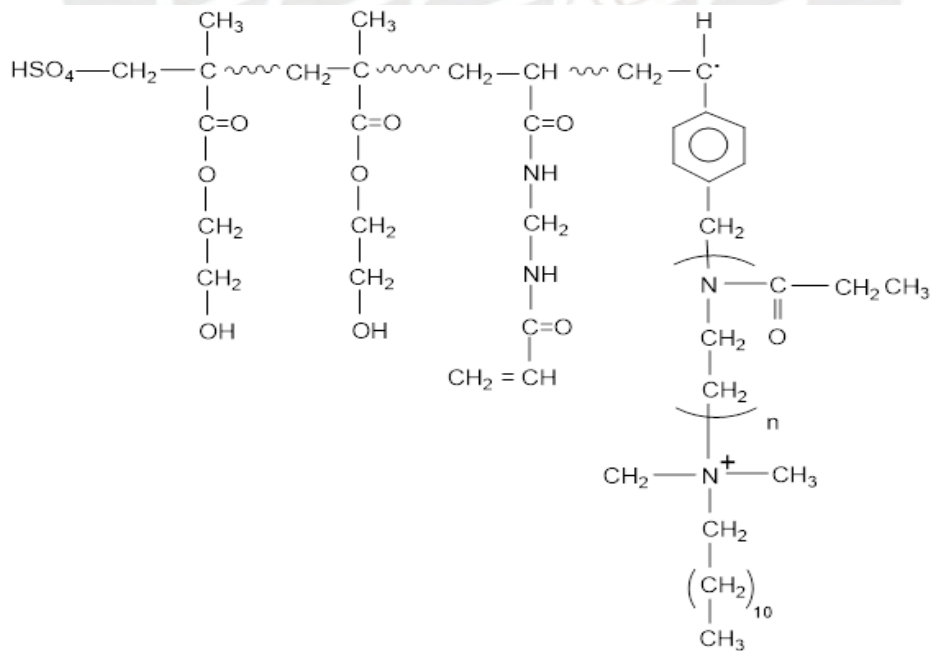
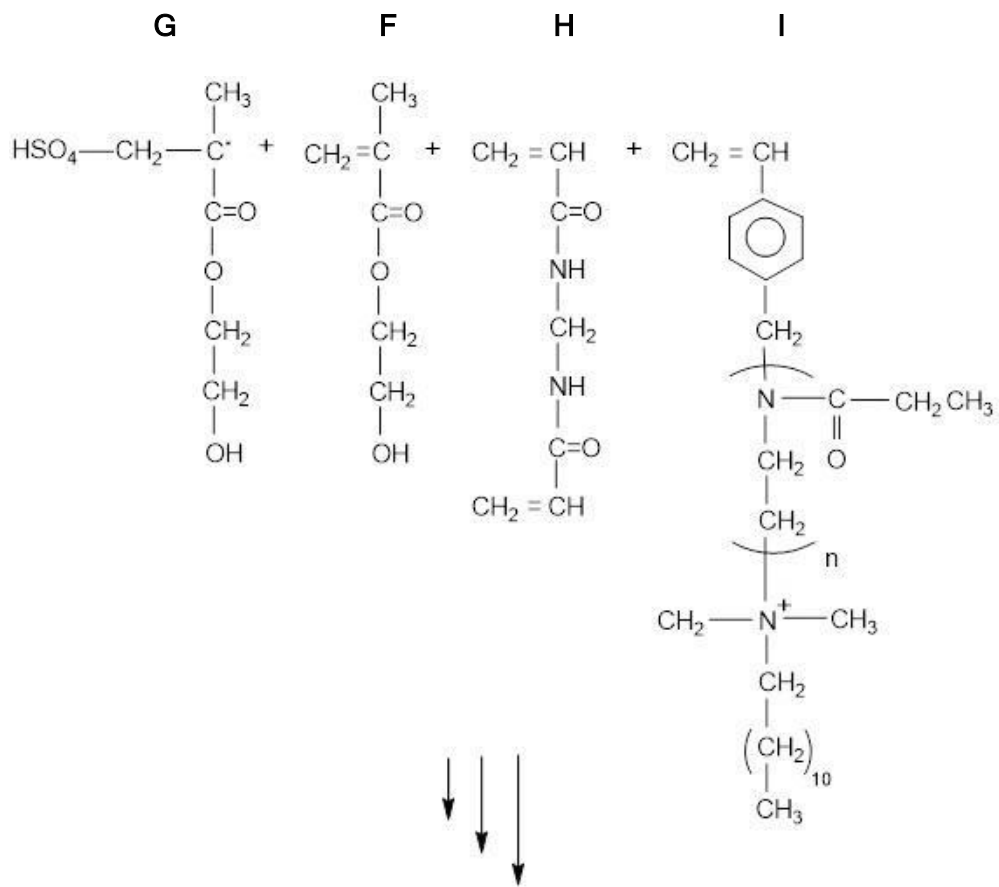
Iniciación:



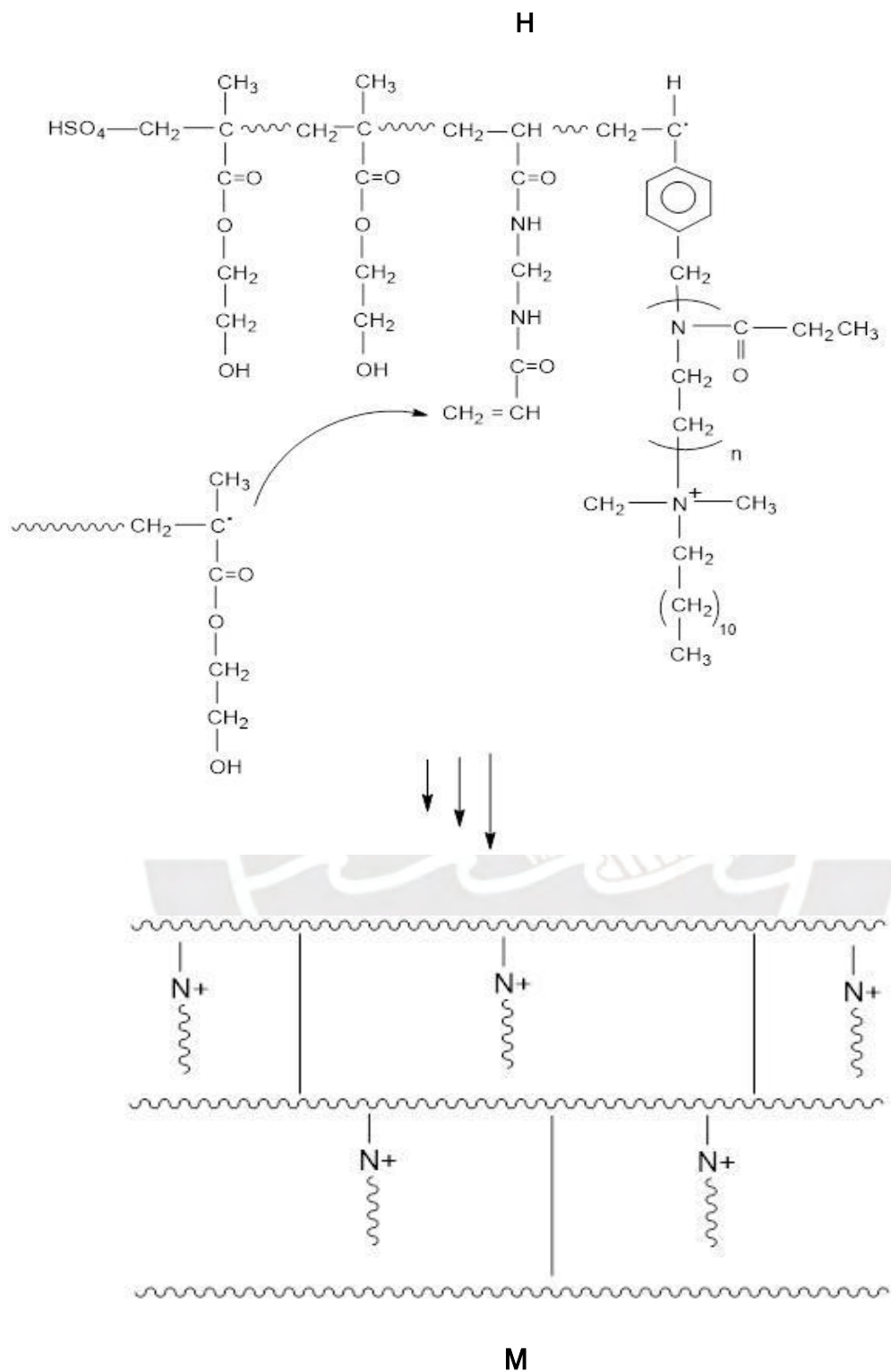
+



Propagación y entrecruzamiento:



Continuación....



Esquema 3.4: Mecanismo de polimerización para la elaboración de los hidrogeles.

Los hidrogeles HGA1, HGA4, HGA5, HGA6, HGA7, HGA8 y HGA9 se caracterizaron por FTIR.

En la Figura 3.9 se muestra el Hidrogel HGA1, el cual fue un hidrogel usado como

referencia ya que se sintetizó solo con monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA) y el entrecruzador metilenobisacrilamida (BIS) y sin macromonómero. Se observa en su espectro FTIR la señal que corresponde al grupo -OH del poliHEMA en 3372 cm^{-1} indicando enlace de hidrógeno, también la señal de los grupos alifáticos (CH_2) en el rango $2884\text{-}2947\text{ cm}^{-1}$, la señal del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) en 1706 cm^{-1} que corresponde al grupo éster del PoliHEMA (Vargün y Usanmaz, 2010; Ma et al., 2012).

En la Figura 3.10 se muestra, a modo de ejemplo, el espectro FTIR del hidrogel HGA4, el cual se sintetizó con el monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA), el entrecruzador metilenobisacrilamida (BIS) y también el macromonómero MKA-2. Se observa la señal de -OH en 3385 cm^{-1} , indicando enlace de hidrógeno, la señal del grupo (CH, aromático) en el rango 3050 cm^{-1} , la señal del grupo alifático (CH_2) en el rango $2856\text{-}2937\text{ cm}^{-1}$, del grupo amonio, en el rango de $1850\text{ a }2100\text{ cm}^{-1}$, del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) en 1719 cm^{-1} del éster del Poli HEMA, y la señal del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) de la amida del MKA-2 en 1623 cm^{-1} , y las señales del grupo ($-\text{CH}_2$) en 1448 cm^{-1} , del grupo ($-\text{C}-\text{N}$) en 1153 cm^{-1} y del grupo (H-C) del grupo aromático en 1076 cm^{-1} (CMS). En forma similar, en los espectros FTIR de los demás hidrogeles también se encontraron las mismas señales. Las señales mencionadas permiten establecer cualitativamente que el HEMA y el macromonómero se encuentran incorporados dentro de la estructura del hidrogel. Especialmente importantes son las señales de los grupos del carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) del éster del hidroxietilmetacrilato (HEMA) y del carbonilo de la amida del macromonómero de 2-etil-2-oxazolona (MKA-2) y la señal del grupo amonio cuaternario del macromonómero.

Adicionalmente en el ANEXO II se muestran los espectros FTIR del PHEMA, hidrogeles individuales analizados y también la comparación de HGA1/HGA4, HGA1/HGA6, HGA1/HGA7, HGA6/HGA7 y PHEMA/HGA8/HGA9. Ver Figuras 5.9 al 5.19 en anexo II.

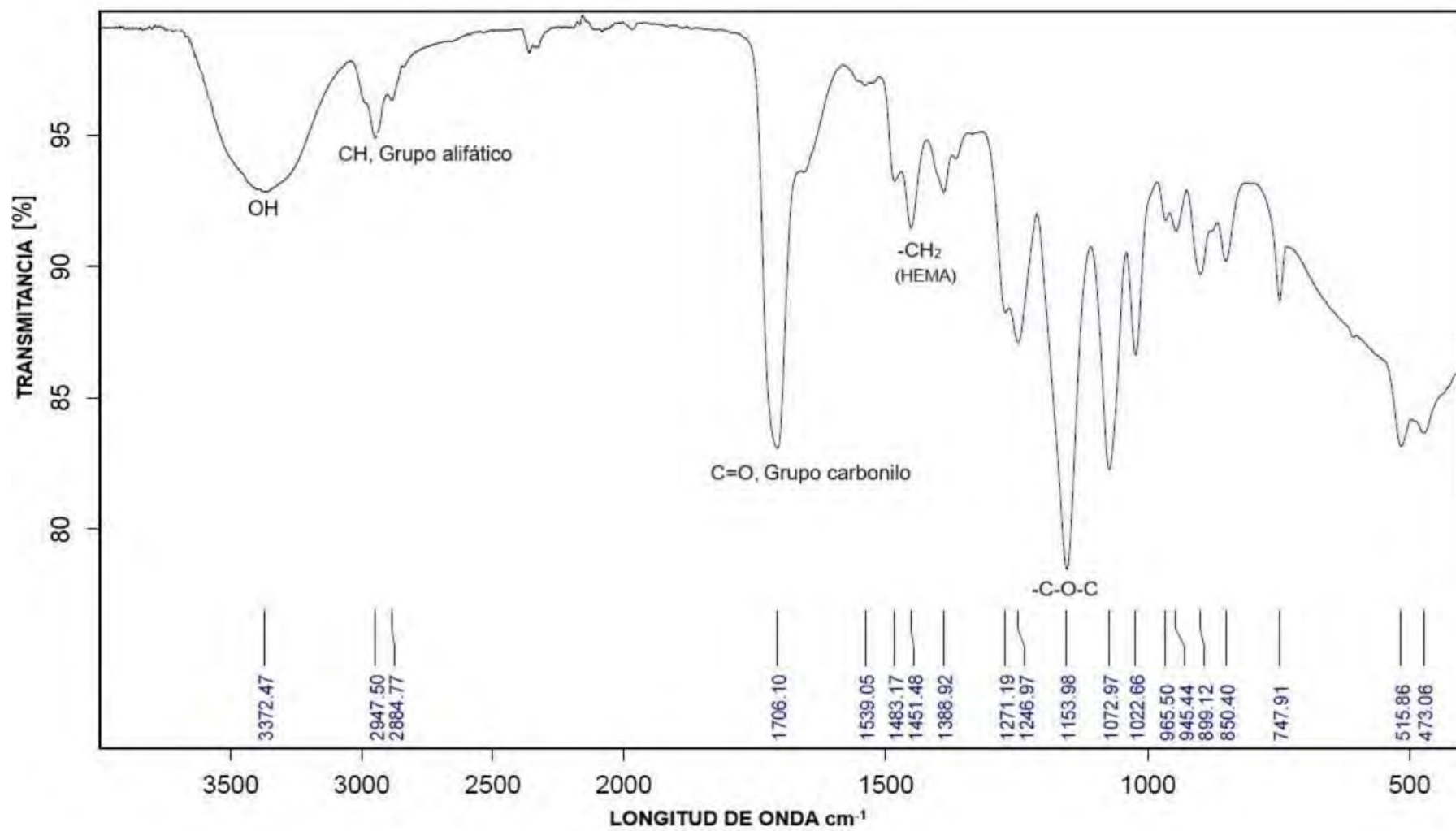


Figura 3.9. Espectro FTIR de hidrogel HGA1 hidroxietilmetacrilato (HEMA).

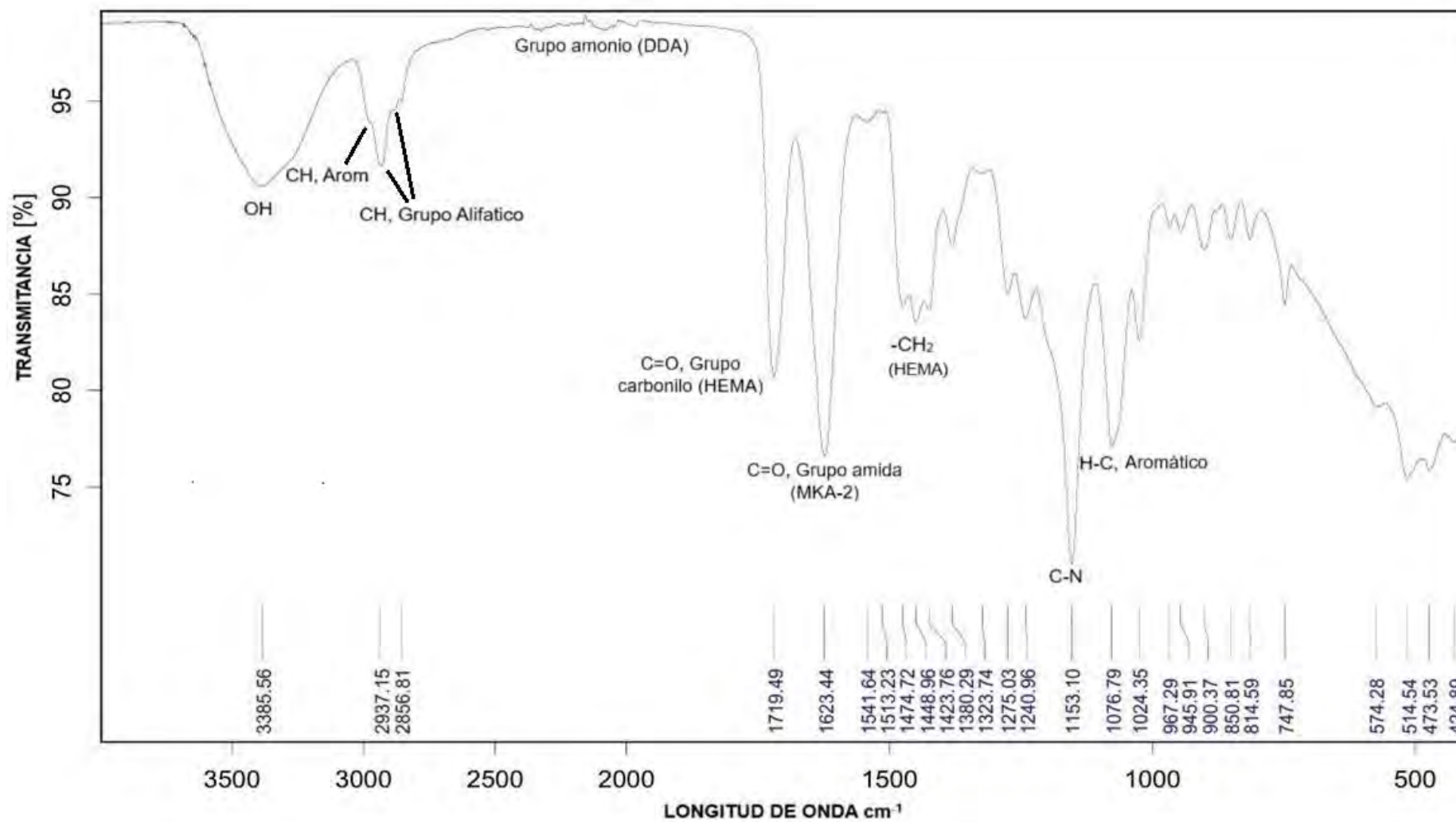


Figura 3.10. Espectro FTIR de hidrogel HGA4 que contiene el macromonómero MKA-2 y el HEMA.

También se caracterizó por resonancia magnética nuclear ^1H -RMN la muestra denominada HGA9 que en realidad no llegó a gelar. En el espectro ^1H -RMN de esta muestra se detectaron las señales del macromonómero (MKA-1) y del monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA). Se observaron las señales del grupo vinilo del macromonómero lo cual significa que el macromonómero no polimerizó o polimerizó solo parcialmente con el HEMA debido al bajo contenido de iniciador y a que se usó una muy alta proporción de macromonómero a HEMA de 3/1 y de esta forma el sistema de reacción fue muy viscoso lo que impidió su buena difusión en el medio reaccionante debido al carácter polimérico del macromonómero (Odian 2004, Hoogenboom 2009) (Figura 3.11).

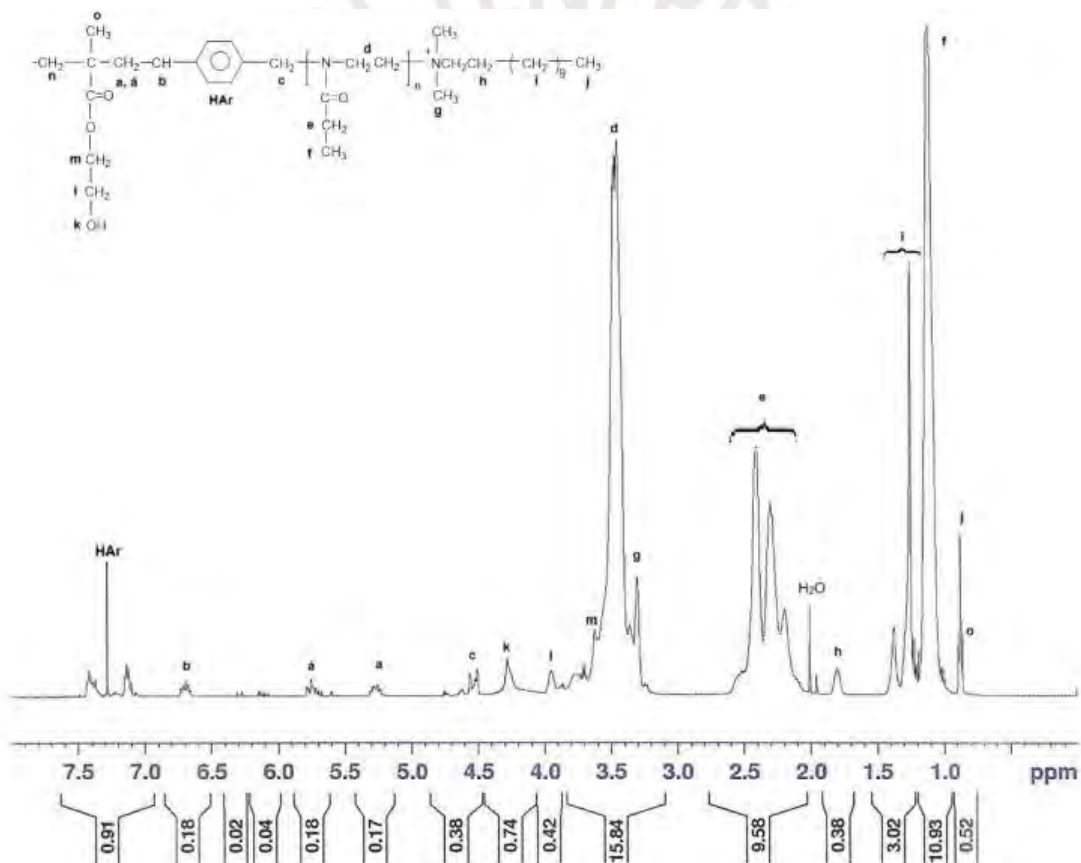


Figura 3.11.- Espectro ^1H RMN del experimento HGA9 en cloroformo deuterado a 25°C.

c: Hidroxietilmetacrilato (HEMA).

d: Azobisisobutironitrilo (AIBN).

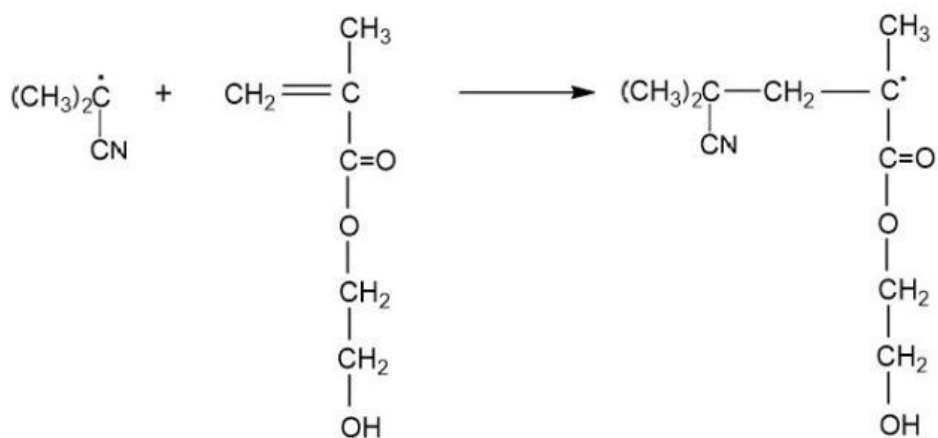
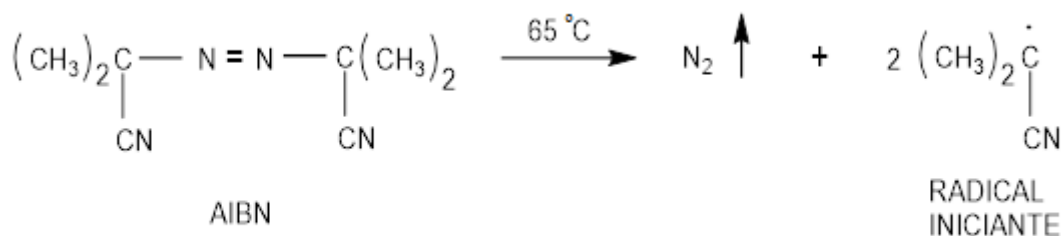
e: Relación molar de HEMA/MKA al inicio de la polimerización.

f: % iniciador= $100 \times (\text{moles de AIBN}) / (\text{suma de moles de MKA y HEMA})$.

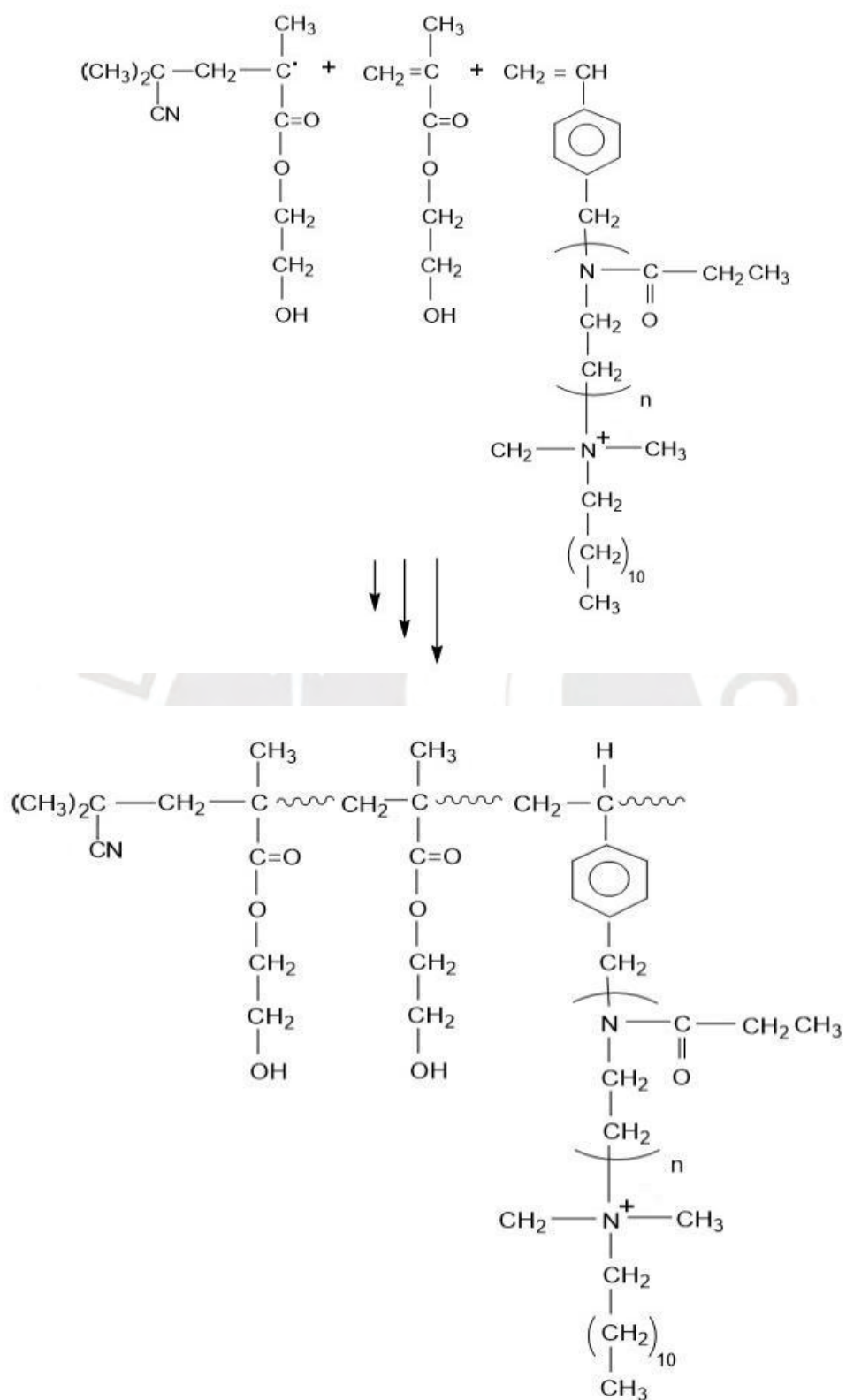
Temperatura de reacción: en todos los casos se usó una temperatura de 65°C.

Tiempo de reacción: en todos los casos el tiempo de reacción fue de 24 horas.

Se propone el siguiente mecanismo de reacción para la síntesis de los copolímeros injertados: El iniciador Azoisobutironitrilo (AIBN) se disocia a una temperatura de 65°C, produciendo nitrógeno y dos radicales iniciantes. Luego, los radicales libres generados durante el proceso de iniciación atacan a las moléculas del monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA), generando los radicales propagantes. Estos radicales propagantes reaccionan de forma aleatoria, con el macromonómero 2-etil-2-oxazolina (MKA) y el monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA), formando un copolímero injertado (Esquema 3.6.) ya que la cadena polimérica del macromonómero pasa a ser la cadena lateral del copolímero injertado.



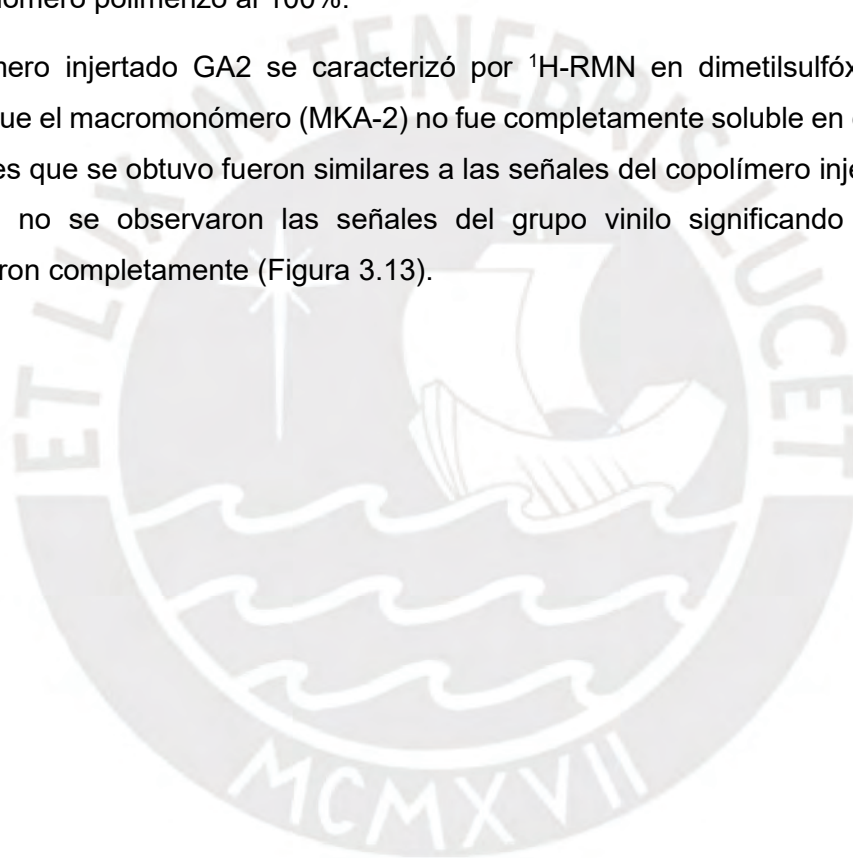
Continuación...



Esquema 3.6: Mecanismo de reacción en la síntesis de copolímero injertado.

Los copolímeros injertados se caracterizaron por ^1H -RMN. En la Figura 3.12 se muestra el espectro ^1H RMN del copolímero injertado GA1 donde se demostró la presencia del monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA) y del macromonómero 2-etil-2-oxazolona (MKA-1) en el mismo. Se registró las señales del poliHEMA **a** en 4.9 ppm (OH), **b** a 3.9 ppm (CH_2), **c** a 3.7 ppm (O-CH_2) y **d** a 0.8 ppm (C-CH_3) lo que demuestra que el monómero del hidroxietilmetacrilato (HEMA) se encuentra acoplada en el copolímero injertado. Las señales **l** a 3.5 ppm ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2$), **m** a 3.4 ppm, **j** a 2.4 ppm, **n** a 1.8 ppm ($\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$), **o** a 1.25 ppm, **k** a 1.1 ppm, **p** a 0.9 ppm (CH_3) muestran la presencia del macromonómero (MKA-1) en el copolímero injertado. Se observó también que las señales del grupo vinilo del macromonómero desaparecieron significando esto que el macromonómero polimerizó al 100%.

El copolímero injertado GA2 se caracterizó por ^1H -RMN en dimetilsulfóxido (DMS) debido a que el macromonómero (MKA-2) no fue completamente soluble en cloroformo. Las señales que se obtuvo fueron similares a las señales del copolímero injertado GA1 y también no se observaron las señales del grupo vinilo significando que éstos polimerizaron completamente (Figura 3.13).



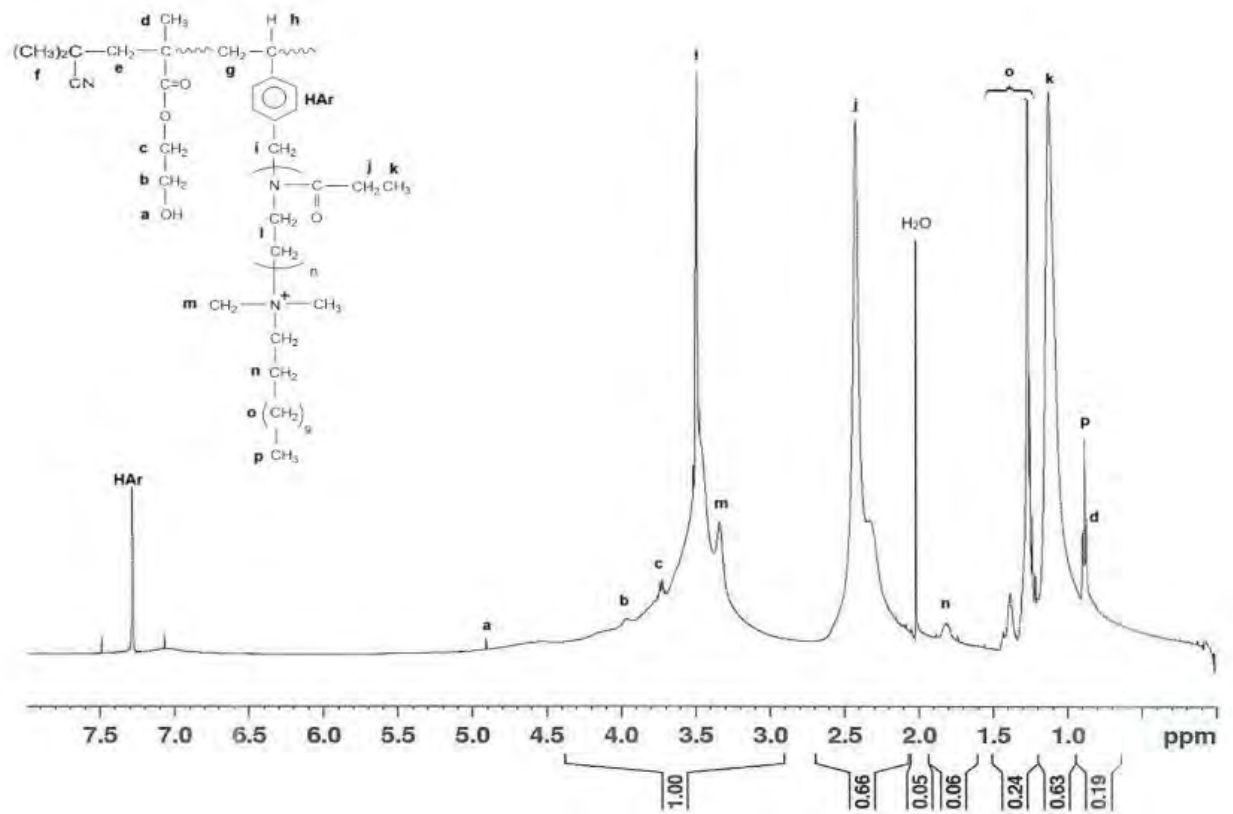


Figura 3.12. Espectro ¹H-RMN de copolímero injertado GA1 en cloroformo deuterado a 25°C.

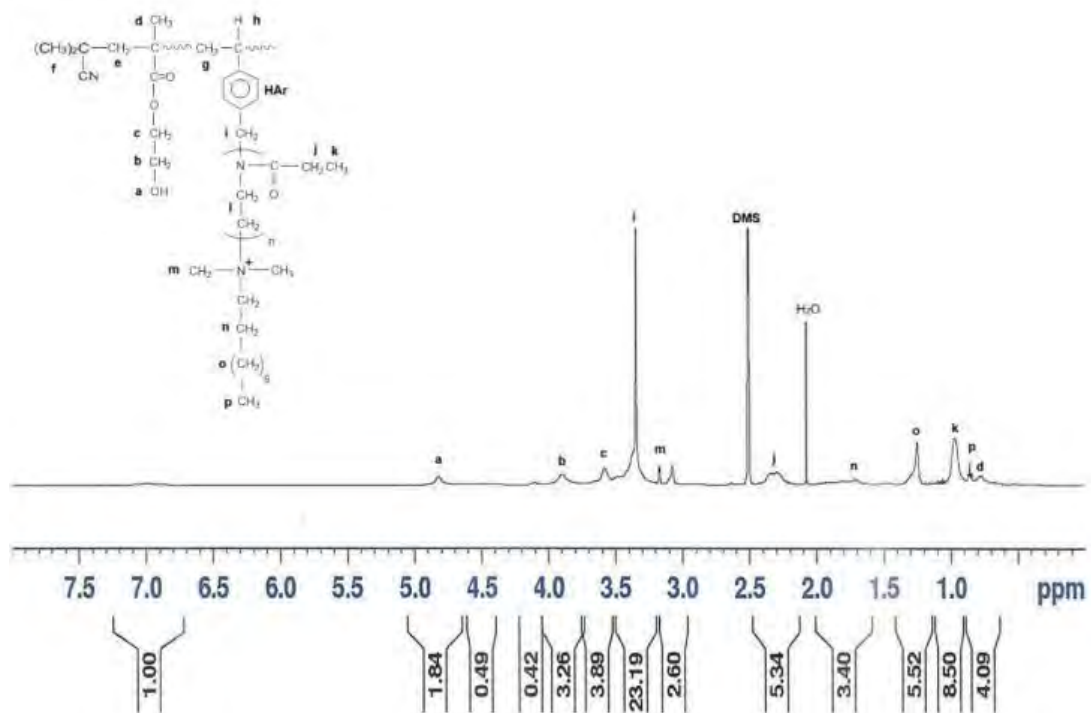
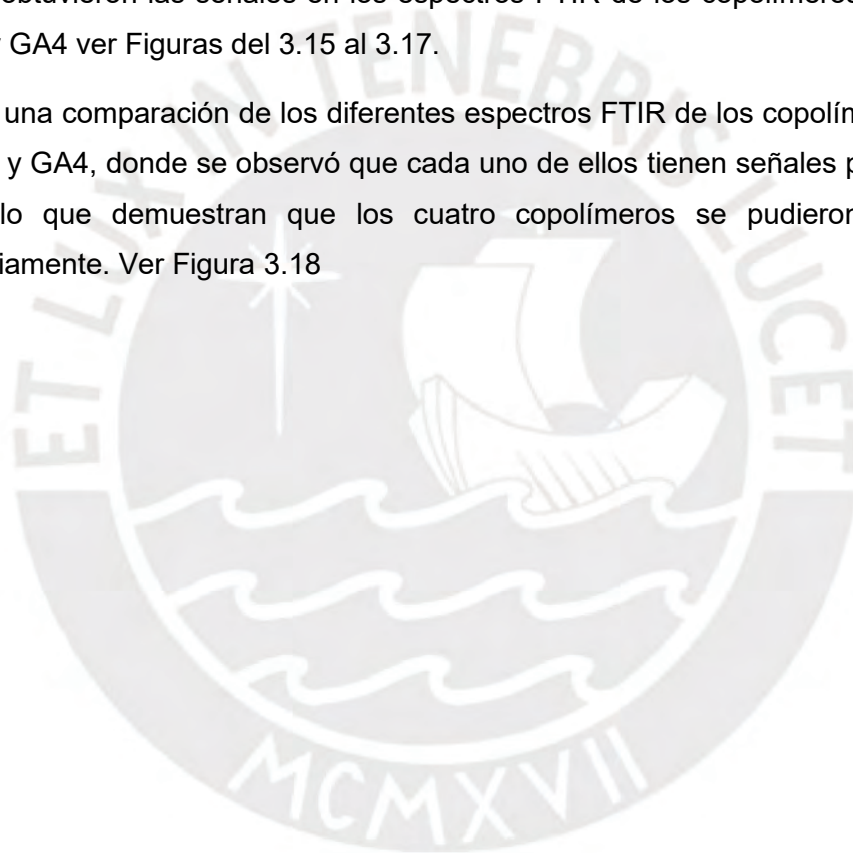


Figura 3.13. Espectro ¹H-RMN de copolímero injertado GA2 en dimetilsulfóxido a 25°C.

Los copolímeros injertados GA1, GA2, GA3 y, GA4 también se caracterizaron por FTIR. En la Figura 3.14 se muestra el espectro FTIR del copolímero GA1, se obtuvo la señal del grupo OH en 3409 cm^{-1} indicando enlace de hidrógeno, el grupo alifático ($\text{CH}_2\text{-C}$) en el rango $2938\text{-}2978\text{ cm}^{-1}$, el grupo carbonilo (C=O) del HEMA en 1722 cm^{-1} , el grupo carbonilo (C=O) de la amida del MKA-1 en 1623 cm^{-1} , el grupo ($-\text{CH}_2$) en 1421 cm^{-1} , el grupo ($-\text{C-N}$) en 1154 cm^{-1} y el grupo (H-C) del aromático en 1078 cm^{-1} del iodometilestireno (IMS). Finalmente, a los 3040 cm^{-1} se encuentra una señal correspondiente a la tensión del grupo C-H del aromático del macromonomero. Las señales FTIR del copolímero injertado nos permitieron identificar de manera cualitativa que los dos monómeros están presentes en el copolímero injertado. Además, de forma similar se obtuvieron las señales en los espectros FTIR de los copolímeros injertados GA2, G3 y GA4 ver Figuras del 3.15 al 3.17.

Se realizó una comparación de los diferentes espectros FTIR de los copolímeros GA1, GA2, GA3 y GA4, donde se observó que cada uno de ellos tienen señales parecidas o similares lo que demuestran que los cuatro copolímeros se pudieron sintetizar satisfactoriamente. Ver Figura 3.18



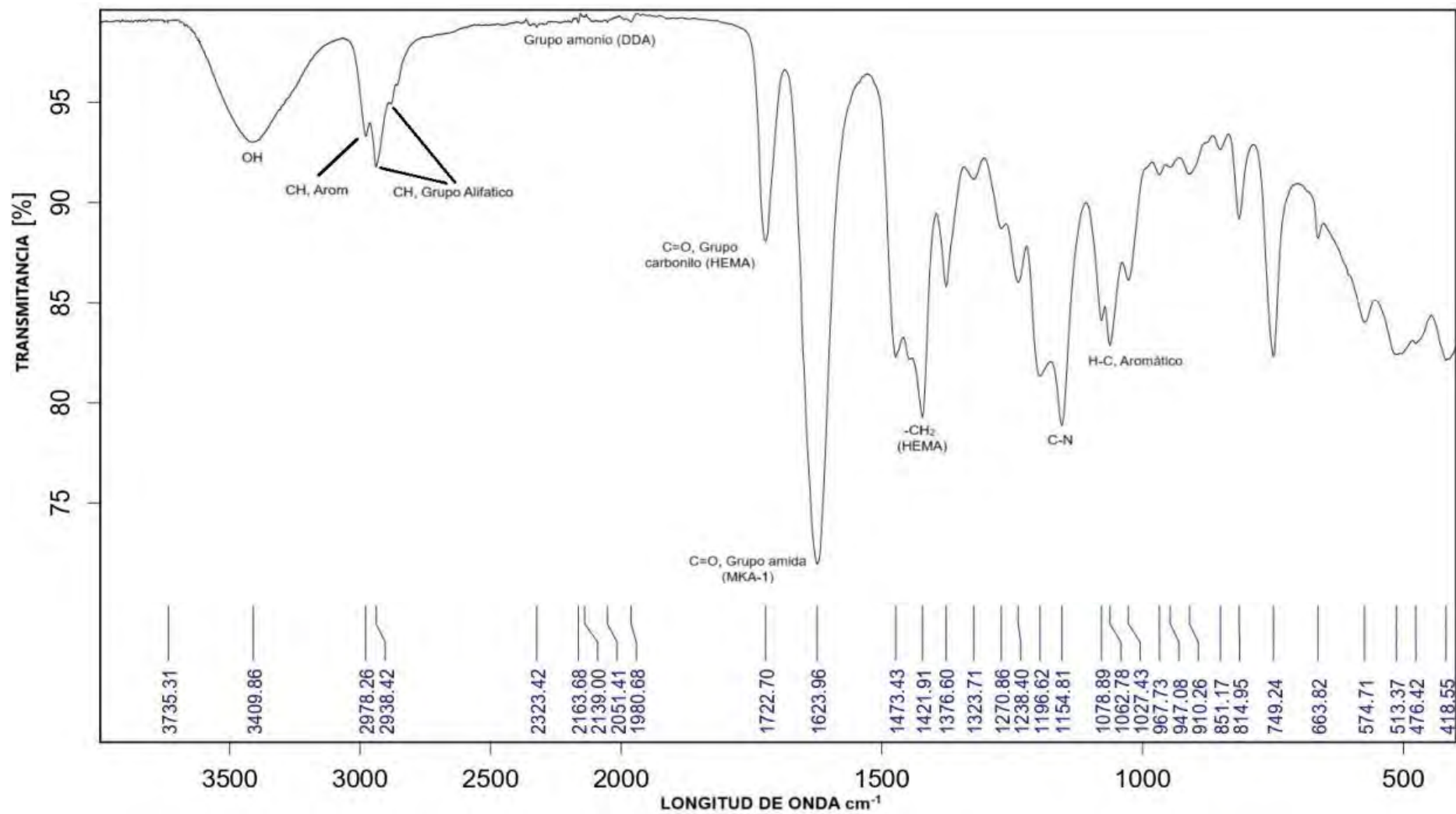


Figura 3.14. Espectro FTIR de copolímero injertado GA1.

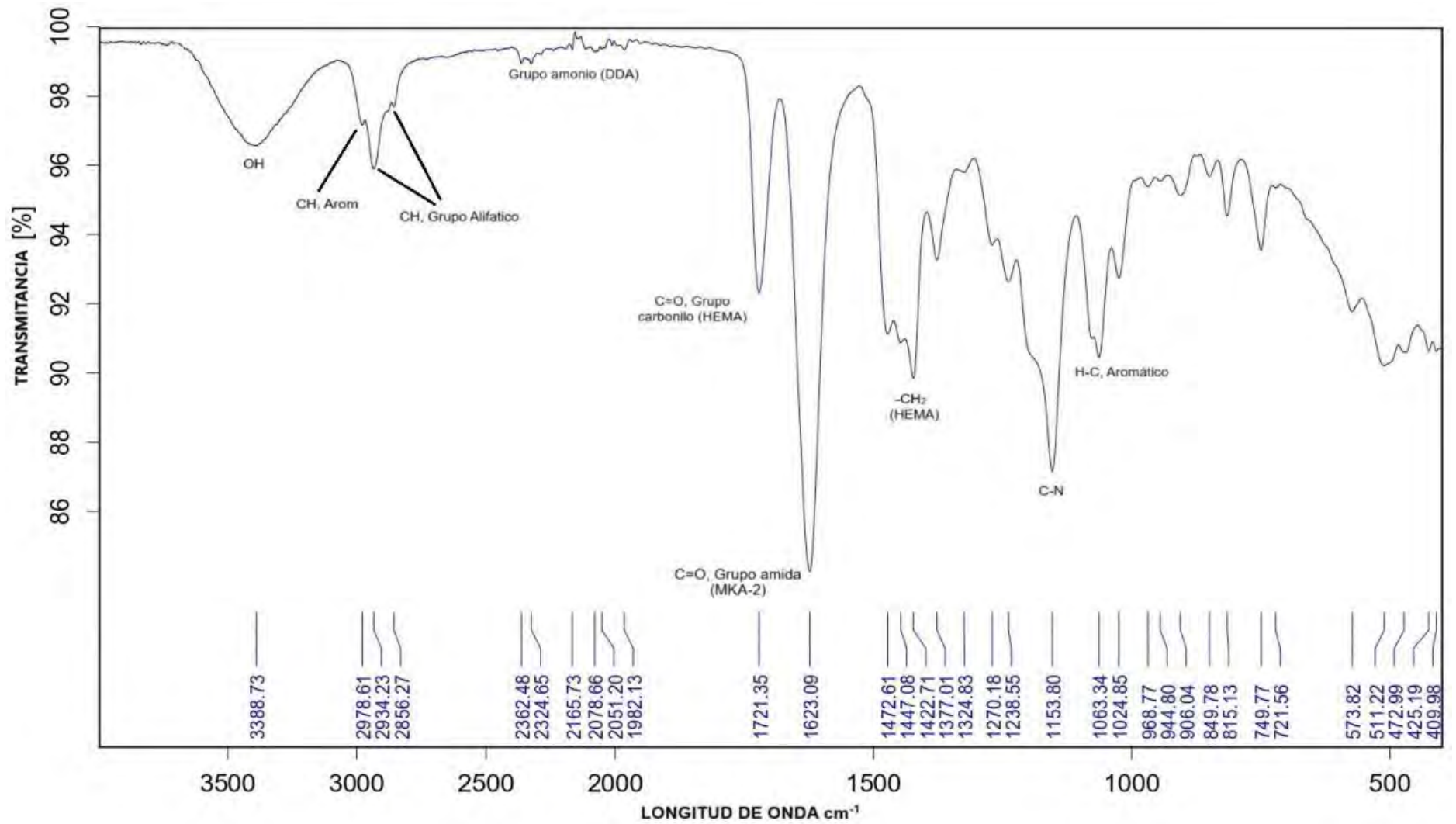


Figura 3.15. Espectro FTIR de copolímero injertado GA2.

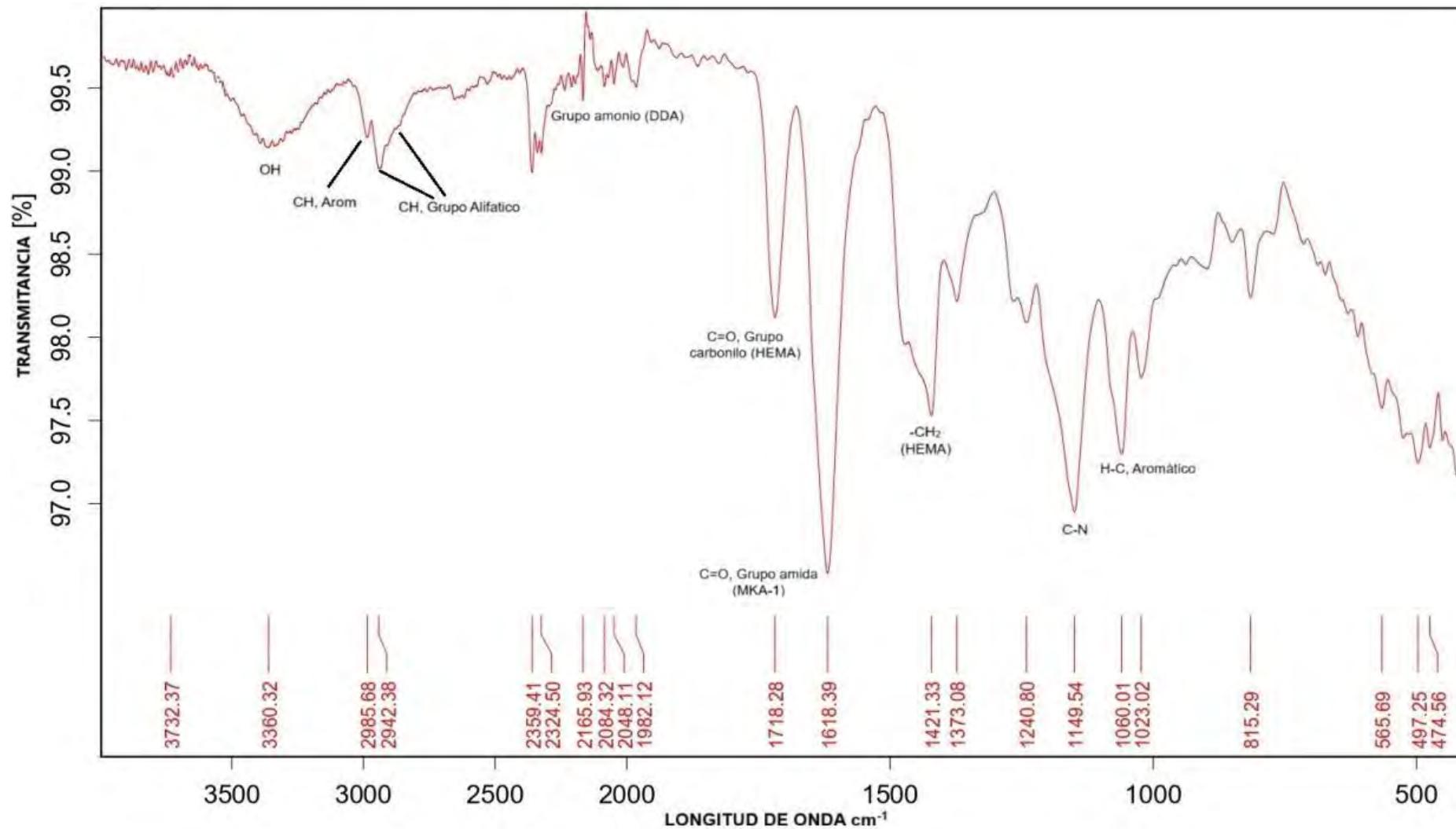


Figura 3.16. Espectro FTIR de copolímero injertado GA3.

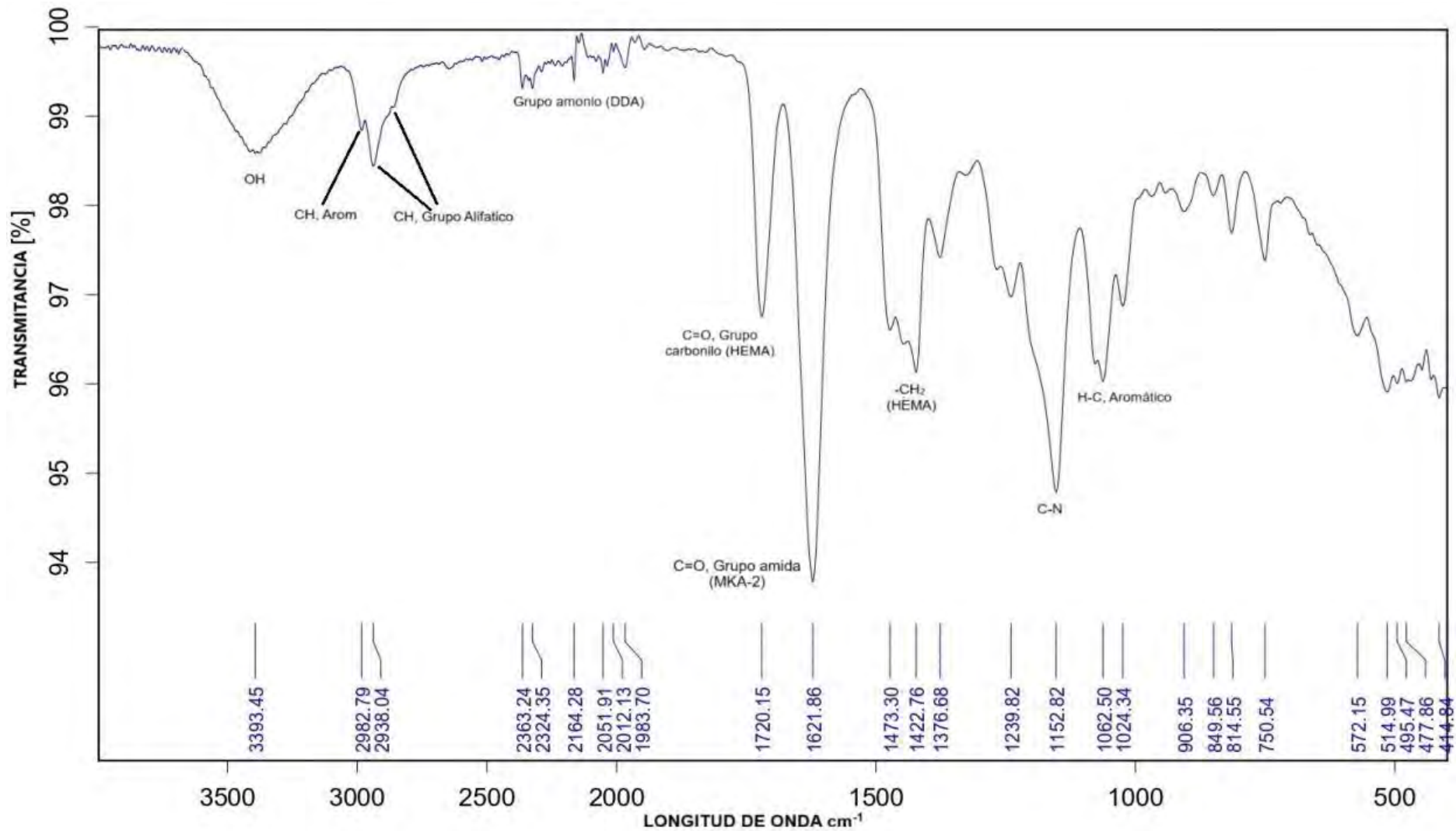


Figura 3.17. Espectro FTIR de copolímero injertado GA4.

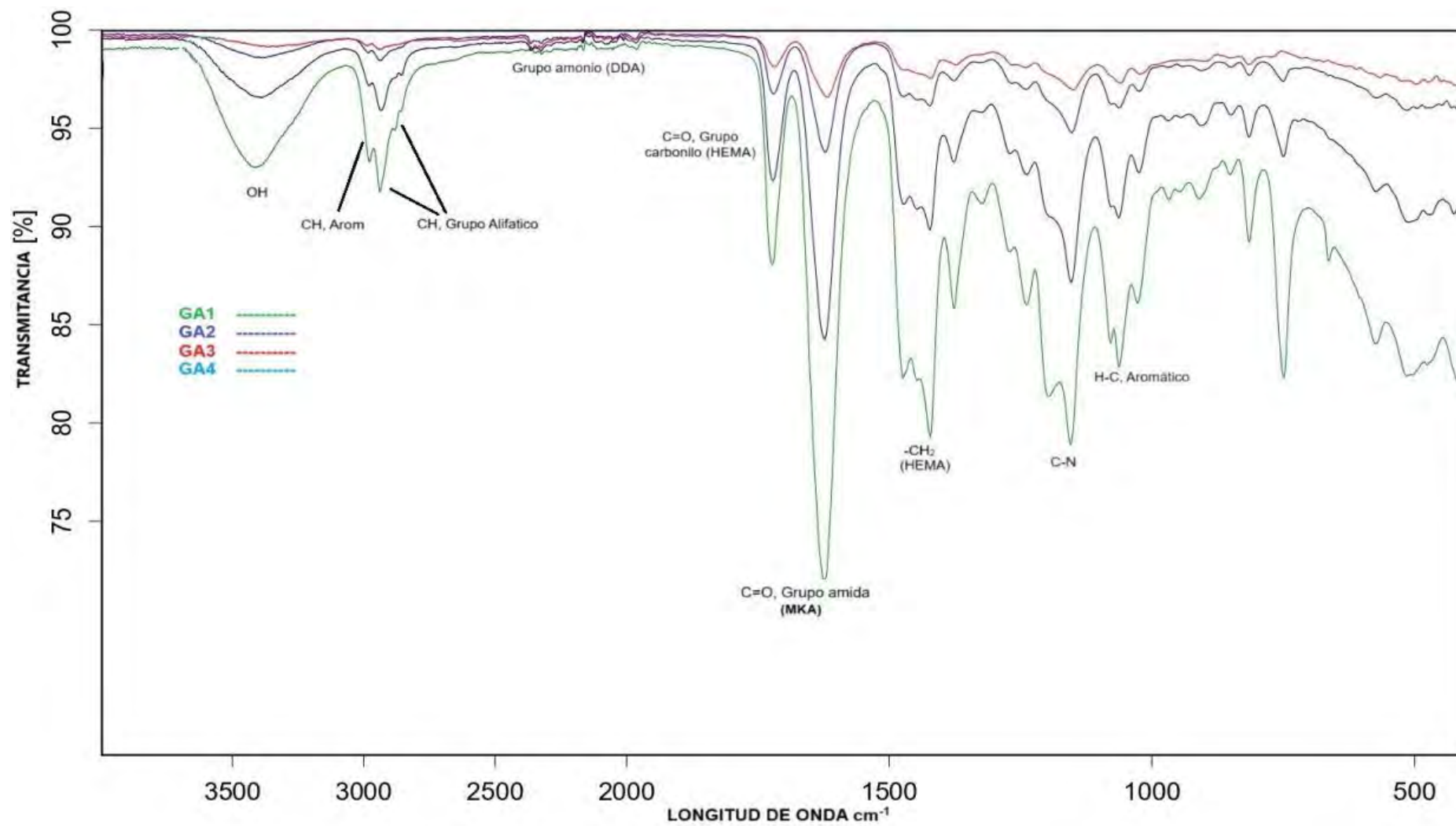


Figura 3.18. Espectros FTIR de copolímeros injertados GA1, GA2, GA3 y GA4.

3.4. Evaluación de la actividad antibacteriana de los polímeros elaborados

Para evaluar la actividad antibacteriana del macromonómero (MKA-2) y de los hidrogeles (HGA) se enfrentó estos materiales a la cepa *Staphylococcus aureus* por la norma ATCC 6538P.

Se hicieron pruebas en dimetilsulfóxido (DMSO), donde el macromonómero MKA-2 es soluble. Se observó inhibición del crecimiento microbiano tras el enfrentamiento de una biomasa bacteriana (*Staphylococcus aureus*) de concentración 5×10^5 UFC/mL (número de bacterias en una muestra) con el macromonómero MKA-2 a diferentes concentraciones (500 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$ y 3000 $\mu\text{g/mL}$) tras 24 horas de incubación leído a 600 nm (rango donde se mide crecimiento y concentración de bacterias) (ver Figura 3.19) por lo tanto es efectivo para eliminar este tipo de bacteria.

En la condición control de crecimiento presentó mayor biomasa bacteriana significativa a comparación del control negativo, que contenía DMSO. Por lo tanto, hay cierta inhibición del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* frente a DMSO. Por lo cual, se usó la condición control negativo como condición referencial para comparar la actividad antibacteriana del polímero MKA-2. Se postula que los grupos amonios cuaternarios del MKA-2 pueden atacar la pared celular de la bacteria destruyéndola y entonces eliminan la bacteria.

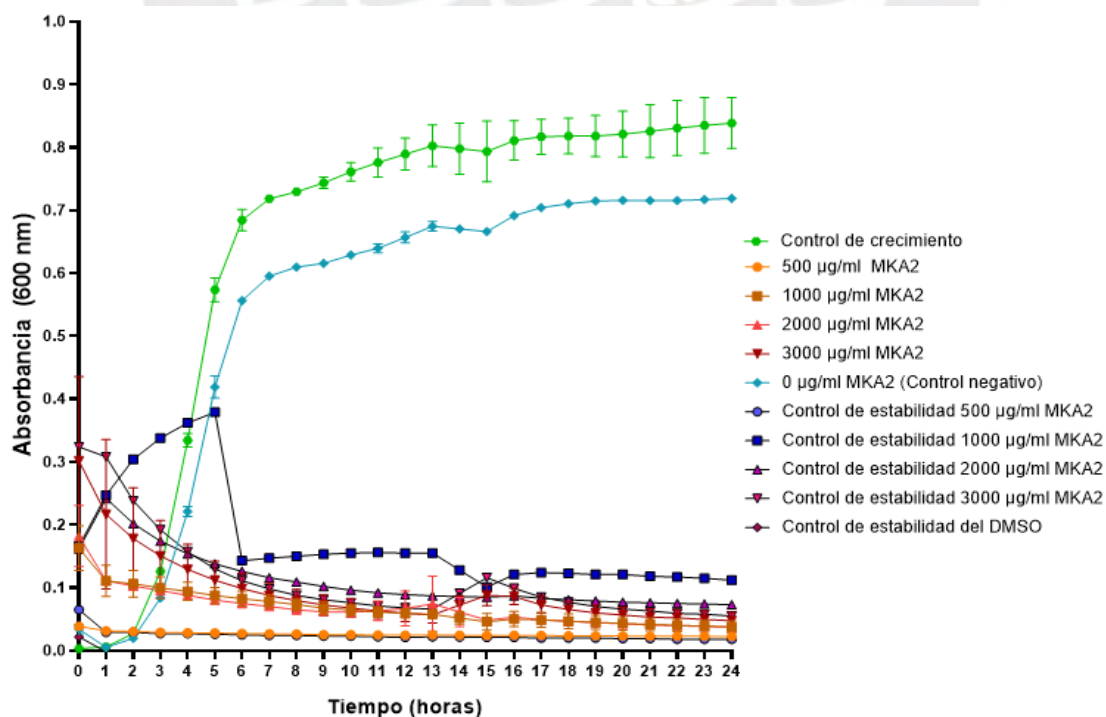


Figura 3.19. Acción antibacteriana del macromonómero MKA-2 frente a *Staphylococcus aureus* durante 24 horas y en diferentes concentraciones.

Los hidrogeles seleccionados para evaluación de capacidad antibacteriana fueron los que contenían mayor cantidad de macromonómeros y por consiguiente eran los más activos contra la bacteria. Los hidrogeles HGA1, HGA4, HGA5, HGA6 y HGA7, se enfrentó estos a la cepa *Staphylococcus aureus* por la norma ATCC 6538.

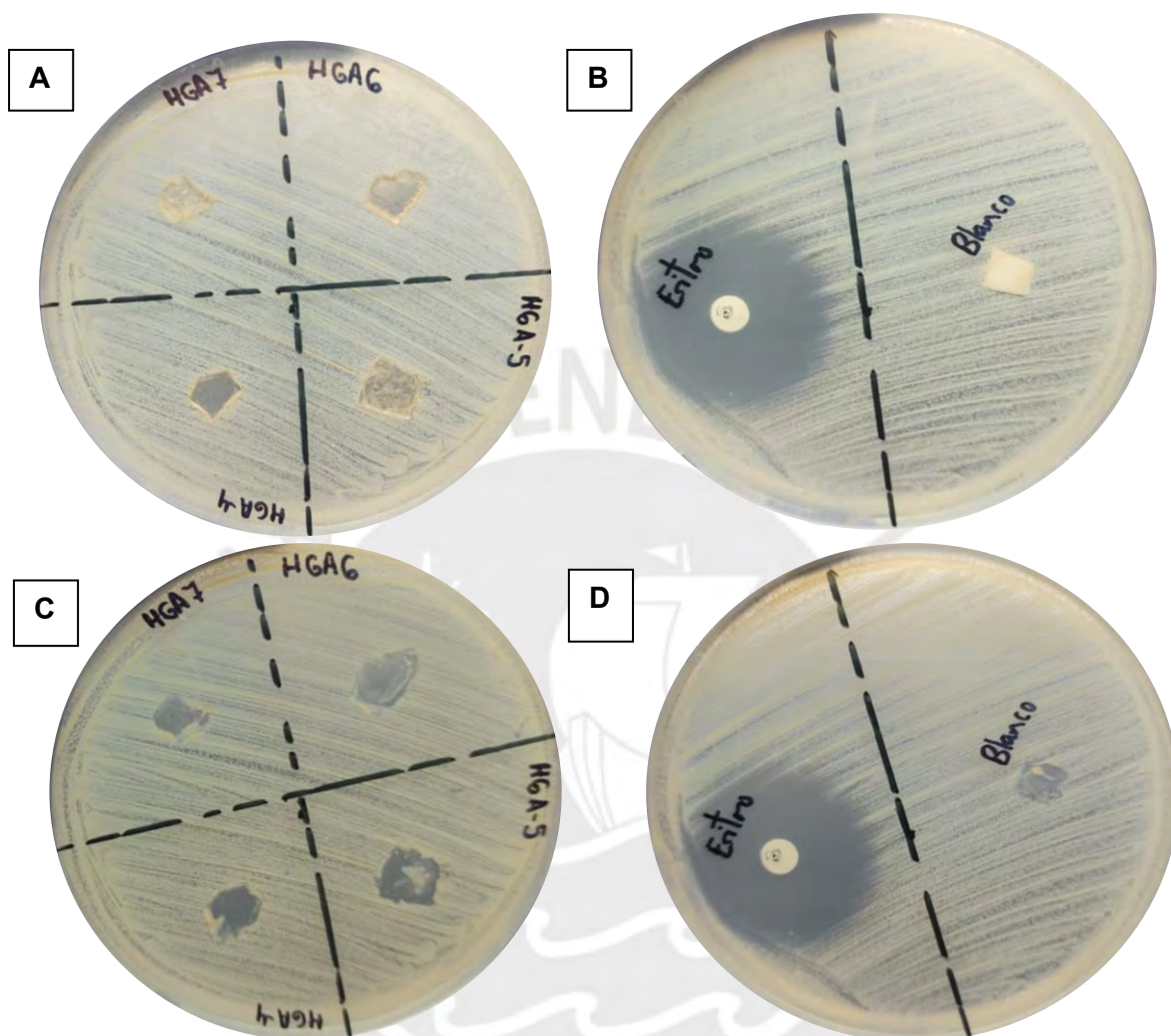


Figura 3.20. **A)**(parte superior de la figura, lado izquierdo) Enfrentamiento de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6 y HGA7 frente: **A)** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, luego de 24 horas de incubación, **B)** (parte superior de la figura lado derecho) Controles positivo (antibiótico Eritromicina) e Hidrogel Blanco (HGA1) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, luego de 24 horas de incubación, **C)** (parte inferior de la figura lado izquierdo) Cultivo luego del retiro de los hidrogeles HGA4, HGA5, HGA6 y HGA7. y **D)** Cultivo luego del retiro de los hidrogeles HGA1.

En el caso de los hidrogeles, por ser estos materiales insolubles, se realizó el enfrentamiento contra la mencionada bacteria en forma de placas de hidrogel que se

colocaron en un cultivo de *Staphylococcus aureus* y se observó cualitativamente que los hidrogeles (HGA4 y HGA5) cambiaron de color opaco a en ciertas partes de color transparente por lo que inhibían el crecimiento de la bacteria; en tanto que en los hidrogeles HGA6 y HGA7 era más difícil ver este resultado cualitativo. En la figura 3.21 se muestran los resultados obtenidos. Los hidrogeles HGA4 y HGA5 al parecer tienen una buena distribución de los grupos amonio cuaternarios en toda su estructura y por eso son efectivos en inhibir el crecimiento bacteriano o sea eliminar las bacterias (Tabla 3.4). El Hidrogel HGA1 es el hidrogel blanco o de referencia y no contiene macromonómero. HGA1 es solo un hidrogel de poliHEMA “puro” y por eso no consigue inhibir el crecimiento bacteriano. El hidrogel HG Eritro o control positivo mantuvo su capacidad antibacteriana al observarse cualitativamente que mantiene su color transparente después del cultivo de la bacteria.

Tabla 3.4. Actividad antibacteriana hidrogeles HGA

HGA ^a	MKA ^b (mmol)		HEMA ^c (mmol)	R ₁ ^g	Actividad Bacteriana
	MKA-1	MKA-2			
HGA1	-	-	3.927	-	Se observa crecimiento microbiano debajo del hidrogel.
HGA4	-	0.384	3.463	9	No se observa crecimiento microbiano debajo del hidrogel y/o es leve a simple inspección visual.
HGA5	0.336	-	3.204	10	No se observa crecimiento microbiano debajo del hidrogel y/o es leve a simple inspección visual.
HGA6	0.603	-	3.172	5	Se observa crecimiento microbiano debajo del hidrogel.
HGA7	-	0.697	3.252	5	Se observa crecimiento microbiano debajo del hidrogel.

Donde:

a: Hidrogel (HGA).

b: Macromonómeros (MKA) MKA-1 y MKA-2.

c: Hidroxietilmetacrilato (HEMA).

d: R_1 : Relación molar de HEMA/MKA al inicio de la polimerización.

También se realizó un análisis de la actividad antibacteriana de los hidrogeles usando el microscopio electrónico de barrido (SEM).

La Figura 3.21 presentan el hidrogel HGA1 en nivel de magnificación de 2000x, donde se utilizó como referencia (hidrogel blanco) dado que solo se sintetizó con el monómero hidroxietilmetacrilato (HEMA) y el entrecruzador metilenobisacrilamida (BIS), sin contar con los macromonómeros. Se puede apreciar la formación de un biofilm bacteriano (colonia de bacterias de forma elíptica que se adhiere a una superficie) en toda el área del hidrogel o sea este hidrogel de referencia no consigue evitar el crecimiento bacteriano tal como era de esperarse. Ver también la misma formación de biofilm en Figura 5.20 y 5.22 en anexo II con niveles de magnificación de 1000x, 3000x y 4000x.

En contraste, los hidrogeles HGA4 y HGA5, Figuras 3.22; 3.23 en nivel de magnificación de 2000x si se evidencia que estos hidrogeles consiguen evitar el crecimiento bacteriano o sea eliminan a la bacteria *Staphylococcus aureus* muy eficientemente ya que se observa que no hay bacterias en su superficie (adherencia) luego de 24 horas de exposición a la misma. Ver Figuras 5.23 al 5.24 en anexo II con niveles de magnificación de 1000x y 3000x.

Finalmente, en relación con los hidrogeles HGA6 y HGA7, Figura 3.24 y 3.25 en nivel de magnificación de 2000x se percibe la formación de un biofilm bacteriano en algunas áreas de la superficie. Esto podría deberse a que en estos hidrogeles los grupos amonio cuaternarios no se encuentran homogéneamente distribuidos en la superficie del hidrogel, sino que se han aglomerado en ciertas zonas y existen zonas despobladas de grupos amonio cuaternarios donde la bacteria si puede crecer. Esto podría deberse a que en la polimerización se formaron microdominios de polimacromonómeros (efectivos contra las bacterias) y otros microdominios donde faltan los macromonómeros (donde si pueden crecer las bacterias). Ver Figuras 5.25 al 5.28 en anexo II con niveles de magnificación de 3000x y 4000x.

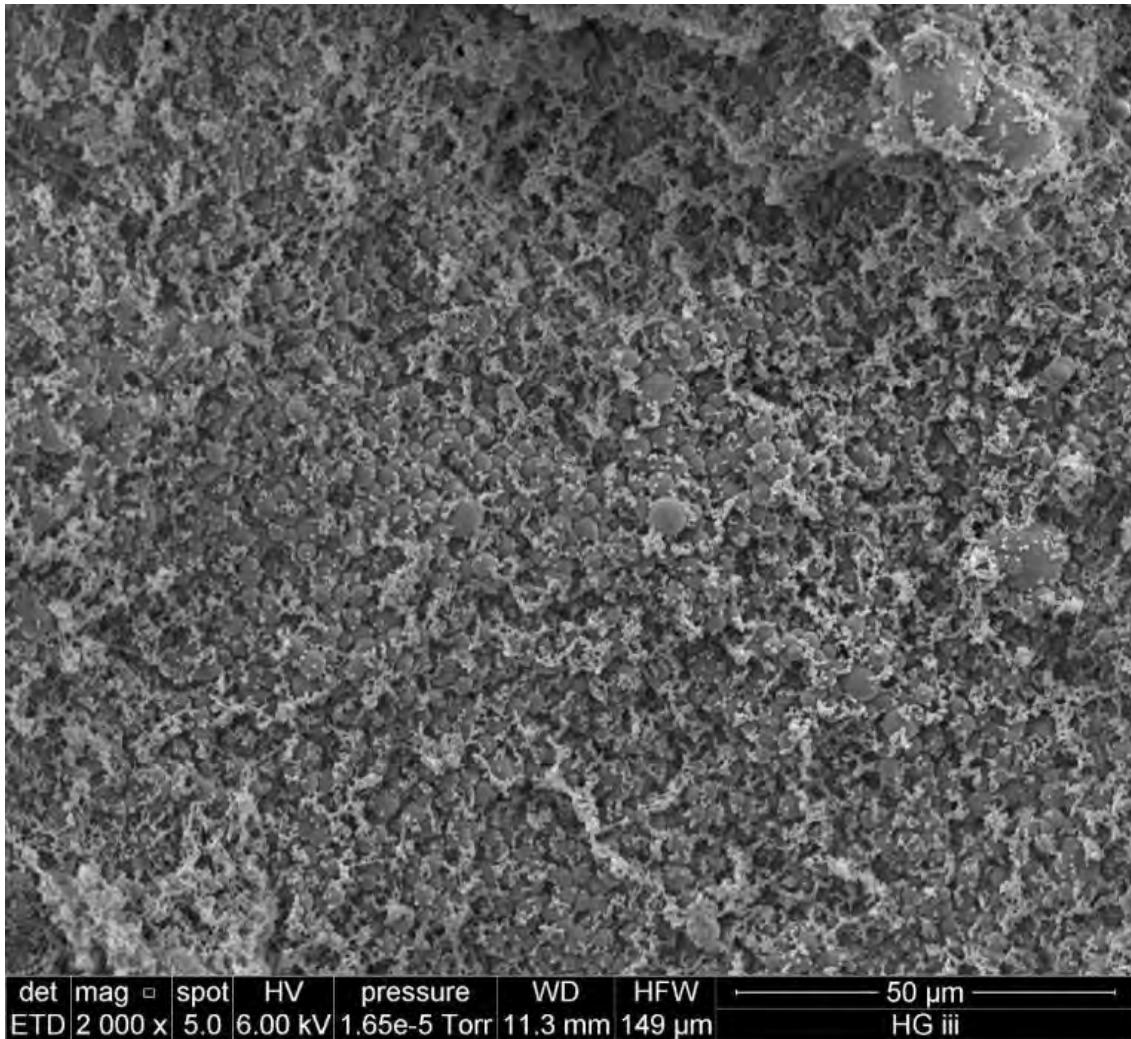


Figura 3.21. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 (hidrogel “blanco”) con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x.

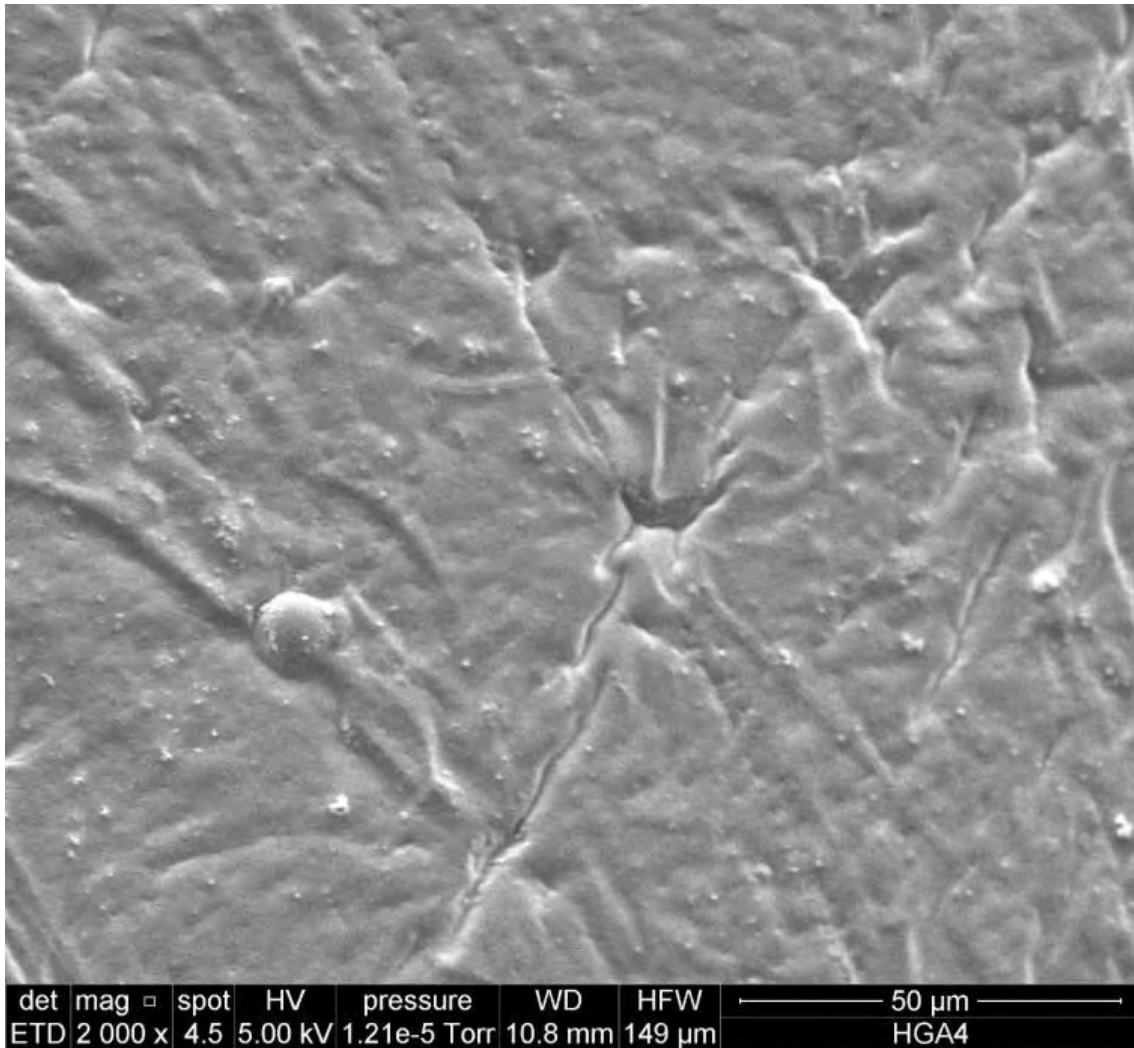


Figura 3.22. Imagen de la superficie del hidrogel HGA4 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x.

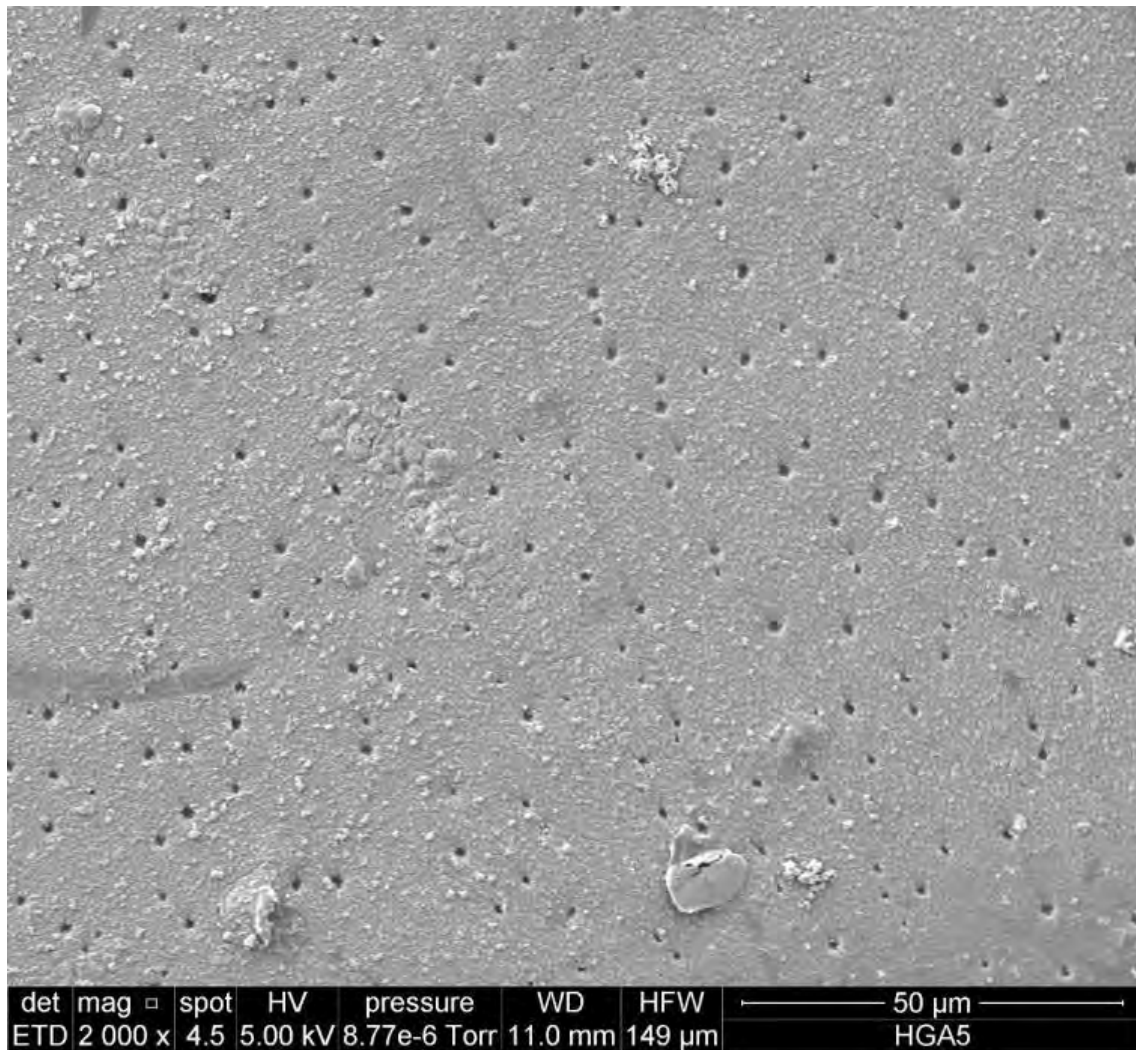


Figura 3.23. Imagen de la superficie del hidrogel HGA5 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x.

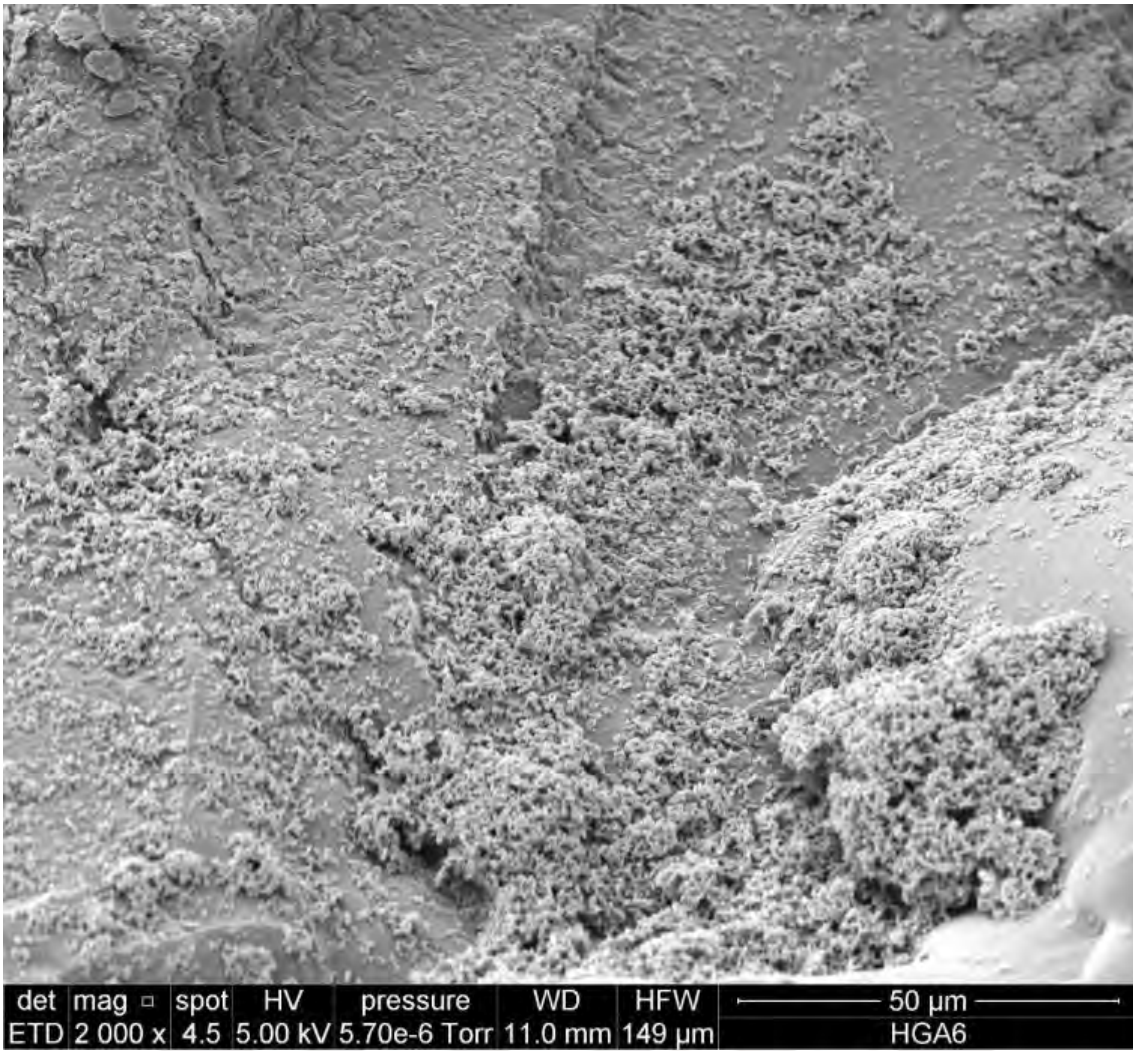


Figura 3.24. Imagen de la superficie del hidrogel HGA6 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x.

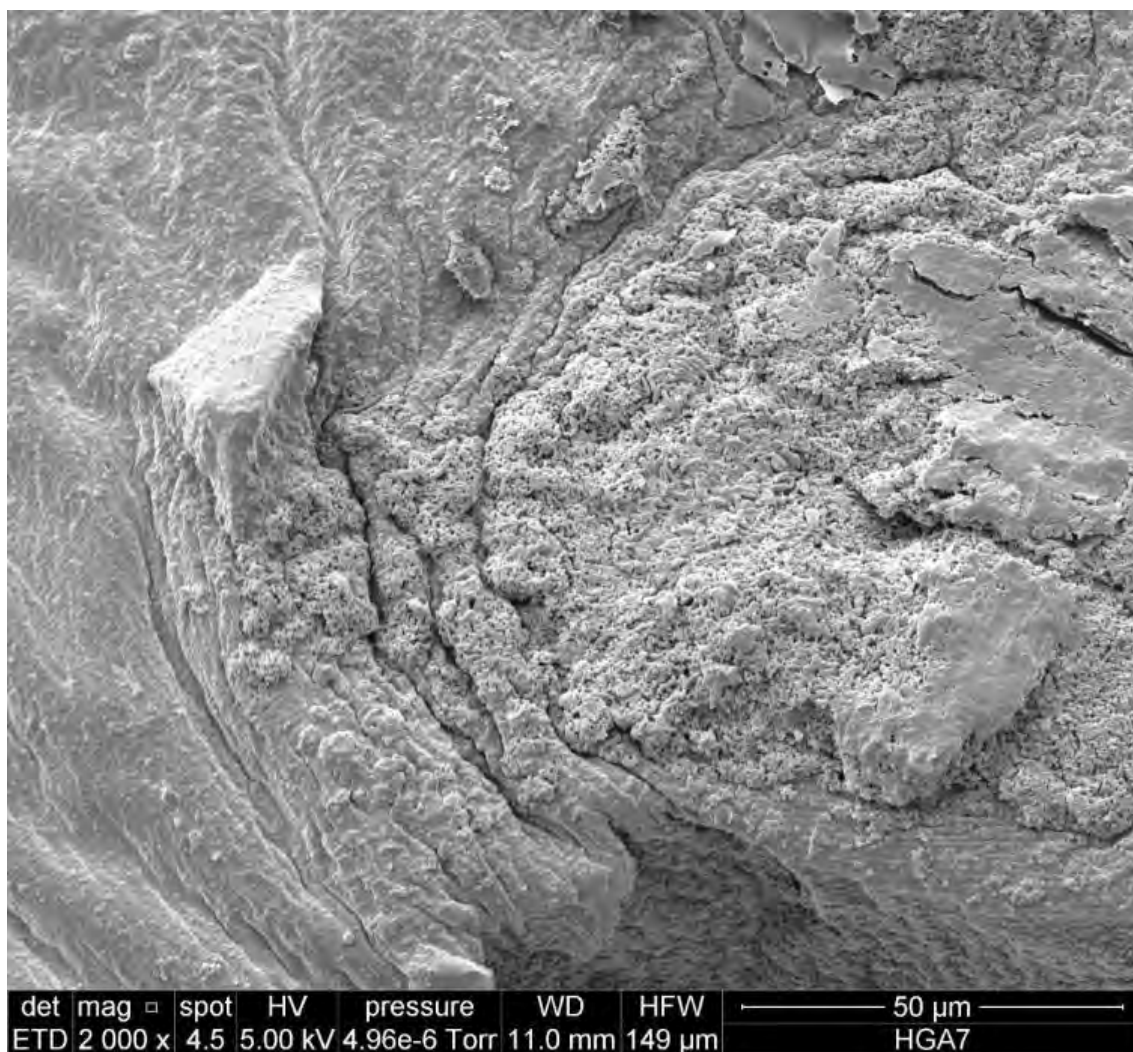


Figura 3.25. Imagen de la superficie del hidrogel HGA7 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 2000x.

También se podría investigar la actividad antibacteriana del macromonomero y los hidrogeles en contra de otra bacteria Gram-negativa como *Escherichia coli* para determinar si es efectiva.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

1. Es factible la síntesis de los macromonómeros de 2-oxazolina MKA-1 y MKA-2 mediante una polimerización catiónica por apertura de anillo del monómero 2-etil-2-oxazolina siendo la polimerización iniciada por el 4-clorometilestireno y terminada por la N, N-dimetil-dodecilamina. Mediante la espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinó que los grados de polimerización de MKA-1 y MKA-2 fueron de 21 y 9, respectivamente, los cuales estuvieron en muy buena concordancia con los valores teóricos (20 y 10) de la relación molar inicial de monómero Etoxa a iniciador CMS. Se demostró por ¹H-RMN que los macromonómeros MKA-1 y MKA-2 tuvieron grupos vinilo al inicio de su cadena polimérica y también tuvieron grupos amonio cuaternario al final de la cadena polimérica teniendo un grado de funcionalización de 98 % y 99 %, respectivamente.
2. Se examinó el potencial antibacteriano del macromonómero MKA-2 contra la bacteria gram positiva *Staphylococcus aureus*, donde este macromonómero pudo inhibir el crecimiento bacteriano a concentraciones de 500, 1000, 2000 y 3000 microgramo/ml de MKA-2.
3. Es factible la síntesis de hidrogeles basados en hidroxietilmetacrilato y macromonómeros de 2-oxazolina vía polimerización por radicales libres. Se utilizó como sistema iniciador el persulfato de amonio y la N,N,N',N'-tetrametilenetilendiamina y la N,N-metilenobisacrilamida (BIS) como agente entrecruzador. Los rendimientos de síntesis estuvieron entre 68% y 92%.
4. La absorción de agua de los hidrogeles fue baja (1.55 a 2.8 g H₂O/g HGA Seco) debido al alto porcentaje molar del entrecruzador BIS que fue utilizado. Este alto contenido de entrecruzador BIS otorgó a los hidrogeles una mayor estabilidad mecánica.
5. La estructura química de los hidrogeles pudo confirmarse cualitativamente mediante análisis de FTIR. En los espectros FTIR se demostró la presencia del hidroxietilmetacrilato y del macromonómero en la estructura del hidrogel.
6. Se examinó el potencial antibacteriano de los hidrogeles HGA contra la bacteria gram positiva *Staphylococcus aureus*, donde algunos hidrogeles (HGA4 y HGA5) mostraron una excelente inhibición del crecimiento bacteriano.
7. Es posible la síntesis de los copolímeros injertados a partir de la polimerización por radicales libres de hidroxietilmetacrilato y macromonómeros de 2-oxazolina funcionalizado con grupo amonio, siendo la polimerización iniciada por el 2,2-

azoisobutironitrilo. La estructura química fue confirmada mediante análisis de ^1H -RMN y de FTIR.



BIBLIOGRAFIA

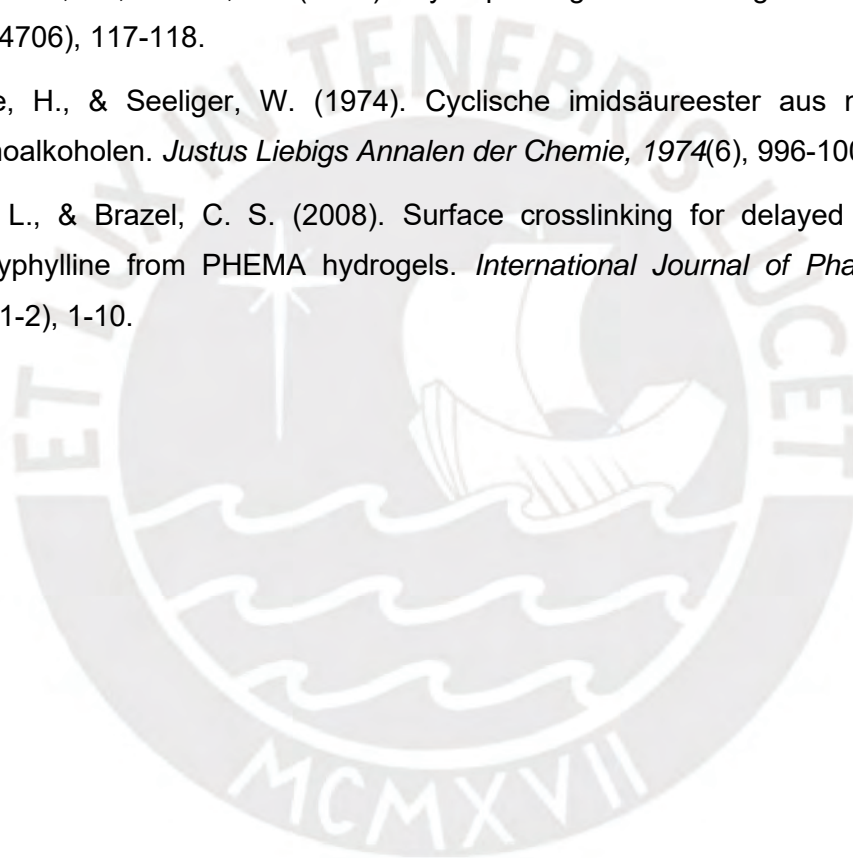
1. Aoi, K., & Okada, M. (1996). Polymerization of oxazolines. *Progress in Polymer Science*, 21(1), 151-208.
2. Bansal, S., & Halve, A. K. (2014). Oxazolines: Their synthesis and biological activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(11), 4601.
3. Bassiri, T. G., Levy, A., & Litt, M. (1967). Polymerization of cyclic imino ethers. I. Oxazolines. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters*, 5(9), 871-879.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirty-Third Informational Supplement (M100).
5. Dargaville, T. R., Park, J. R., & Hoogenboom, R. (2018). Poly (2-oxazoline) Hydrogels: State-of-the-Art and Emerging Applications. *Macromolecular Bioscience*, 18(6), 1800070.
6. Feng, X. D., Guo, X. Q., & Qiu, K. Y. (1988). Study of the initiation mechanism of the vinyl polymerization with the system persulfate/N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine. *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics*, 189(1), 77-83.
7. Fijten, M. W., Haensch, C., van Lankvelt, B. M., Hoogenboom, R., & Schubert, U. S. (2008). Clickable Poly (2-Oxazoline)s as Versatile Building Blocks. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 209(18), 1887-1895.
8. Frump, J. A. (1971). Oxazolines. Their preparation, reactions, and applications. *Chemical Reviews*, 71(5), 483-505.
9. Hartlieb, M., Kempe, K., & Schubert, U. S. (2015). Covalently cross-linked poly (2-oxazoline) materials for biomedical applications—from hydrogels to self-assembled and templated structures. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(4), 526-538.
10. Hoogenboom, R. (2009). Polyethers and polyoxazolines. *Handbook of Ring-Opening Polymerization*, 141-164.
11. Hoogenboom, R., & Schlaad, H. (2017). Thermoresponsive poly (2-oxazoline)s, polypeptoids, and polypeptides. *Polymer Chemistry*, 8(1), 24-40.
12. Jimenez, S. (2021). Elaboración de nuevos macromonómeros de 2-oxazolininas. (Tesis Maestría, Pontificia Universidad Católica del Perú (Perú)).
13. Kagiya, T., Narisawa, S., Maeda, T., & Fukui, K. (1966). Ring-opening

- polymerization of 2-substituted 2-oxazolines. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters*, 4(7), 441-445.
14. Kelly, A. M., & Wiesbrock, F. (2012). Strategies for the Synthesis of Poly (2-Oxazoline)-Based Hydrogels. *Macromolecular Rapid Communications*, 33(19), 1632-1647.
 15. Kempe, K., Lobert, M., Hoogenboom, R., & Schubert, U. S. (2009). Synthesis and characterization of a series of diverse poly (2-oxazoline)s. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 47(15), 3829-3838.
 16. Lode, H. M. (2009). Clinical impact of antibiotic-resistant Gram-positive pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(3), 212-217.
 17. Ma, X., Wang, H., Jin, S., Wu, Y., & Liang, X. J. (2012). Construction of paclitaxel-loaded poly (2-hydroxyethyl methacrylate)-g-poly (lactide)-1, 2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine copolymer nanoparticle delivery system and evaluation of its anticancer activity. *International Journal of Nanomedicine*, 1313-1328.
 18. Makino, A., & Kobayashi, S. (2010). Chemistry of 2-oxazolines: a crossing of cationic ring-opening polymerization and enzymatic ring-opening polyaddition. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 48(6), 1251-1270.
 19. Malásquez, M. D. C. (2015). Síntesis de nuevos hidrogeles a partir de n-isopropilacrilamida, macromonómeros de 2-oxazolinas y laponita. (Tesis Maestría, Pontificia Universidad Católica del Perú (Perú)).
 20. Odian, G. (2004). *Principles of Polymerization*. John Wiley & Sons, third edition.
 21. Okada, M., & Aoi, K. (1995). Synthesis of sugar-containing macromonomers by living ring-opening polymerization. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 32 (sup1), 907-914.
 22. Panarin, E. F., Solovskii, M. V., & Ekzemplyarov, O. N. (1971). Synthesis and antimicrobial properties of polymers containing quaternary ammonium groups. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 5(7), 406-408.
 23. Pizzi, D., Humphries, J., Morrow, J. P., Fletcher, N. L., Bell, C. A., Thurecht, K. J., & Kempe, K. (2019). Poly (2-oxazoline) macromonomers as building blocks for functional and biocompatible polymer architectures. *European Polymer Journal*, 121, 109258.
 24. Rueda, J., Suica, R., Komber, H., & Voit, B. (2003). Synthesis of new polymethyloxazoline hydrogels by the "macroinitiator" method. *Macromolecular*

Chemistry and Physics, 204(7), 954-960.

25. Rueda, J. C., Campos, E., Komber, H., Zschoche, S., Häussler, L., & Voit, B. (2014). Synthesis and characterization of new pH-and thermo-responsive hydrogels based on N-isopropylacrylamide and 2-oxazolines. *Designed Monomers and Polymers*, 17(3), 208-216.
26. Rueda, J. C., Malásquez, M., Lagos, L., Komber, H., Zschoche, S., & Voit, B. (2018). Síntesis de hidrogeles conmutables a partir de N-isopropilacrilamida, macromonómeros de 2-Oxazolinas y Laponita. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(1), 143-156.
27. Rueda, J. C., Santillán, F., Komber, H., & Voit, B. (2020). Synthesis and characterization of stiff, self-crosslinked thermoresponsive DMAA hydrogels. *Polymers*, 12(6), 1401.
28. Schelestow, K. (2018). Synthesis of silver nanoparticles in hydrogels. (Tesis Maestría, Pontificia Universidad Católica del Perú (Peru)).
29. Seeliger, W., Aufderhaar, E., Diepers, W., Feinauer, R., Nehring, R., Thier, W., & Hellmann, H. (1966). Recent syntheses and reactions of cyclic imidic esters. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 5(10), 875-888.
30. Tighe, B. J., & Mann, A. (2016). Physicochemical properties of hydrogels for use in ophthalmology. In *Biomaterials and regenerative medicine in ophthalmology* (pp. 75-100). Woodhead Publishing.
31. Tomalia, D. A., & Sheetz, D. P. (1966). Homopolymerization of 2-alkyl-and 2-aryl-2-oxazolines. *Journal of Polymer Science Part A-1: Polymer Chemistry*, 4(9), 2253-2265.
32. Tufani, A., & Ince, G. O. (2015). Permeability of small molecules through vapor deposited polymer membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(34).
33. Vargün, E., & Usanmaz, A. (2010). Degradation of poly (2-hydroxyethyl methacrylate) obtained by radiation in aqueous solution. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 47(9), 882-891.
34. Verbraeken, B., Monnery, B. D., Lava, K., & Hoogenboom, R. (2017). The chemistry of poly (2-oxazoline)s. *European Polymer Journal*, 88, 451-469.
35. Waschinski, C. J., Herdes, V., Schueler, F., & Tiller, J. C. (2005). Influence of satellite groups on telechelic antimicrobial functions of polyoxazolines. *Macromolecular Bioscience*, 5(2), 149-156.
36. Waschinski, C. J., Zimmermann, J., Salz, U., Hutzler, R., Sadowski, G., & Tiller, J.

- C. (2008a). Design of contact-active antimicrobial acrylate-based materials using biocidal macromers. *Advanced Materials*, 20(1), 104-108.
37. Waschinski, C. J., Barnert, S., Theobald, A., Schubert, R., Kleinschmidt, F., Hoffmann, A., ... & Tiller, J. C. (2008b). Insights in the antibacterial action of poly (methyloxazoline)s with a biocidal end group and varying satellite groups. *Biomacromolecules*, 9(7), 1764-1771.
38. Weber, C., Hoogenboom, R., & Schubert, U. S. (2012). Temperature responsive bio-compatible polymers based on poly (ethylene oxide) and poly (2-oxazoline)s. *Progress in Polymer Science*, 37(5), 686-714.
39. Wichterle, O., & Lim, D. (1960). Hydrophilic gels for biological use. *Nature*, 185(4706), 117-118.
40. Witte, H., & Seeliger, W. (1974). Cyclische imidsäureester aus nitrilen und aminoalkoholen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 1974(6), 996-1009.
41. Wu, L., & Brazel, C. S. (2008). Surface crosslinking for delayed release of proxiphylline from PHEMA hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics* 349(1-2), 1-10.



ANEXO I

Tabla 5.1. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE PRODUCTOS QUIMICOS USADOS EN LA TESIS

SUSTANCIAS	PESO MOLECULAR (g/mol)	DENSIDAD ^a (g/cm ³)	TEMPERATURA DE EBULLICIÓN ^b (°c)
4-Clorometilestireno (C ₉ H ₉ Cl) (CMS)	152.62	1.07	55°C / 0.5 mmHg
Ioduro de Sodio (NaI)	149.89	-	-
2-Etil-2-Oxazolina C ₅ H ₉ NO (Etoxa)	99.13	0.98	128
N,N-dimetil-dodecilamina C ₁₄ H ₃₁ N (DMDA)	213.40	0.79	100°C / 0.5 mmHg
Acetonitrilo (CH ₃ CN)	41.05	0.78	82
Hidroxietilmetacrilato CH ₂ =C(CH ₃)COOCH ₂ CH ₂ OH (HEMA)	130.14	1.07	135°C / 9 mbar
Hidruro de calcio (CaH ₂)	42.09	1.7	-
Hidroquinona (C ₆ H ₆ O ₂)	110.11	1.32	-
Hidróxido de Sodio (KOH)	39.99	-	-
Cloroformo (CHCl ₃)	119.37	1.492	62
Ácido clorhídrico (HCl)	36.46	1.12	-
Nitrógeno	28	1.145x10 ⁻³	-
Cloruro de Sodio (NaCl)	58.44	-	-
Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	46	0.794	78.4
Hidróxido de Potasio (KOH)	56.11	-	-
Persulfato de amonio (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ (APS)	228.20	1.98	

Tetrametiletilendiamina (CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂ (TEMED)	116.20	0.775	121
Metilenobisacrilamida (CH ₂ CHCONH) ₂ CH ₂ (BIS)	154.17		
Azobisisobutironitrilo (CH ₃) ₂ C(CN)N=NC(CH ₃) ₂ CN (AIBN)	164.21		

^a Determinación realizada a 20°C.

^b Determinación realizada a una presión de 760 mm Hg, a menos que se especifique una presión distinta.



ANEXO II

ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

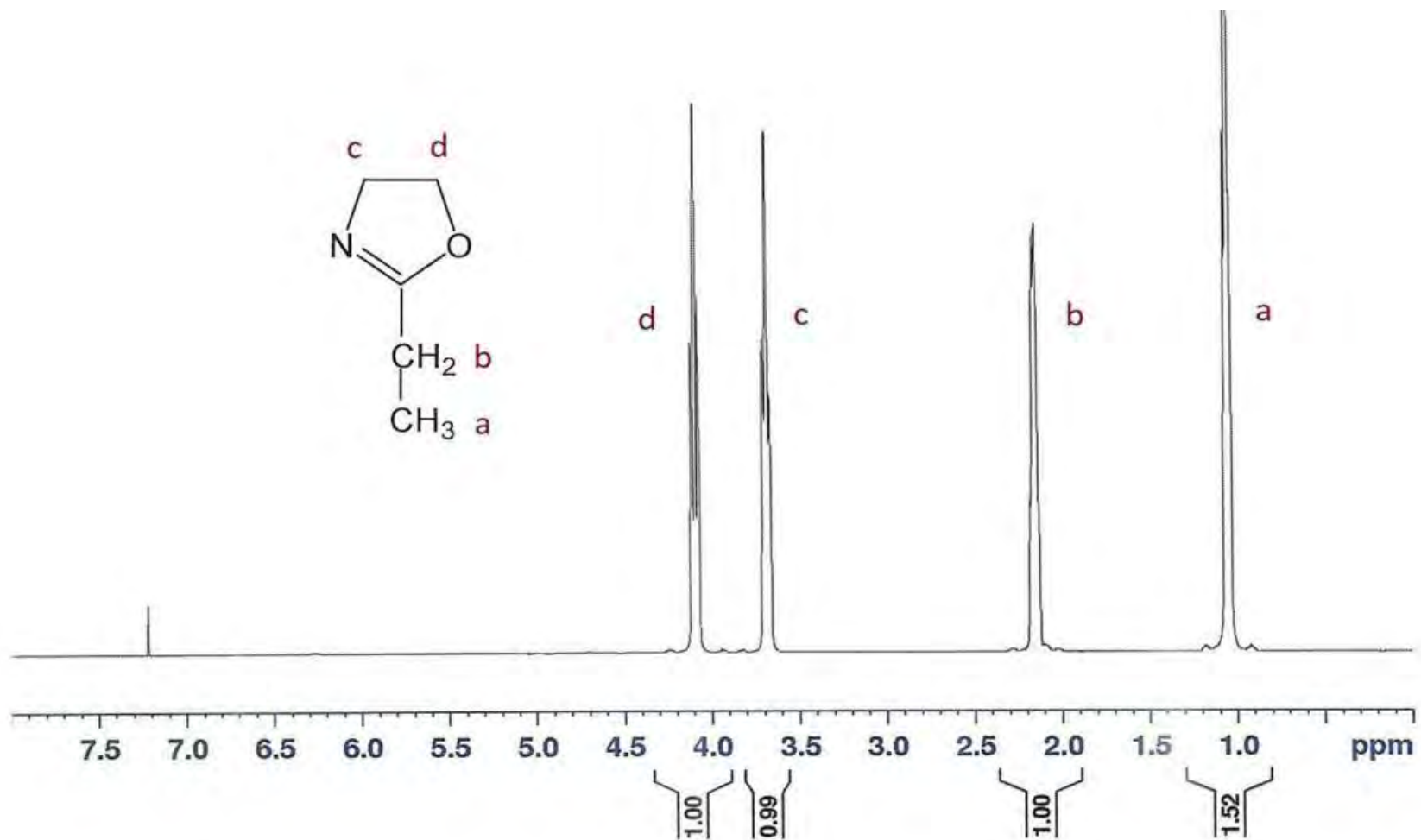


Figura 5.1. Espectro ^1H -RMN del 2-etil-2-oxazolina (Etoxa) en cloroformo deuterado a 25°C.

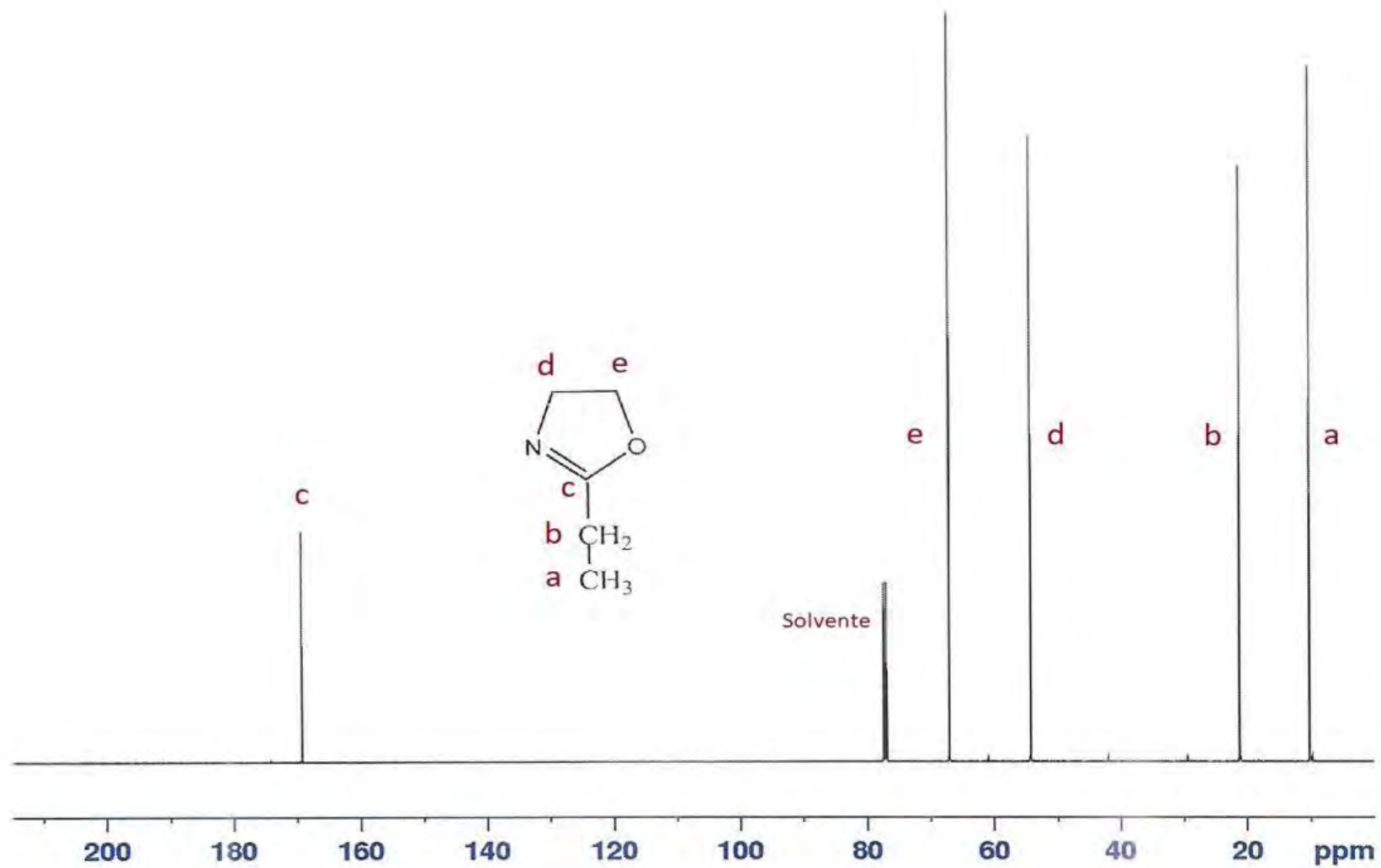


Figura 5.2. Espectro ^{13}C -RMN del 2-etil-2-oxazolina en cloroformo deuterado a 25°C.

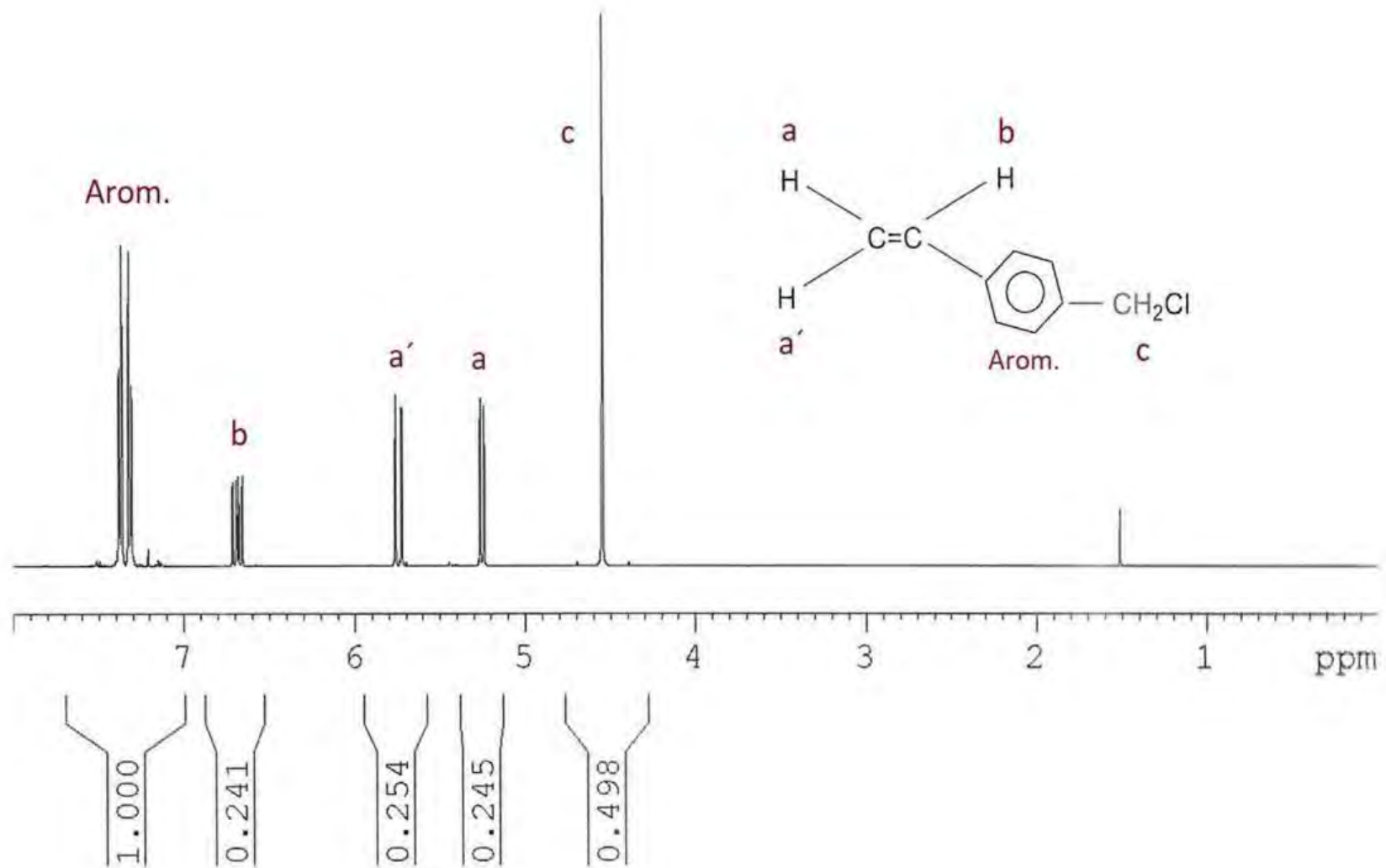


Figura 5.3. Espectro $^1\text{H-RMN}$ del 4-clorometilostireno (CMS) en cloroformo deuterado a 25°C .

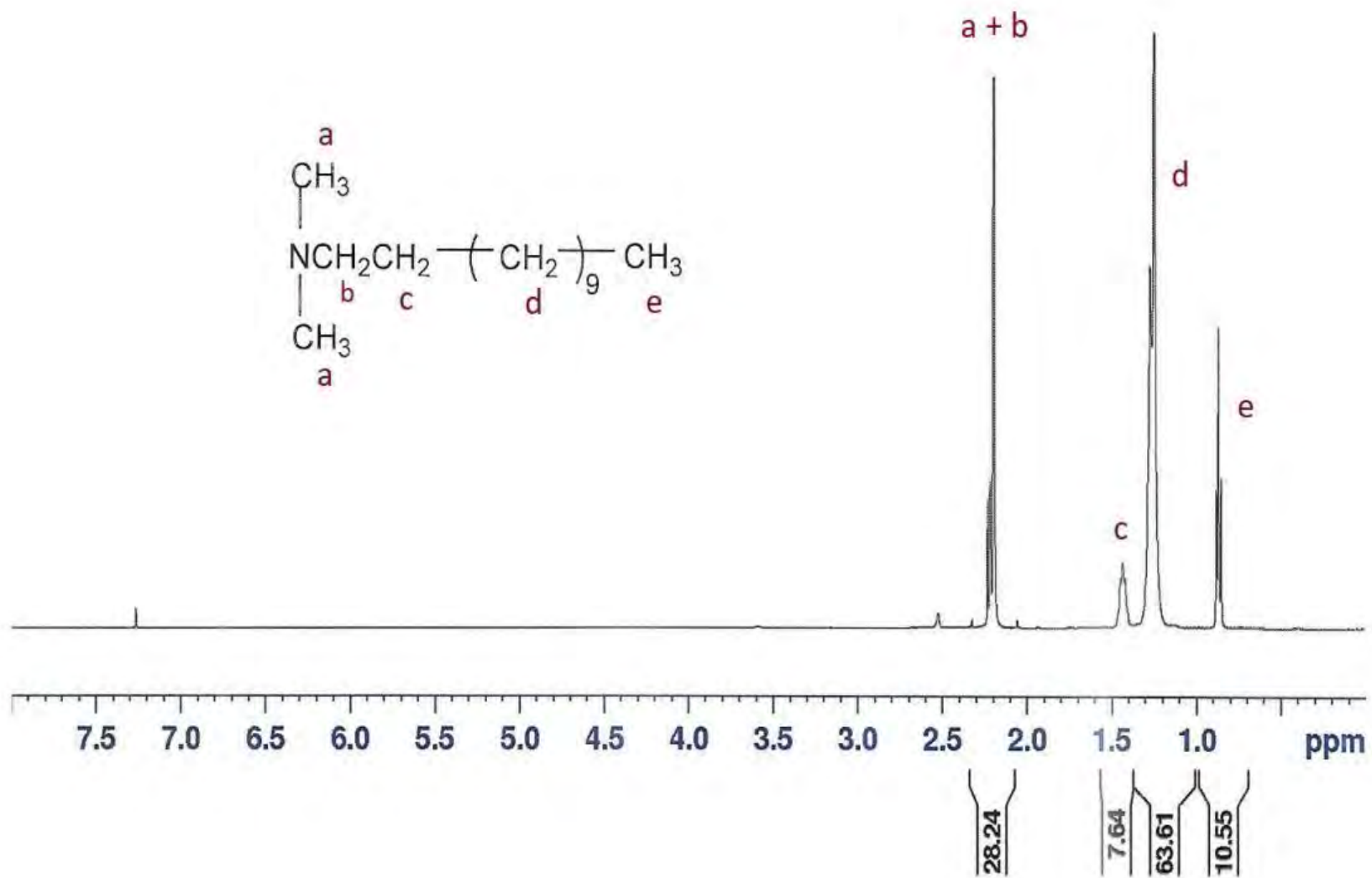


Figura 5.4. Espectro ¹H-RMN del N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA) en cloroformo deuterado a 25°C.

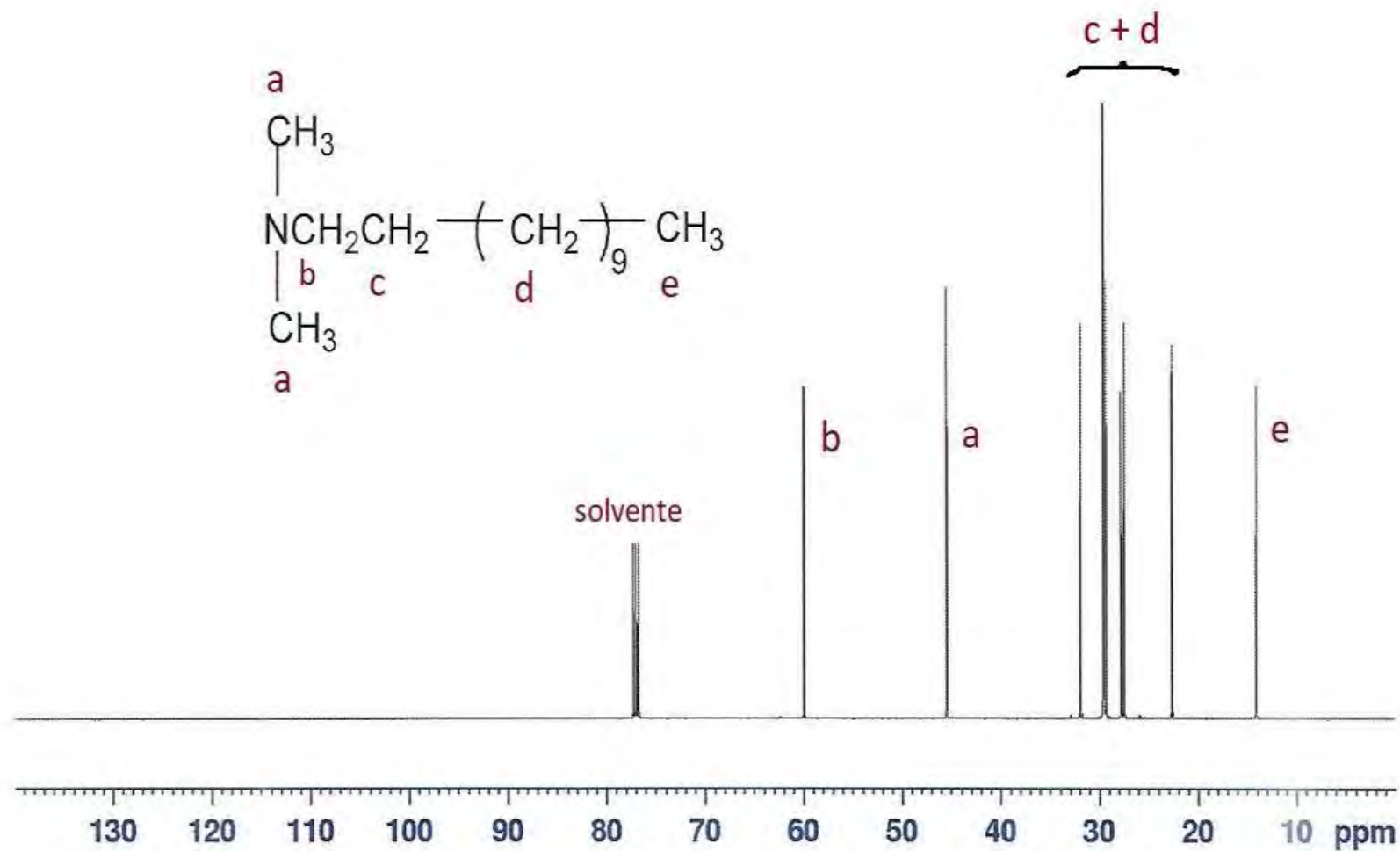


Figura 5.5. Espectro ¹³C-RMN del N,N-dimetil-dodecilamina (DMDA) en cloroformo deuterado a 25°C.

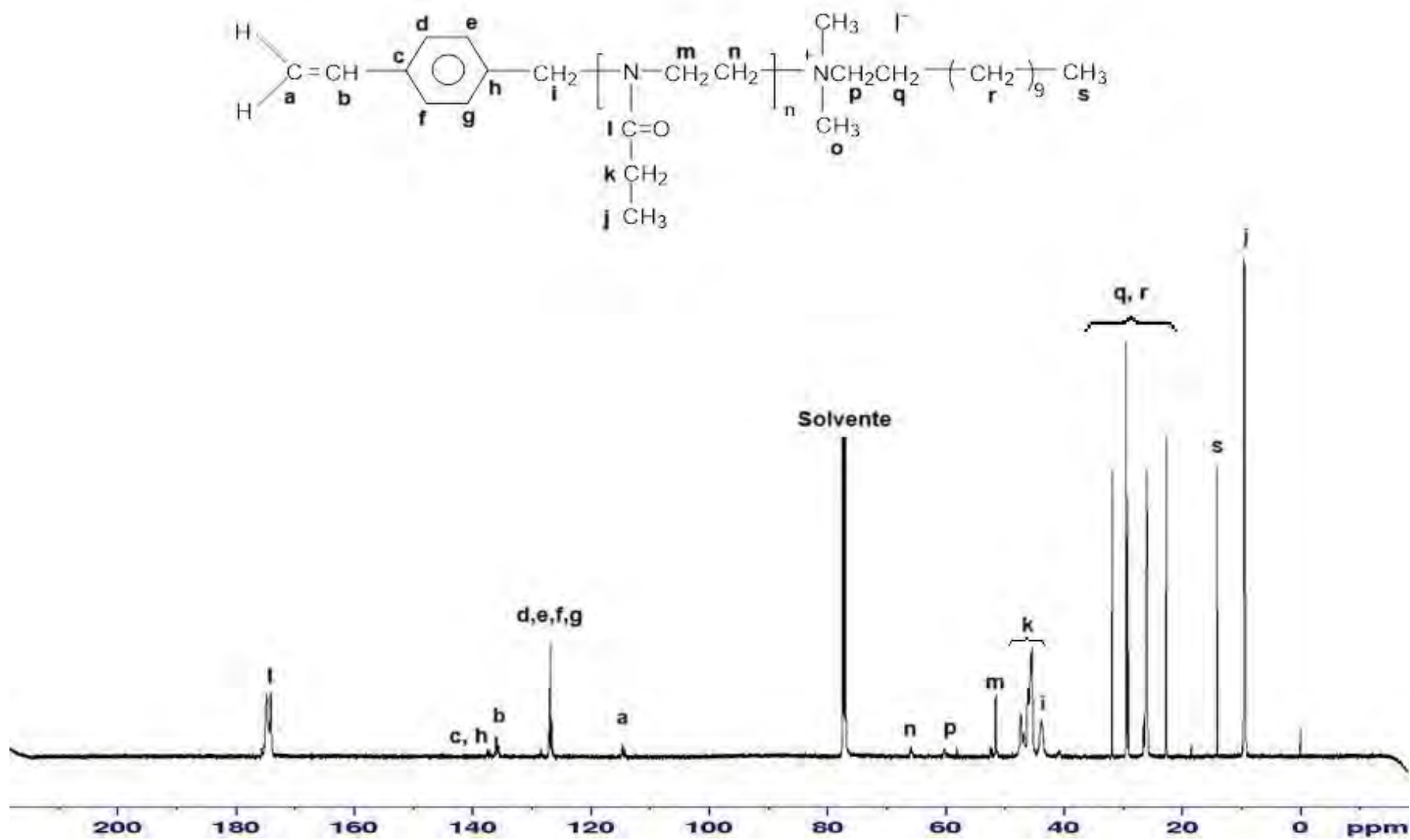


Figura 5.6. Espectro ^{13}C -RMN de macromonómero MKA-1 en cloroformo deuterado a 25°C.

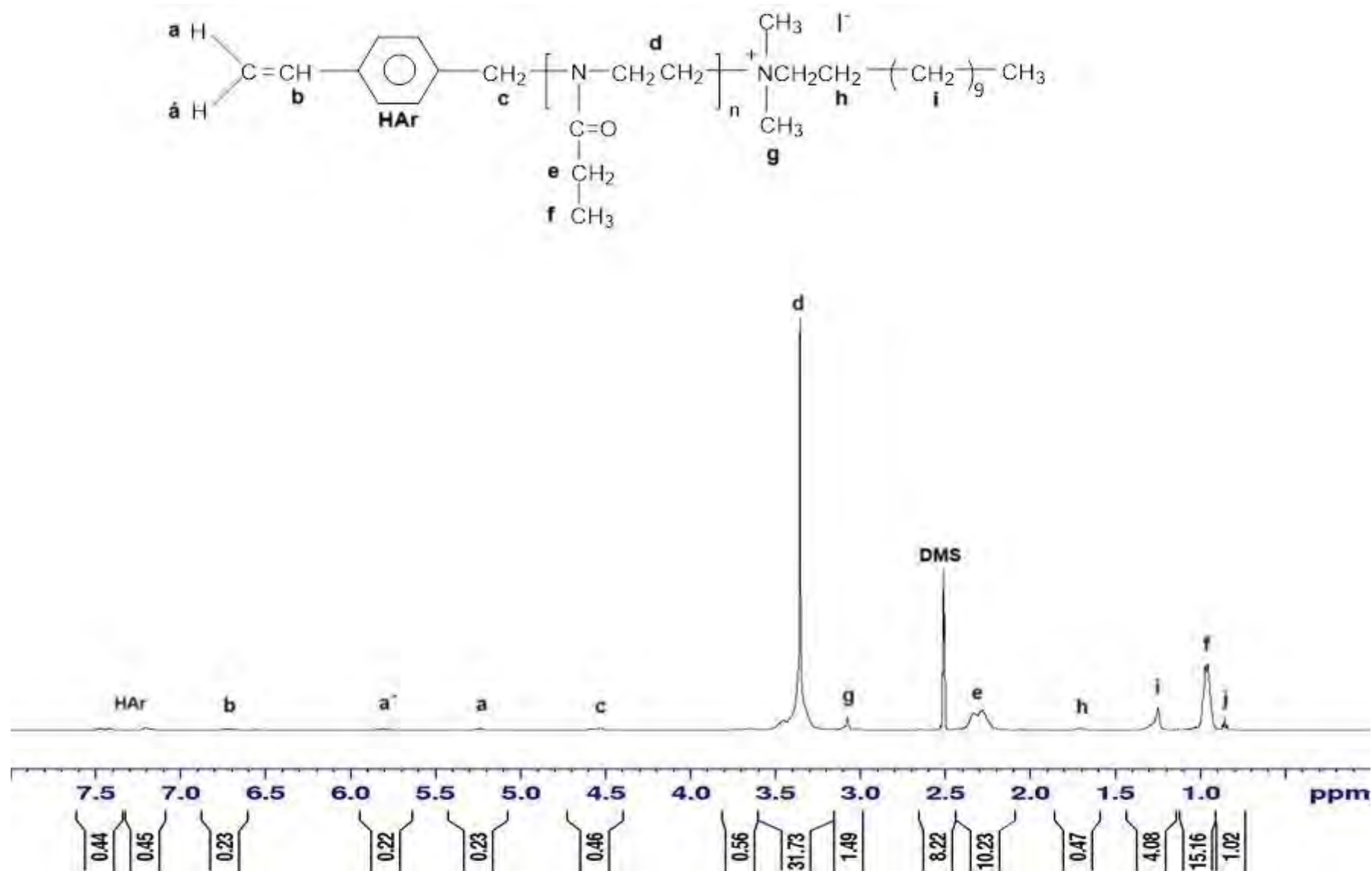


Figura 5.7. Espectro ¹H-RMN de macromonómero MKA-1 en dimetilsulfóxido a 25°C.

ESPECTROS INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

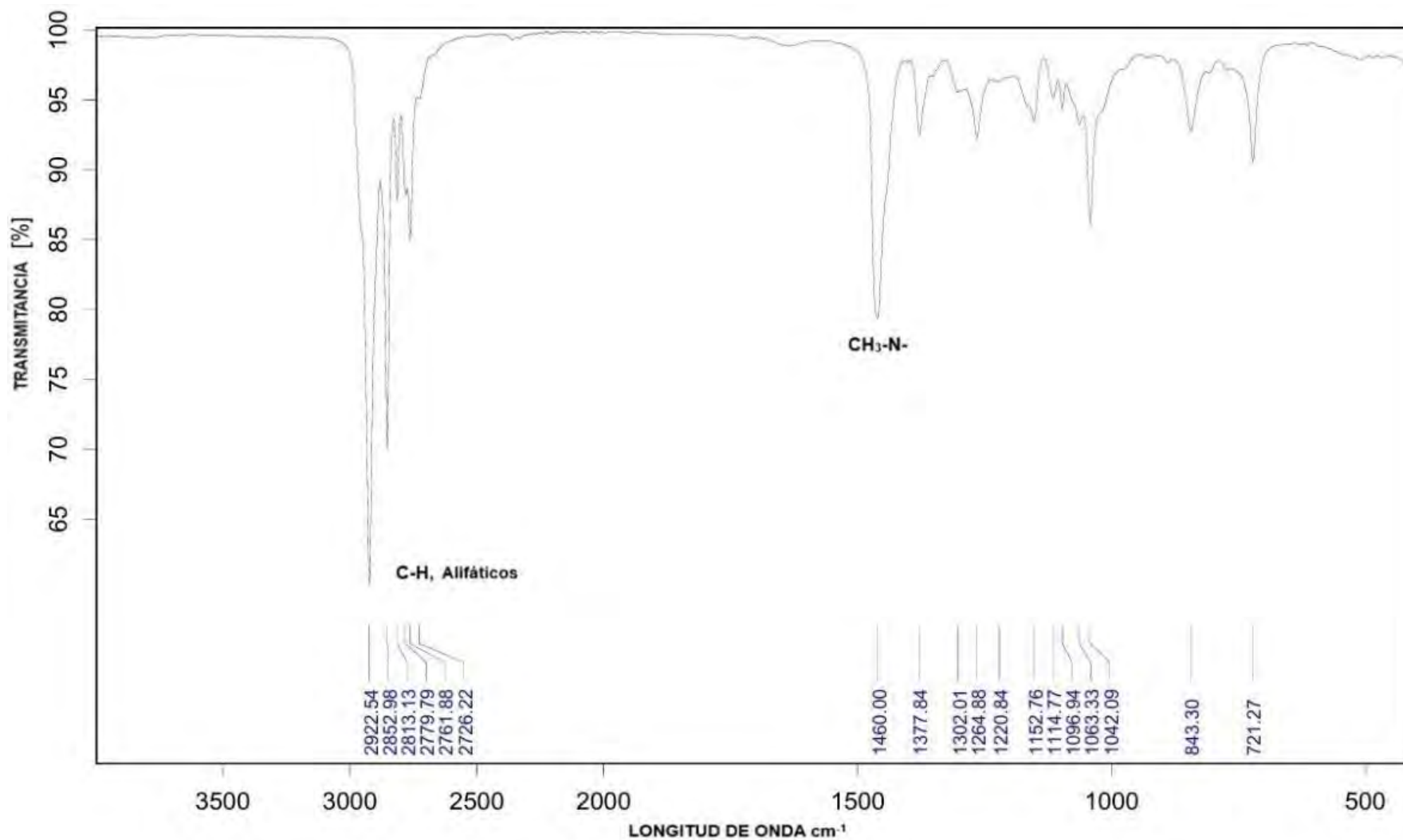


Figura 5.8. Espectro FTIR de N,N-dimetil-dodecilamina.

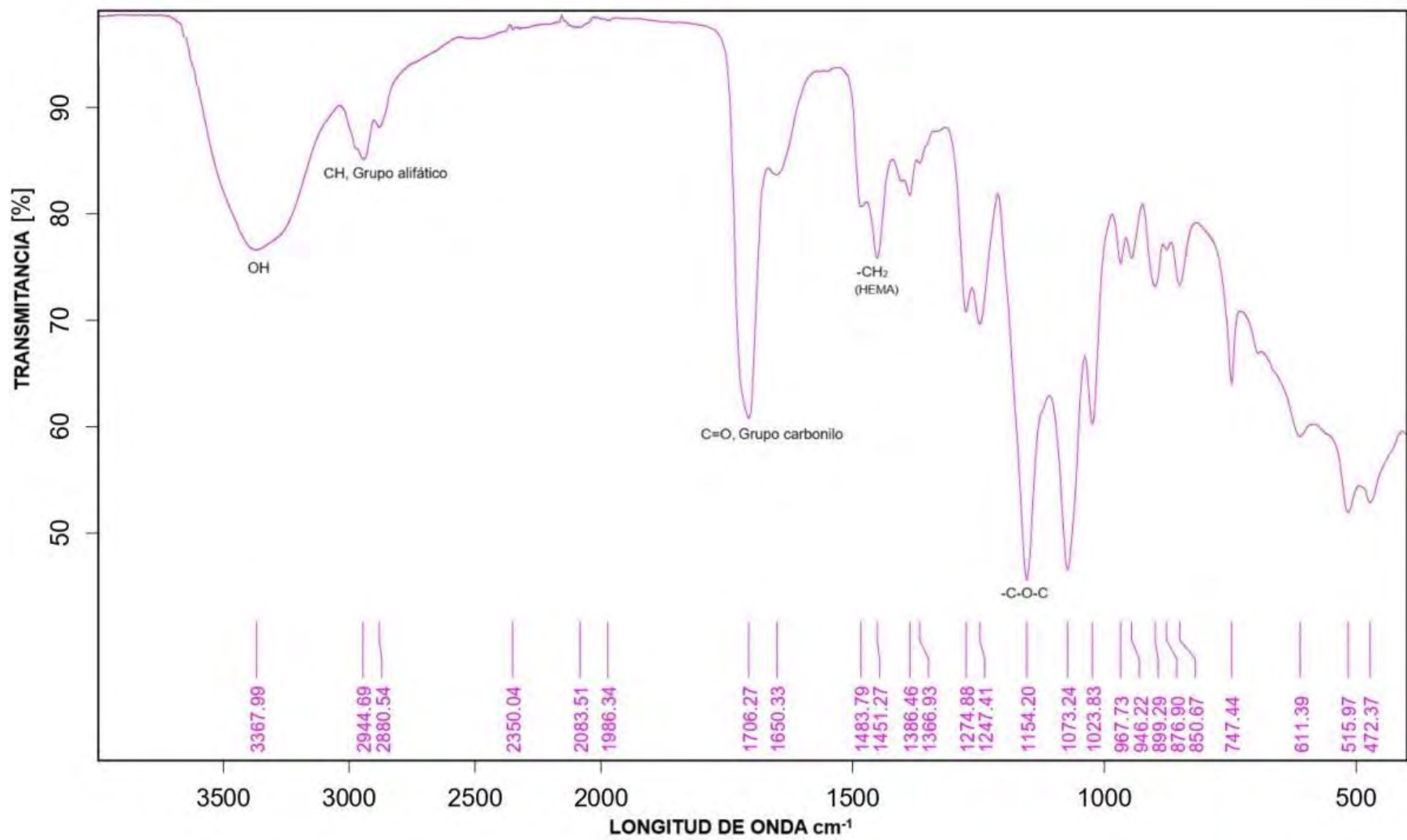


Figura 5.9. Espectro FTIR de PHEMA.

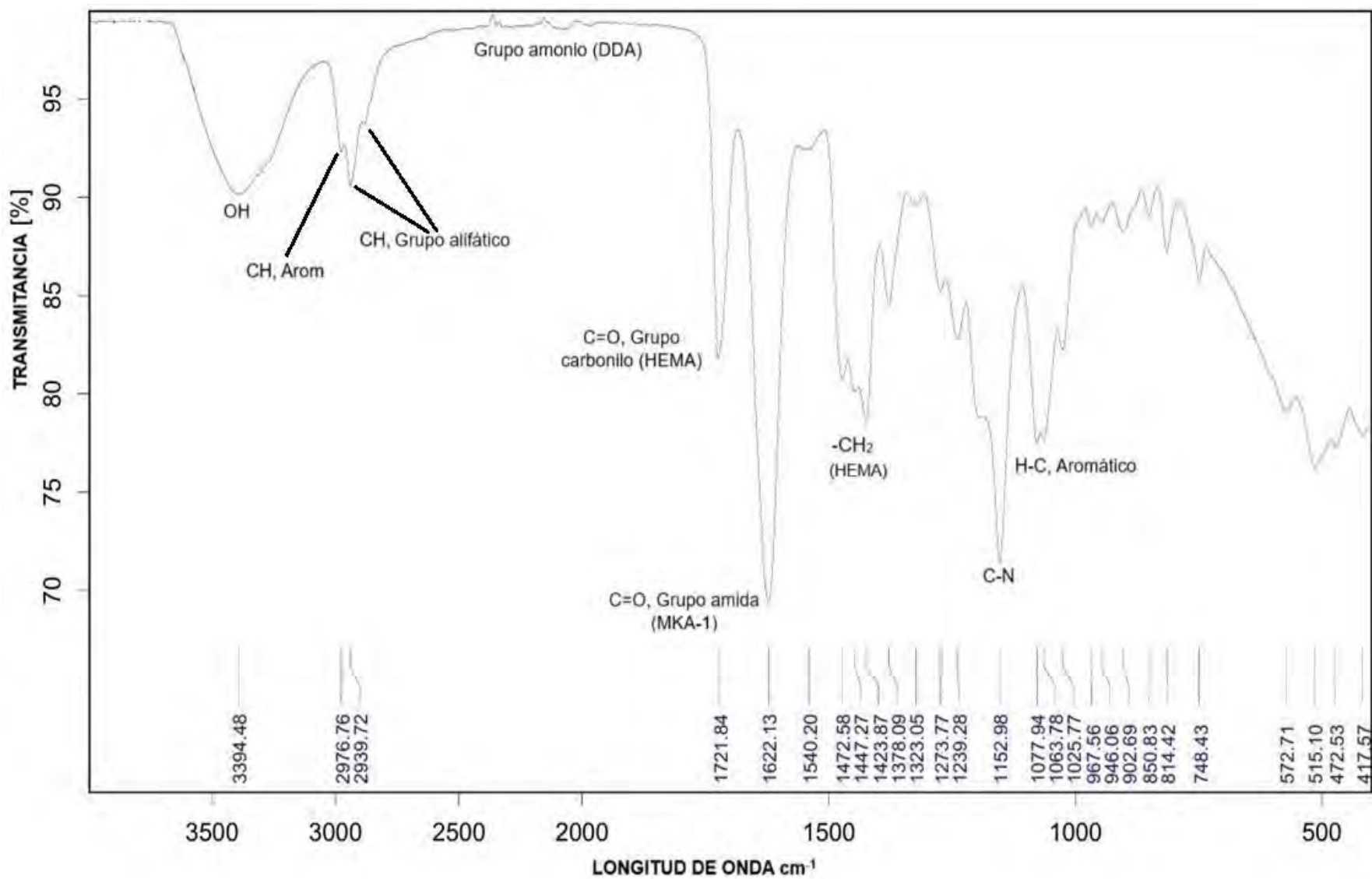


Figura 5.10. Espectro FTIR de hidrogel HGA5 con macromonómero MKA-1.

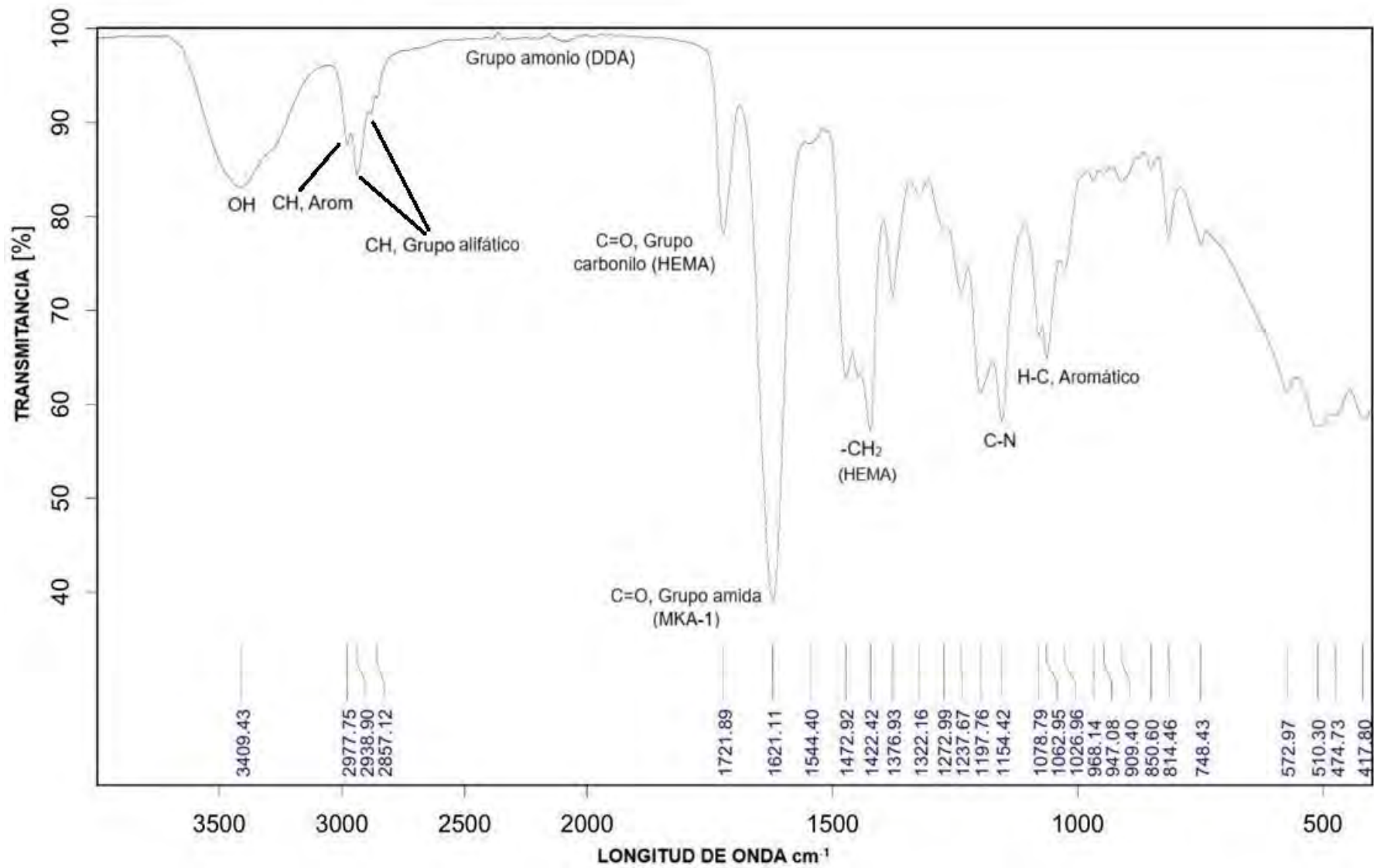


Figura 5.11. Espectro FTIR de hidrogel HGA6 con macromonómero MKA-1.

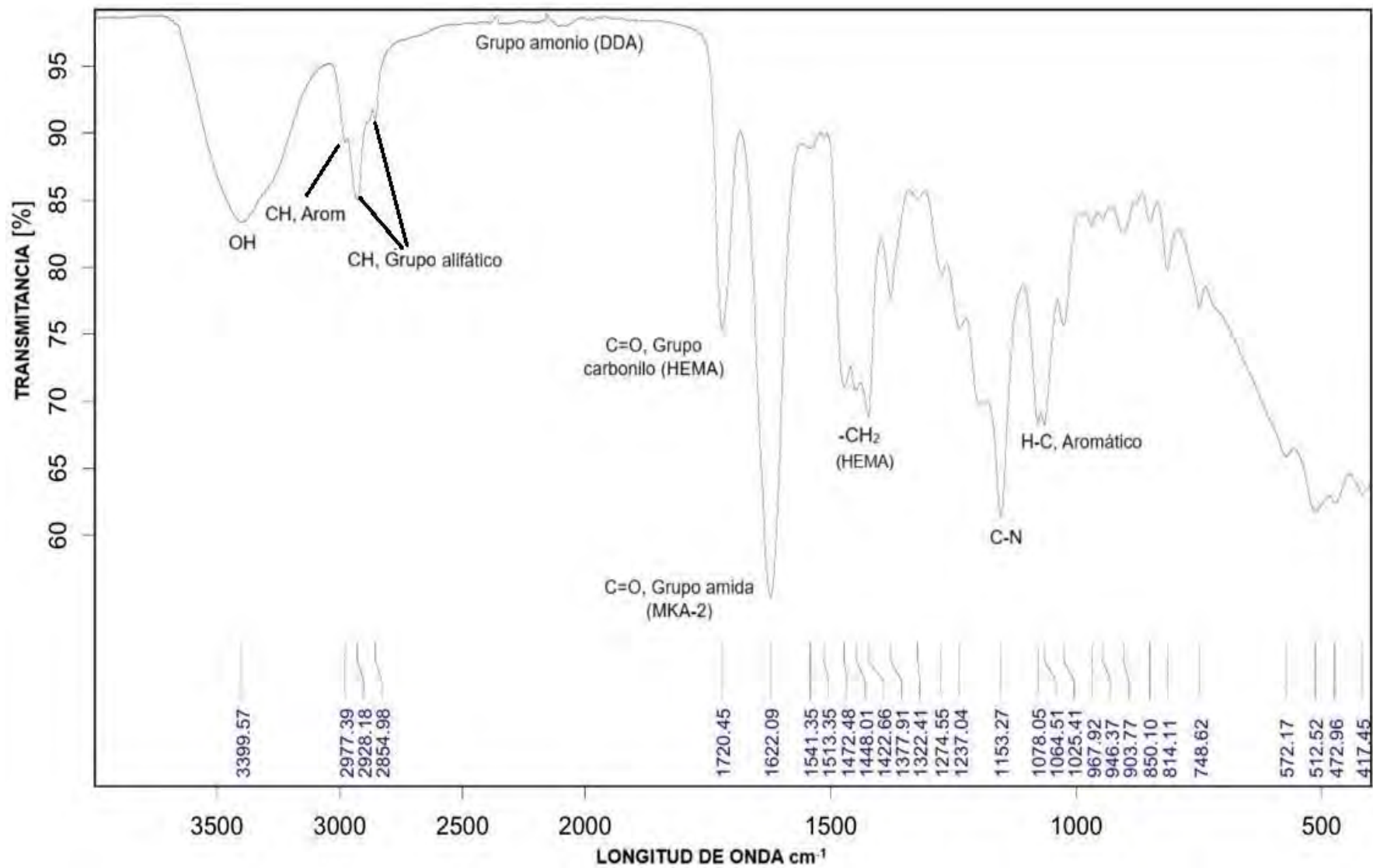


Figura 5.12. Espectro FTIR de hidrogel HGA7 con macromonómero MKA-2.

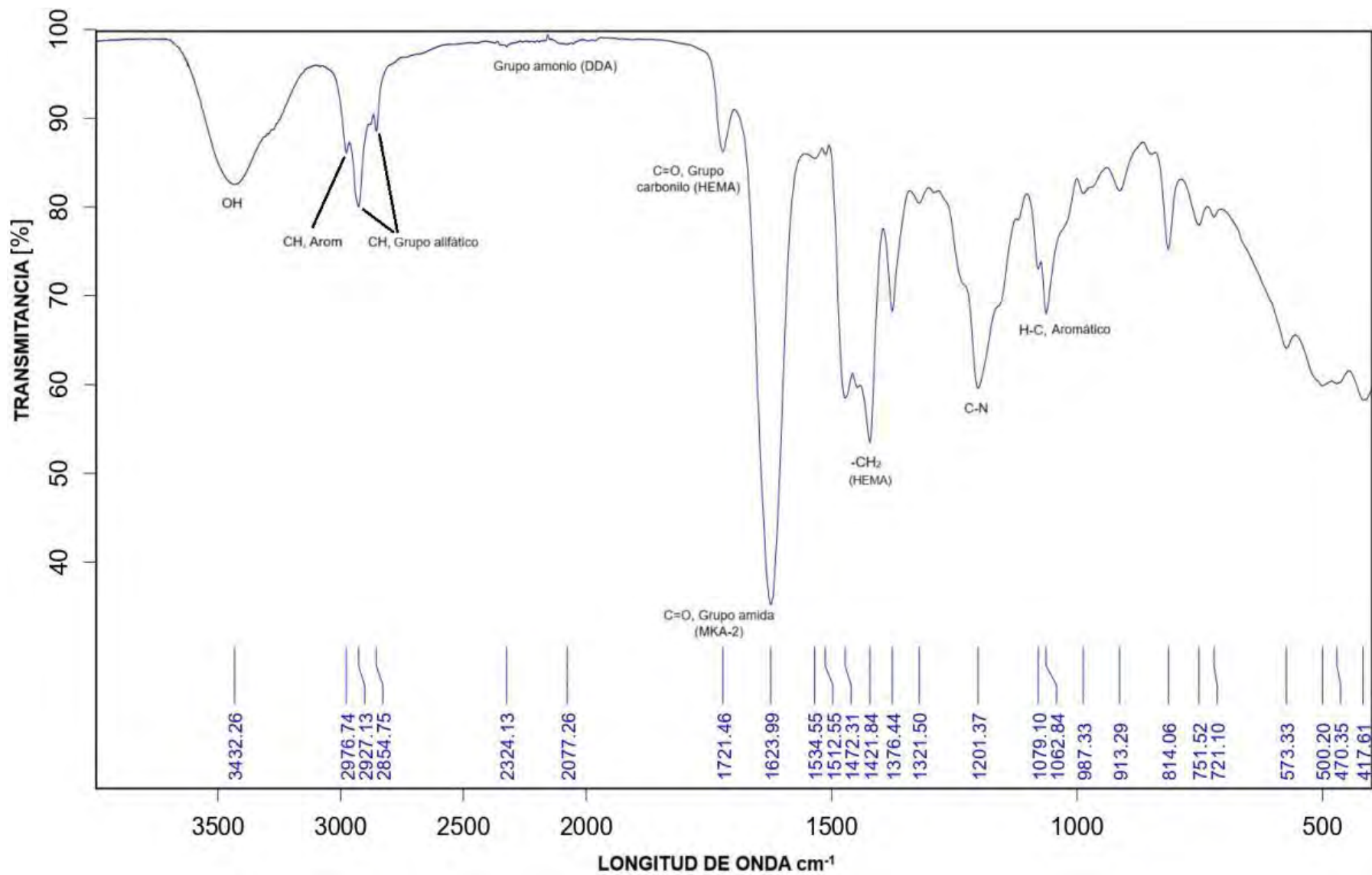


Figura 5.13. Espectro FTIR de hidrogel HGA8 con MKA-2.

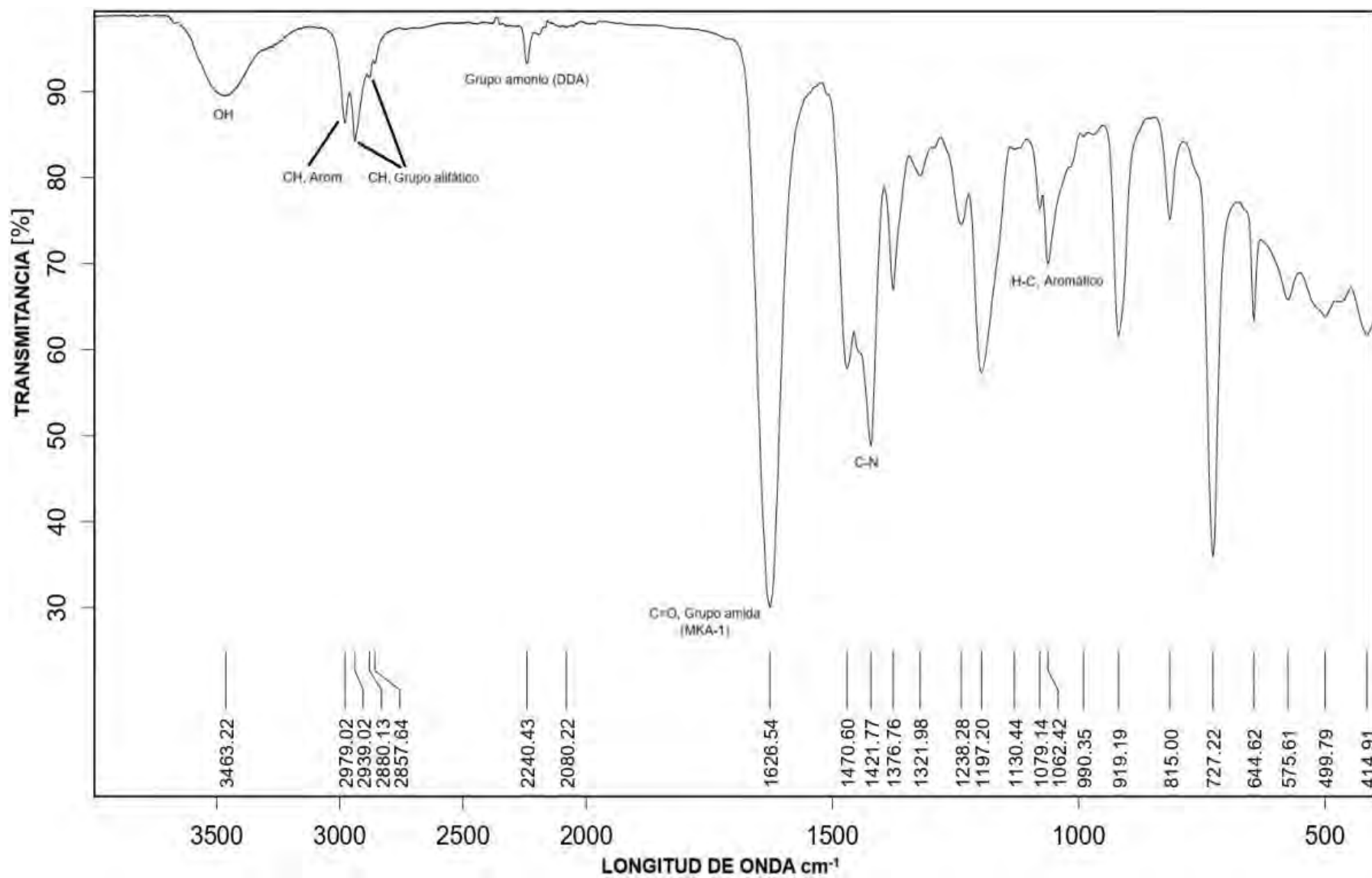


Figura 5.14. Espectro FTIR de hidrogel HGA9 con MKA-1.

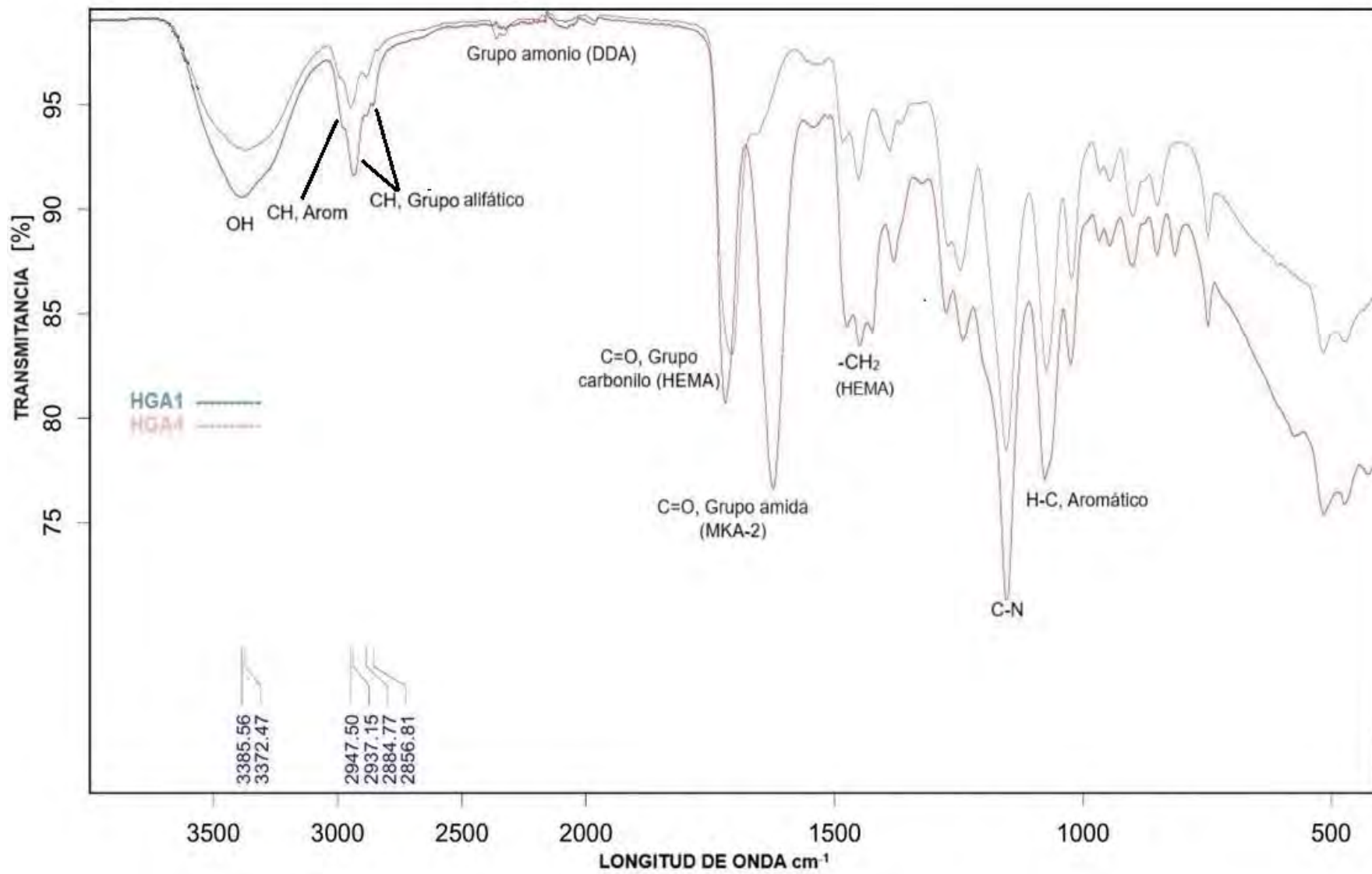


Figura 5.15. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA1/HGA4.

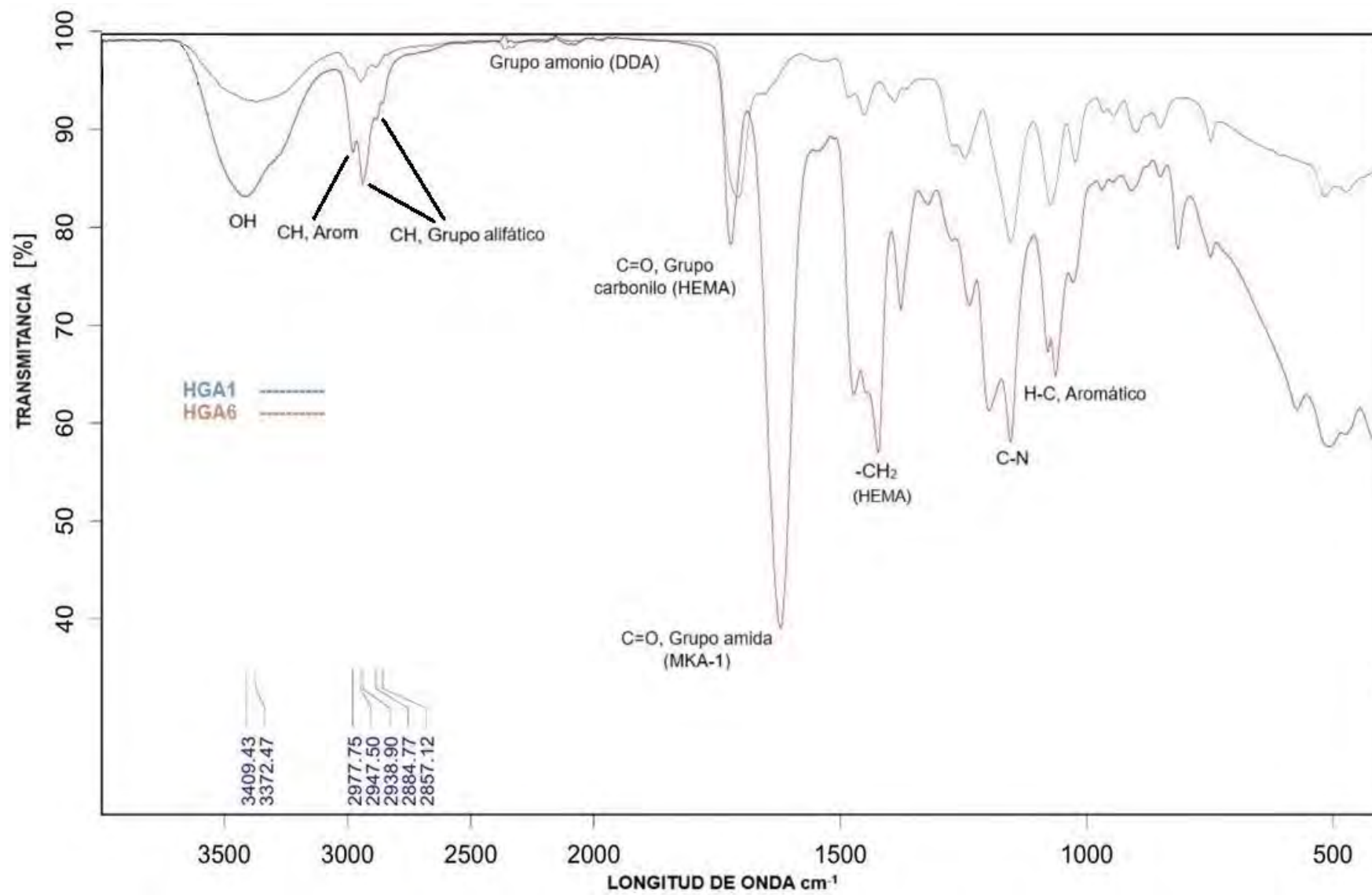


Figura 5.16. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA1/HGA6.

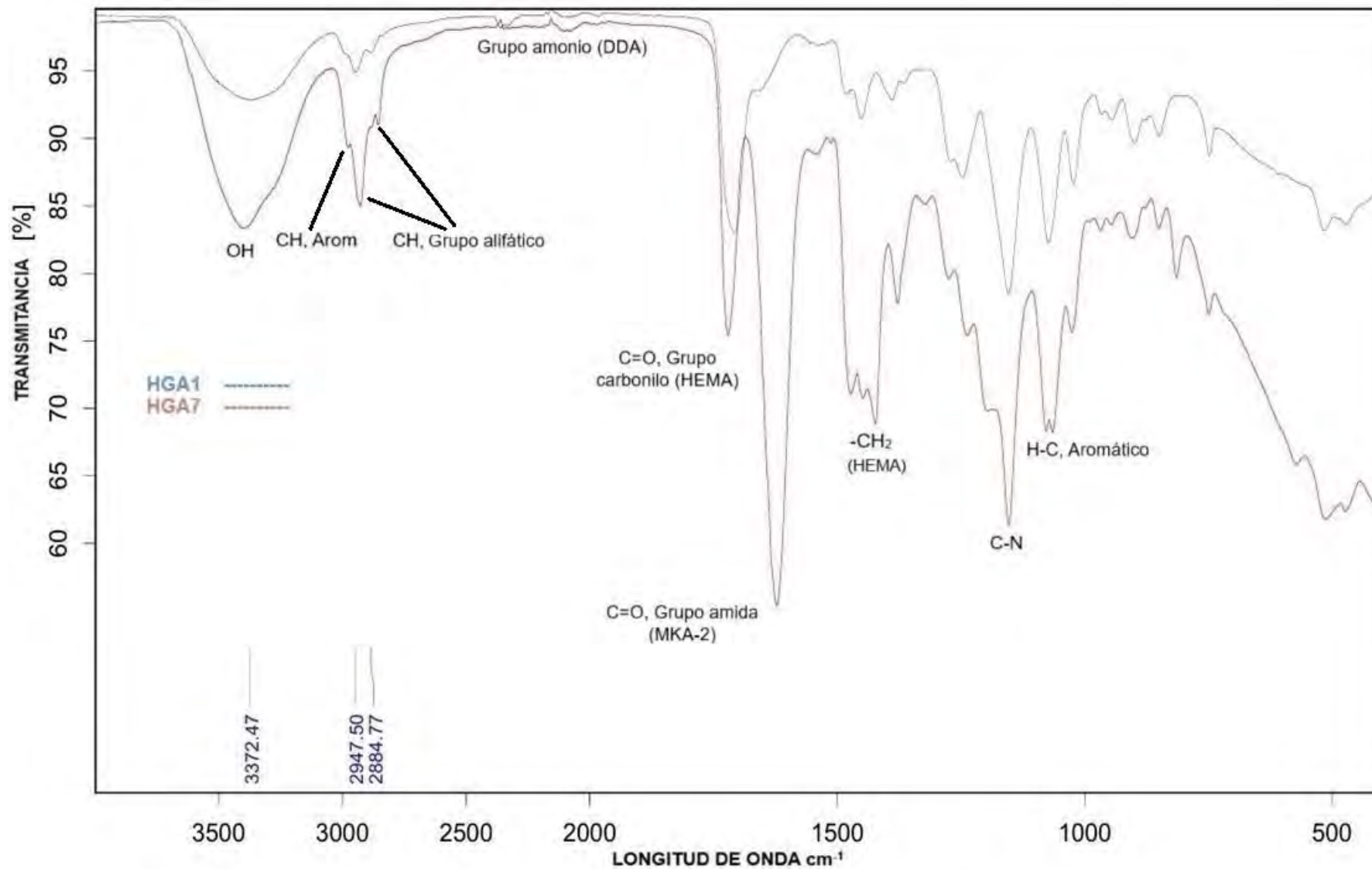


Figura 5.17. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA1/HGA7.

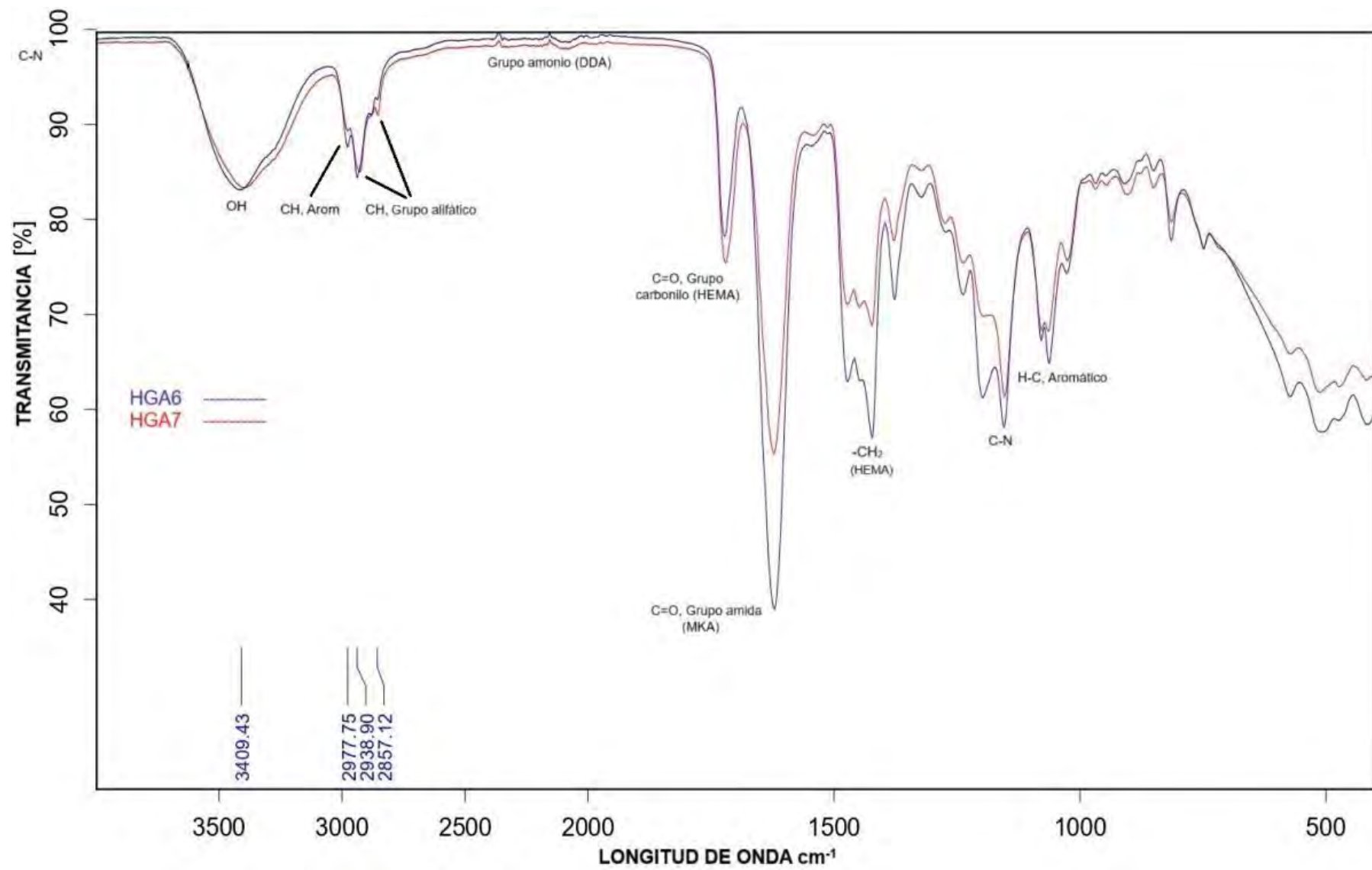


Figura 5.18. Espectro FTIR de los hidrogeles HGA6/HAG7.

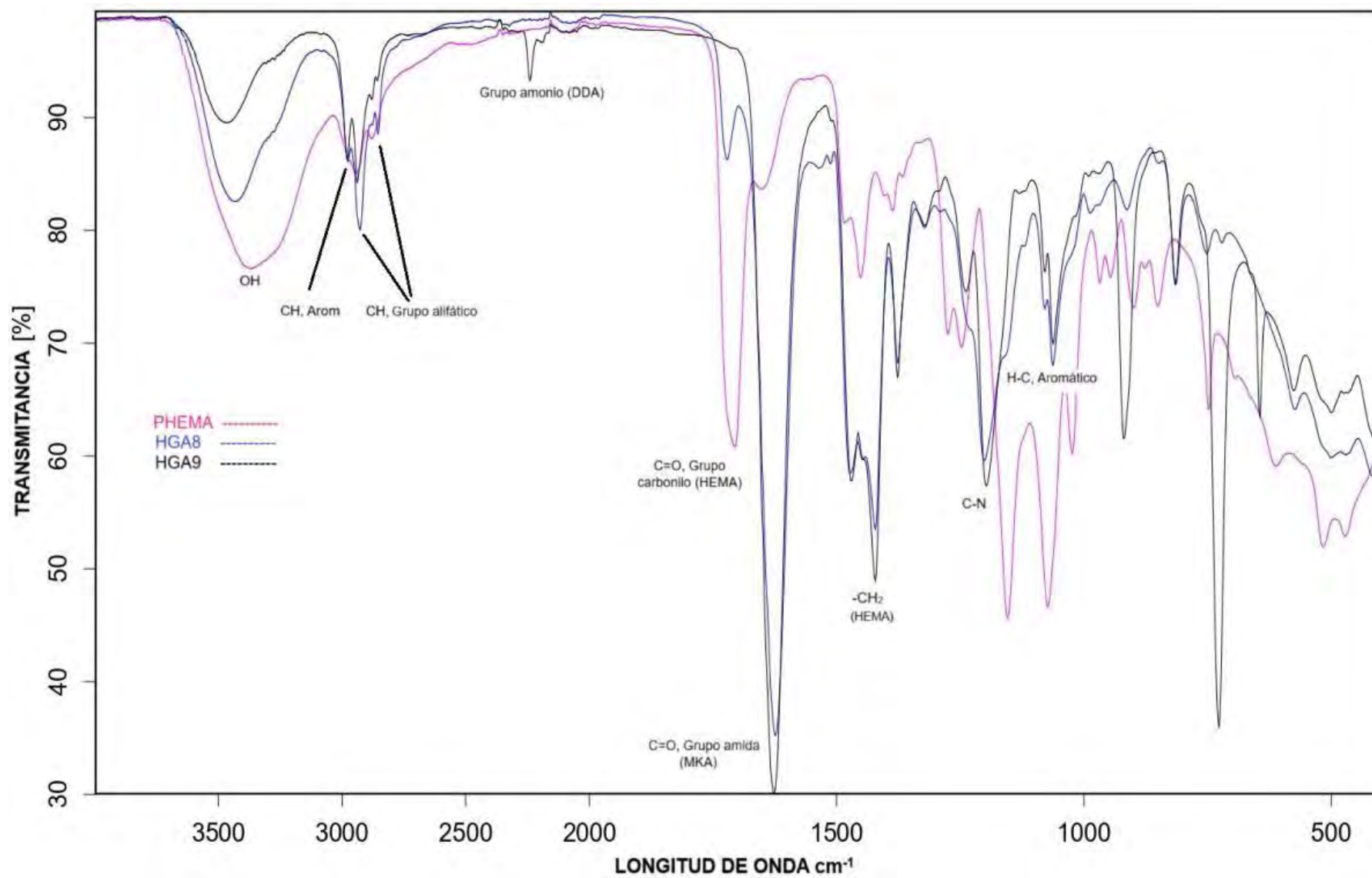


Figura 5.19. Espectro FTIR de los hidrogeles PHEMA/HGA8/HGA9.

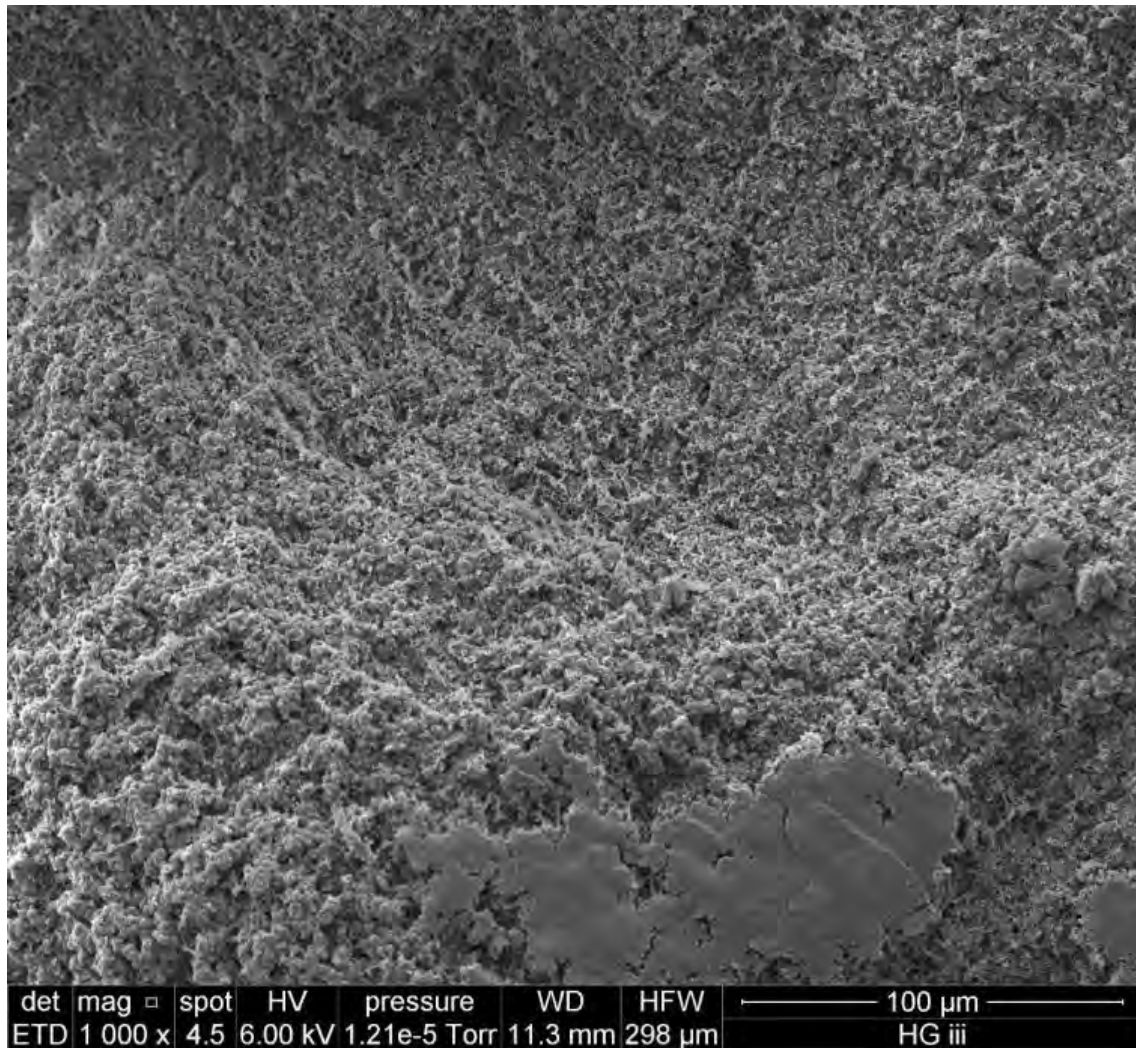


Figura 5.20. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 (Hidrogel “blanco”) con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 1000x.

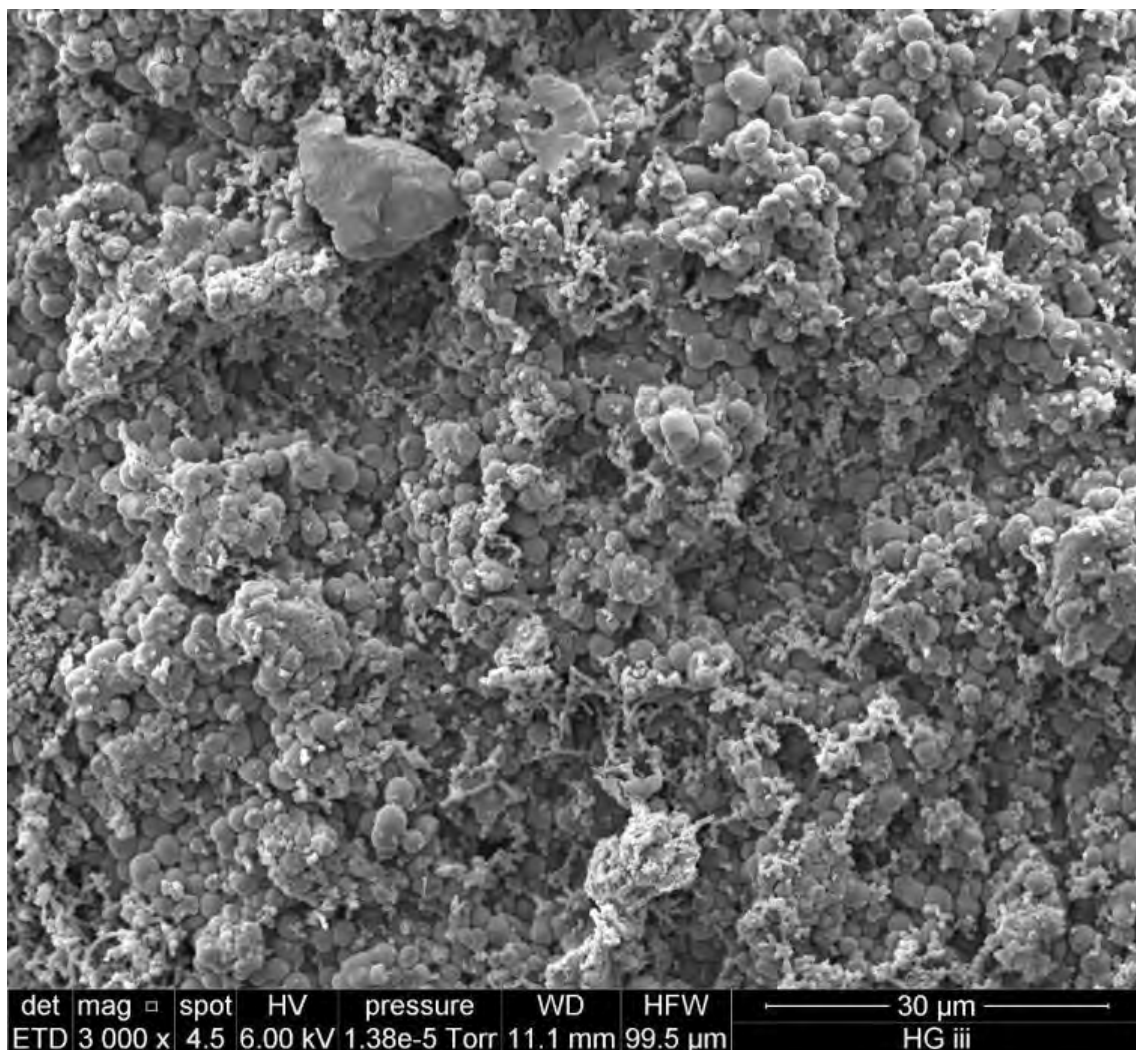


Figura 5.21. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x.

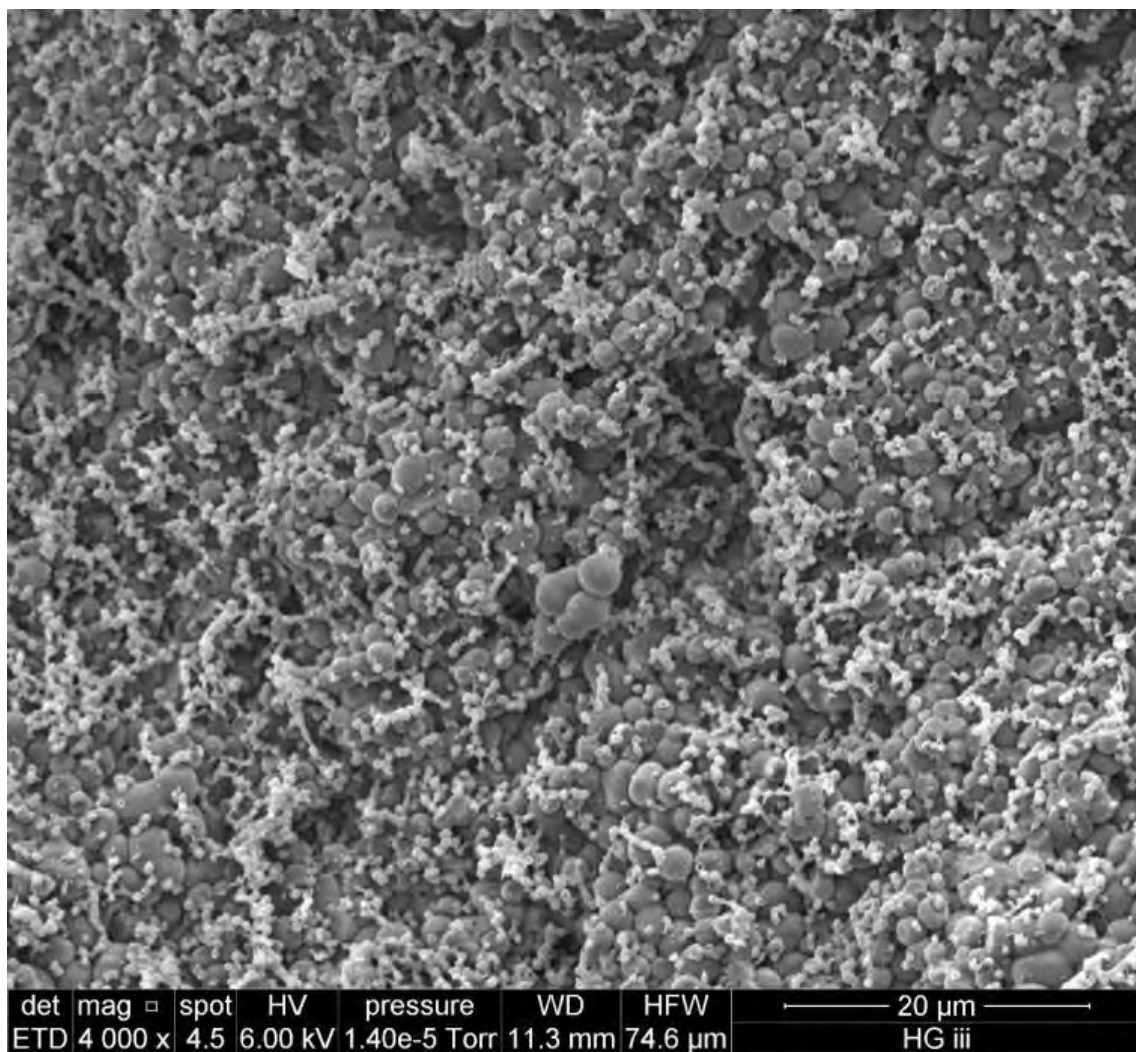


Figura 5.22. Imagen de la superficie del hidrogel HGA1 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 4000x.

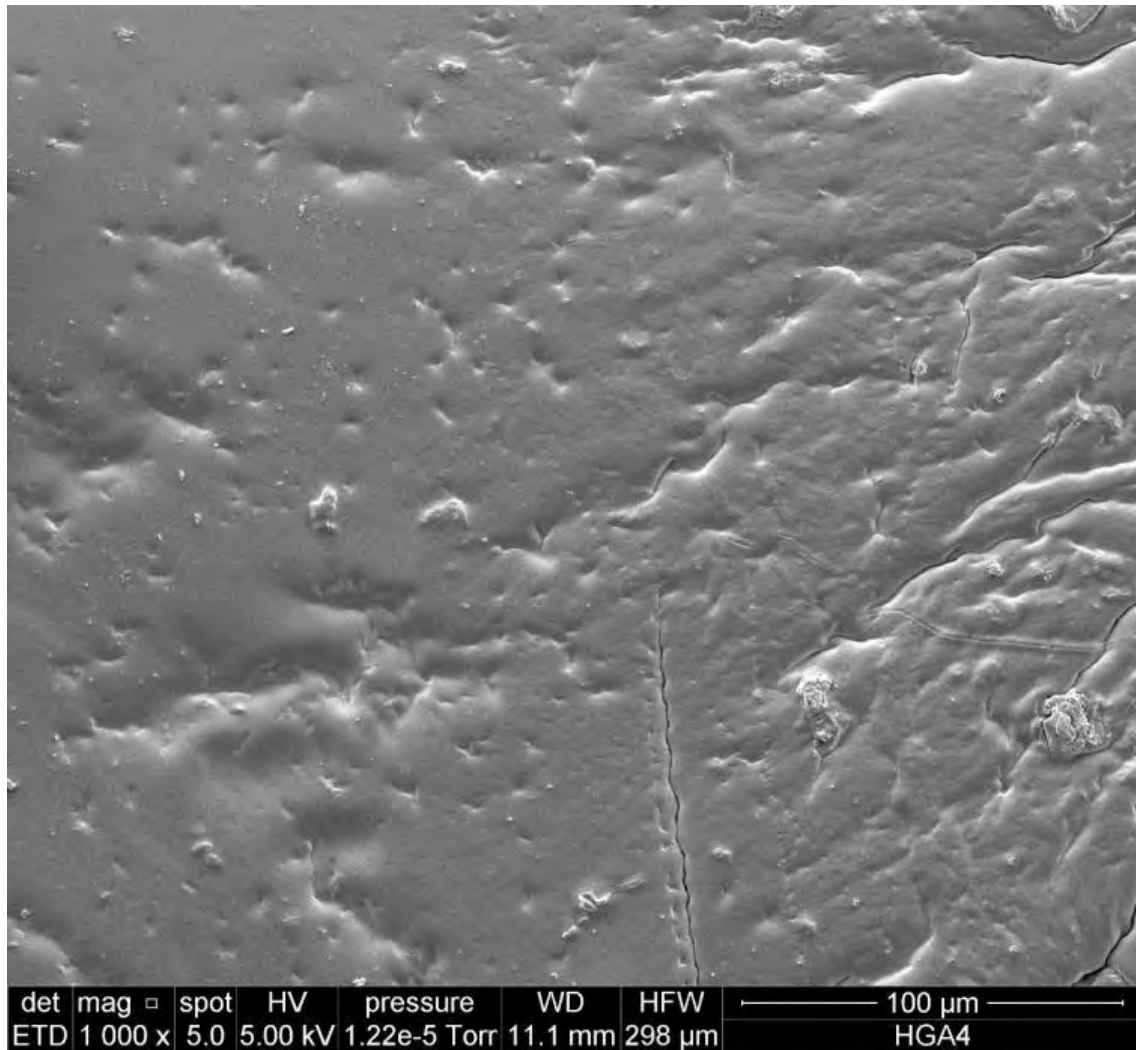


Figura 5.23. Imagen de la superficie del hidrogel HGA4 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 1000x.



Figura 5.24. Imagen de la superficie del hidrogel HGA5 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x.

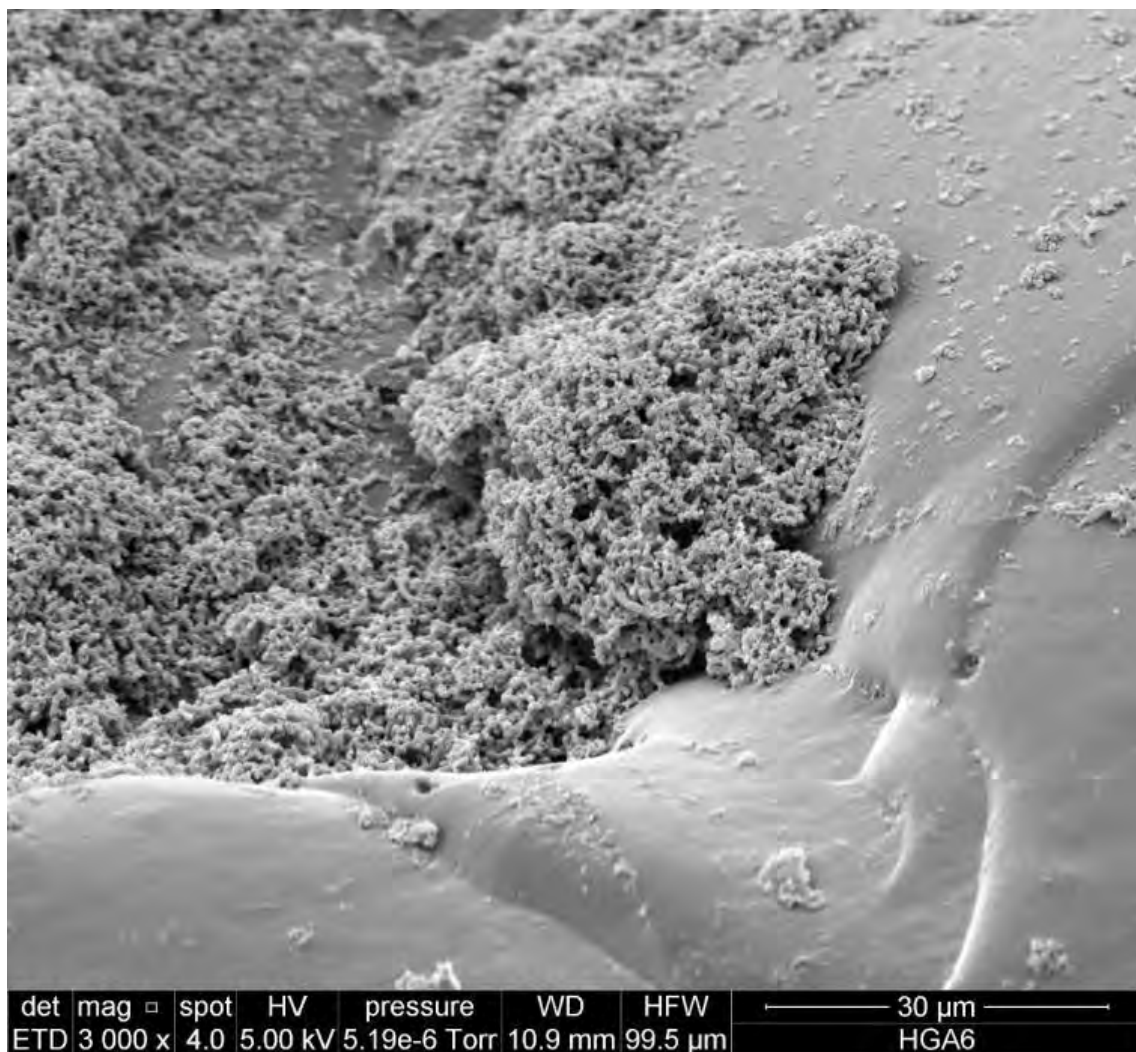


Figura 5.25. Imagen de la superficie del hidrogel HGA6 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x.

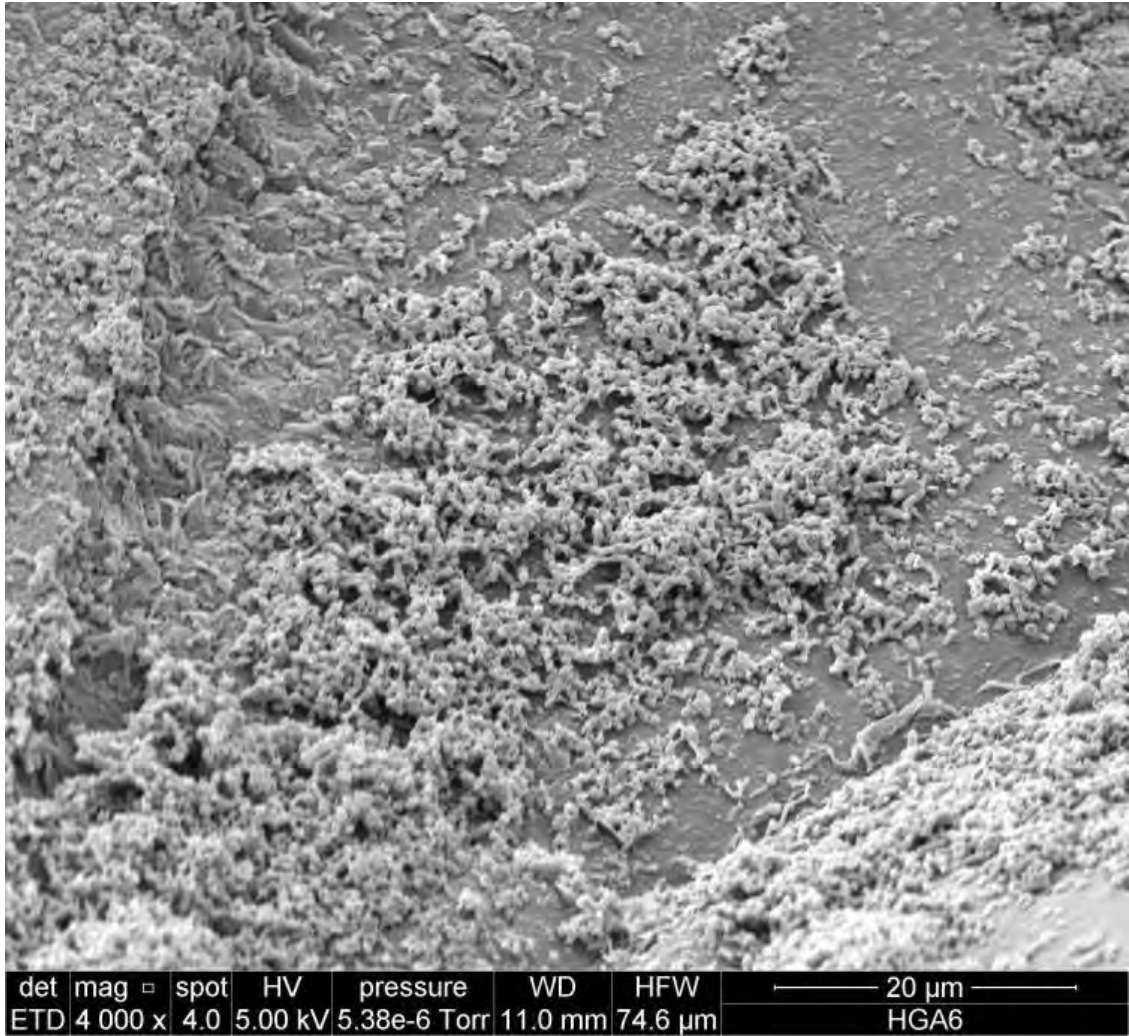


Figura 5.26. Imagen de la superficie del hidrogel HGA6 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 4000x.

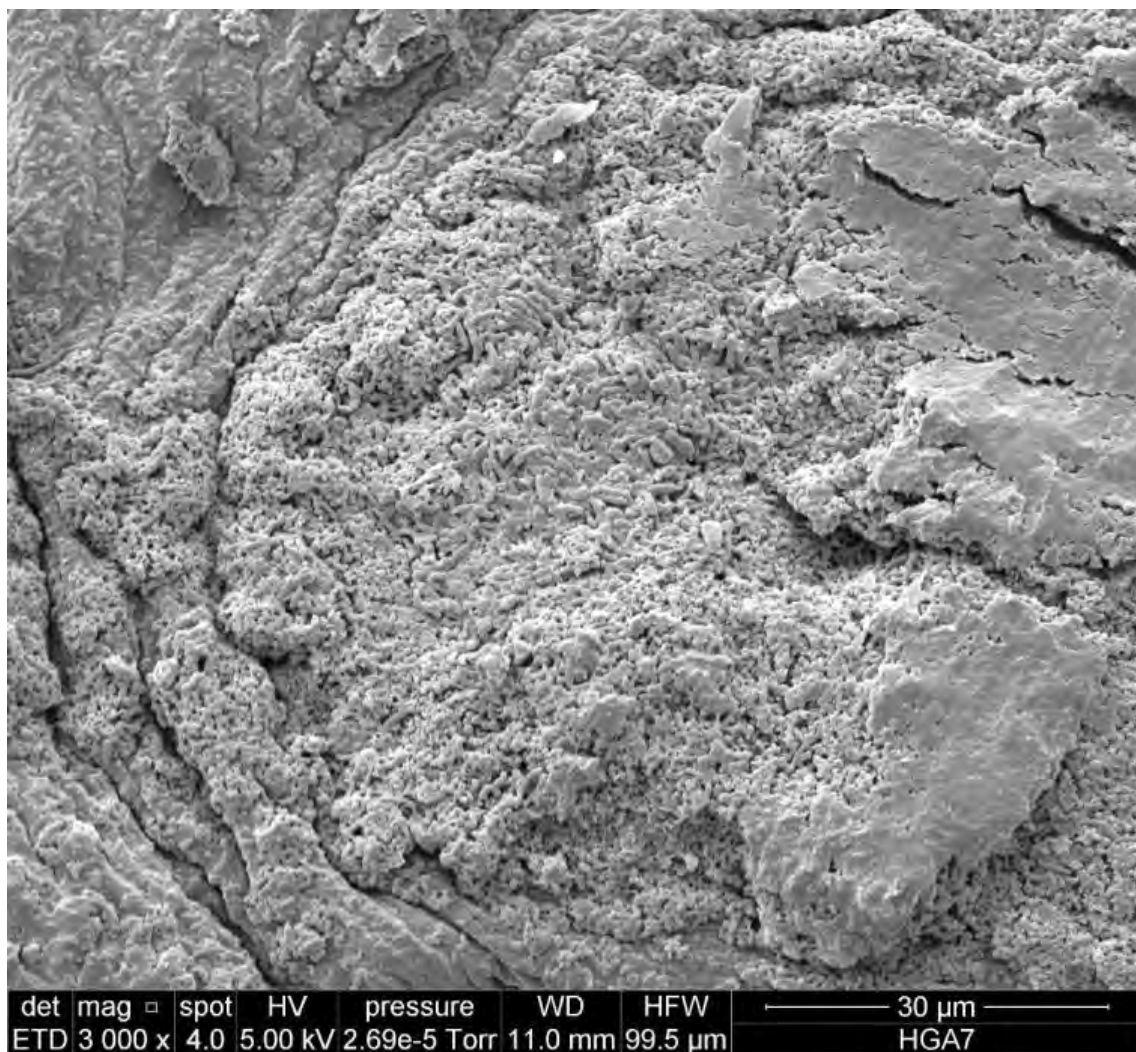


Figura 5.27. Imagen de la superficie del hidrogel HGA7 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 3000x.

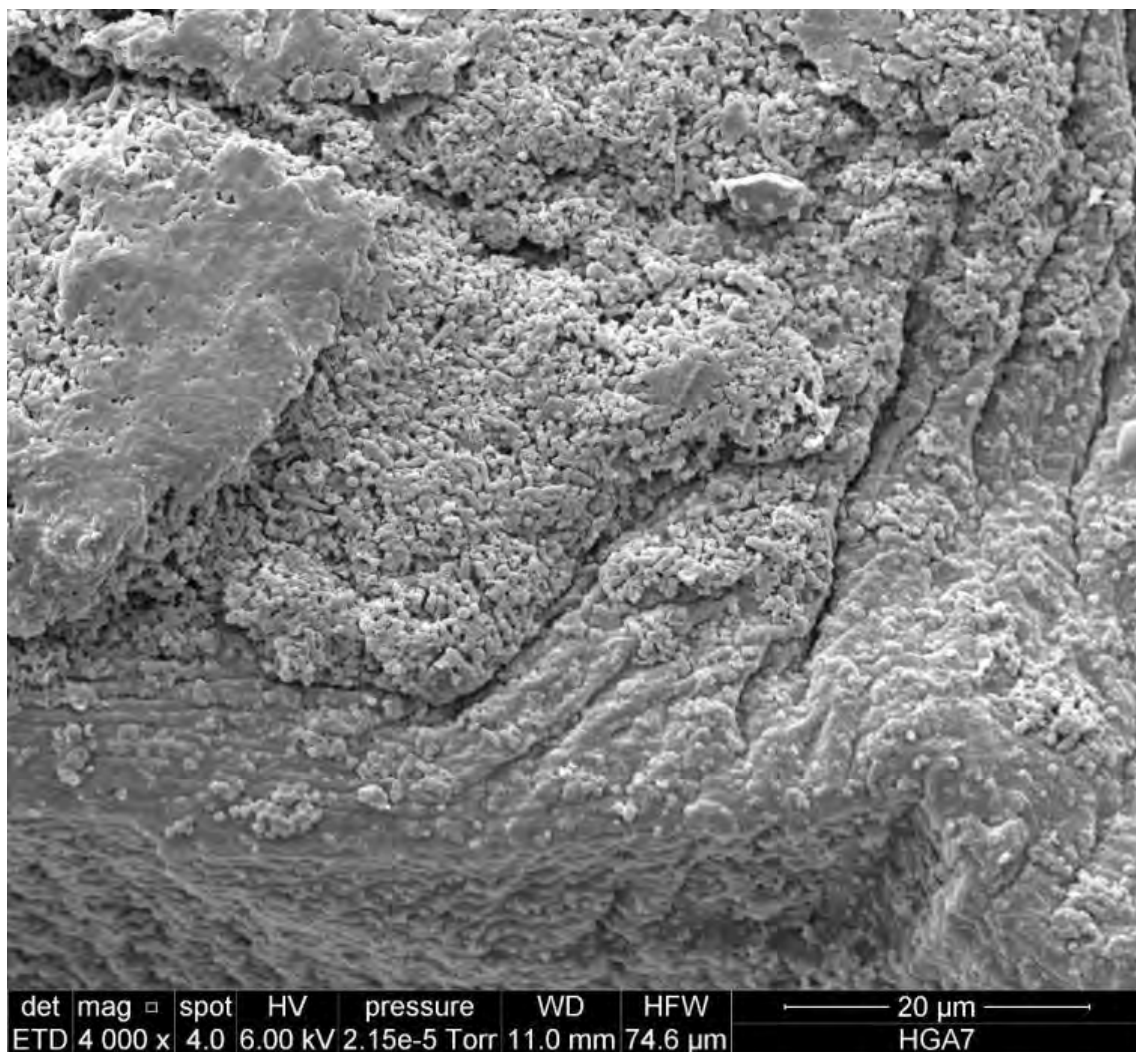


Figura 5.28. Imagen de la superficie del hidrogel HGA7 con el microscopio electrónico de barrido (SEM) luego de 24 horas de exposición a la bacteria *Staphylococcus aureus* a magnificación de 4000x.

ANEXO III

CALCULOS ESTEQUIOMETRICOS DE LOS MACROMONOMEROS MKA-1 Y MKA-2.

Tabla 5.2. Síntesis de los macromonómeros resultados y condiciones de reacción

Donde:

COMPONENTES	MKA-1 ^a		MKA-2 ^a	
4-clorometilestireno ^b	5.63 mmol	0.86 g	11.27 mmol	1.72 g
Ioduro de sodio ^c	11.26 mmol	1.69 g	22.54 mmol	3.38 g
2-etil-2-oxazolina ^d	118.83 mmol	11.78 g	101.4 mmol	10.05 g
N,N-dimetil-Dodecilamina ^e	56.30 mmol	12.01 g	112.7 mmol	24.05 g
Acetonitrilo ^f	30 ml		38 ml	
Temperatura ^{°C}	75		75	
Tiempo de Reacción (horas)	7		7	
Rendimiento %	85.7		88.3	
Relación molar inicial de 2-etil-2-oxazolina/4-clorometilestireno	21.1		9.0	
Relación molar final de etil-2-oxazolina/4-clorometilestireno calculado por ¹ H-RMN	21.4		9.2	
Peso molecular teórico	2,422		1,223	
Peso molecular experimental determinado por ¹ H-RMN	2,452		1,243	

a: Macromonómeros (MKA-1 y MKA-2), b: Iniciador, c: Catalizador, d: Monómero, e: Terminador y f: Solvente.

III.1. Para el macromonómero MKA-1 los moles teóricos de los diferentes componentes se calcularon tomando en cuenta una cantidad de 0.86 g de CMS de la siguiente manera:

Iniciador 4-clorometil estireno (CMS)

$$\text{mili mole iniciador CMS} = \frac{0.86 \text{ g}}{152.62 \text{ g/mol}} \times 1000$$

$$\text{mili moles iniciador CMS} = 5.63$$

Catalizador o coiniador ioduro de sodio (NaI) la relación molar inicial debe ser [Coiniciador]=2[Iniciador]

$$\text{mili moles coiniador NaI} = 5.63 \times 2$$

$$\text{mili moles coiniador NaI} = 11.26$$

$$\text{Peso de NaI} = \frac{11.26 \text{ mmol}}{1000} \times 149.89 \text{ g/mol}$$

$$\text{Peso de NaI} = 1.69 \text{ g}$$

Monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa)

$$\text{mili moles monómero Etoxa} = \frac{11.78 \text{ g}}{99.13 \text{ g/mol}} \times 1000$$

$$\text{mili moles monómero Etoxa} = 118.83$$

Terminador N, N-dimetil-dodecilamina se usó un exceso de aproximadamente 10 veces respecto del iniciador CMS.

$$\text{mili moles terminador N, N-dimetil-dodecilamina} = 5.63 \text{ mmol} \times 10$$

$$\text{mili moles terminador N, N-dimetil-dodecilamina} = 56.3$$

$$\text{Peso N,N-dimetil-dodecilamina} = \frac{56.30 \text{ mmol}}{1000} \times 213.40 \text{ g/mol}$$

$$\text{Peso N,N-dimetil-dodecilamina} = 12.01 \text{ g}$$

El grado de polimerización teórico se calculó como sigue:

$$\text{DP teórico} = \frac{\text{moles monómero}}{\text{moles iniciador}}$$

$$\text{DP teórico} = \frac{118.83 \text{ mmol}}{5.63 \text{ mmol}}$$

$$\text{DP teórico} = 21.1$$

El peso teórico del macromonómero fue:

$$\text{Peso teórico} = \text{peso iniciador} - \text{peso del cloro} + \text{peso monómero} + \text{peso terminador}$$

$$\text{Peso teórico} = 0.86 \text{ g} - 0.20 \text{ g} + 11.78 \text{ g} + 1.201 \text{ g}$$

$$\text{Peso teórico} = 13.64 \text{ g}$$

Peso molecular teórico del macromonómero es:

$$\text{PM MKA-1} = \text{PM iniciador} + (\text{DP} \times \text{PM monómero}) + \text{PM terminador}$$

$$\text{PM MKA-1} = 117.168 \frac{\text{g}}{\text{mol}} + \left(21.1 \times 99.13 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) + 213.4 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\text{PM MKA-1} = 2422 \text{ g/mol}$$

III.2 Para el macromonómero MKA-2 los moles teóricos se calcularon tomando en cuenta una cantidad de 1.72 g de CMS de la siguiente manera:

Iniciador clorometil estireno (CMS)

$$\text{mili moles iniciador CMS} = \frac{1.72 \text{ g}}{152.62 \text{ g/mol}} \times 1000$$

$$\text{mili moles iniciador CMS} = 11.27$$

Catalizador o coiniador ioduro de sodio (NaI) la relación molar inicial debe ser [Coiniciador]=2[Iniciador]

$$\text{mili moles coiniador NaI} = 11.27 \text{ mmol} \times 2$$

$$\text{mili moles coiniador NaI} = 22.54$$

$$\text{Peso de NaI} = \frac{22.15 \text{ mmol}}{1000} \times 149.89 \text{ g/mol}$$

$$\text{Peso de NaI} = 3.38 \text{ g}$$

Monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa)

$$\text{mili moles monómero Etoxa} = \frac{10.05 \text{ g}}{99.13 \text{ g/mol}} \times 1000$$

$$\text{mili moles monómero Etoxa} = 101.4 \text{ mmol Etoxa}$$

Terminador N, N-dimetil-dodecilamina se usó un exceso molar de 10 veces respecto del iniciador CMS.

$$\text{mili moles terminador N, N-dimetil-dodecilamina} = 11.27 \text{ mmol} \times 10$$

$$\text{mili moles terminador N, N-dimetil-dodecilamina} = 112.7$$

$$\text{Peso N,N-dimetil-dodecilamina} = \frac{112.70 \text{ mmol}}{1000} \times 213.40 \text{ g/mol}$$

$$\text{Peso N,N-dimetil-dodecilamina} = 24.05 \text{ g}$$

El grado de polimerización teórico se calculó como sigue:

$$\text{DP teórico} = \frac{\text{moles monómero}}{\text{moles iniciador}}$$

$$\text{DP teórico} = \frac{101.4 \text{ mmol}}{11.27 \text{ mmol}}$$

$$\text{DP teórico} = 9.0$$

El peso teórico de la macromonomero fue:

$$\text{Peso teórico} = \text{peso iniciador} - \text{peso del cloro} + \text{peso monómero} + \text{peso terminador}$$

$$\text{Peso teórico} = 1.72 \text{ g} - 0.40 \text{ g} + 10.05 \text{ g} + 2.41 \text{ g}$$

$$\text{Peso teórico} = 13.78 \text{ g}$$

Peso molecular teórico del macromonomero es:

$$\text{PM MKA-2} = \text{PM iniciador} + (\text{DP} \times \text{PM monómero}) + \text{PM terminador}$$

$$\text{PM MKA-2} = 117.168 \frac{\text{g}}{\text{mol}} + \left(9.0 \times 99.13 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) + 213.4 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\text{PM MKA-2} = 1223 \text{ g/mol}$$

CALCULO DE LOS RENDIMIENTOS DE LOS MACROMONÓMEROS MKA-1 Y MKA-2

III:3 Para el macromonomero MKA-1 los moles teóricos de los diferentes componentes se calcularon tomando en cuenta una cantidad de 0.86 g de iniciador (clorometilestireno), 11.78 g de monómero (2-etil-2-oxazolina) y 1.201 g de terminador (dimetil-dodecilamina) .

Donde:

$$0.86 \text{ g de iniciador clorometilestireno} \longrightarrow 152.62 \text{ g/mol}$$

$$X \longrightarrow 35.453 \text{ g/mol}$$

X = Peso de cloro en gramo

$$\text{Cl g} = \frac{35.453 \text{ g/mol}}{152.62 \text{ g/mol}} \times 0.86 \text{ g}$$

$$\text{Cl g} = 0.20 \text{ g}$$

El peso teórico del macromonómero MKA-1 fue:

Peso teórico = peso iniciador - peso del cloro + peso monómero + peso terminador

$$\text{Peso teórico} = 0.86 \text{ g} - 0.20 \text{ g} + 11.78 \text{ g} + 1.201 \text{ g}$$

$$\text{Peso teórico} = 13.64 \text{ g}$$

El peso real obtenido en laboratorio del macromonómero MKA-1 = 11.69 g

Rendimiento del macromonómero MKA-1 se calculó como sigue:

$$\% \text{ Rendimiento del macromonómero MKA-1} = \frac{\text{Peso real obtenido en el laboratorio}}{\text{Peso teórico}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento del macromonómero MKA-1} = \frac{11.69 \text{ g}}{13.64 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento del macromonómero MKA-1} = 85.7 \%$$

III.4 Para el macromonómero MKA-2 los moles teóricos de los diferentes componentes se calcularon tomando en cuenta una cantidad de 1.72 g de iniciador (clorometil estireno), 10.05 g de monómero (2-etil-2-oxazolona) y 2.41 g de terminador (dimetil-dodecilamina).

Donde:

$$1.72 \text{ g de iniciador clorometil estireno} \longrightarrow 152.62 \text{ g/mol}$$

$$X \longrightarrow 35.453 \text{ g/mol}$$

X = Peso de cloro en gramo

$$\text{Cl g} = \frac{35.453 \text{ g/mol}}{152.62 \text{ g/mol}} \times 1.72 \text{ g}$$

$$\text{Cl g} = 0.40 \text{ g}$$

El peso teórico del macromonómero MKA-2 fue:

Peso teórico = peso iniciador - peso del cloro + peso monómero + peso terminador

$$\text{Peso teórico} = 1.72 \text{ g} - 0.40 \text{ g} + 10.05 \text{ g} + 2.41 \text{ g}$$

Peso teórico= 13.78 g

El peso real obtenido en laboratorio del macromonómero MKA-2 = 12.17 g

Rendimiento del macromonómero MKA-2 se calculó como sigue:

$$\% \text{ Rendimiento del macromonómero MKA-2} = \frac{\text{Peso real obtenido en el laboratorio}}{\text{Peso teórico}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento del macromonómero MKA-2} = \frac{12.17 \text{ g}}{13.78 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento del macromonómero MKA-2} = 88.3 \%$$



ANEXO IV

CALCULO DEL GRADO DE POLIMERIZACION Y PORCENTAJE DE FUNCIONALIZACION DE LOS MACROMONOMERO MKA-1 Y MKA-2 A PARTIR DE SUS ESPECTROS ¹H-RMN

IV.1 Haciendo uso de estas señales e integrales del espectro ¹H-RMN del macromonomero MKA-1 (Figura 3.1 en capítulo III) se calculó el grado de polimerización (DP) como sigue:

Donde:

Sea m el número de macromonomeros de polietiloxazolina (Petoxa)

Sea X el número de unidades del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa)

Sea Y el número de unidades del iniciador 4-clorometilestireno (CMS)

Sea Z en número de unidades del terminador N, N-dimetil-dodecilamina (DMDA)

Calculando la cantidad de unidades de monómero (Etoxa) se utiliza las integrales de las señales del espectro que se encuentran libres de interferencia:

$$X_m = \frac{\text{integral señal f}}{\text{cantidad de hidrogenos del grupo (CH}_3\text{)}}$$

$$X_m = \frac{6.43}{3}$$

$$X_m = 2.143$$

Calculando la cantidad de unidades del iniciador (CMS) se utiliza las integrales de las señales del espectro que se encuentran libres de interferencia:

$$Y_m = \frac{\text{integral de la señal a ,á y b}}{\text{cantidad de hidrogeno del grupo (H)}}$$

$$Y_m = \frac{0.10 + 0.10 + 0.10}{3}$$

$$Y_m = 0.10$$

Donde el grado de polimerización experimental se calculó como sigue:

$$\text{DP experimental} = \frac{\text{cantidad de unidades del monómero}}{\text{cantidad de unidades del iniciador}}$$

$$\text{DP experimental} = \frac{2.143}{0.10}$$

$$DP \text{ experimental} = 21.43$$

Peso molecular experimental del macromonómero es:

$$PM \text{ MKA-1} = PM \text{ iniciador} + (DP \times PM \text{ monómero}) + PM \text{ terminador}$$

$$PM \text{ MKA-1} = 117.168 \frac{\text{g}}{\text{mol}} + \left(21.43 \times 99.13 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) + 213.4 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$PM \text{ MKA-1} = 2,452 \text{ g/mol}$$

Para calcular la cantidad de unidades de terminador (DMDA) se utiliza las integrales de las señales del espectro del DMDA que se encuentran libres de interferencia:

$$Z_m = \frac{\text{integral señal } i}{\text{cantidad de hidrógenos del grupo } (\text{CH}_2)_9}$$

$$Z_m = \frac{1.77}{2 \times 9}$$

$$Z_m = 0.098$$

Por lo tanto, se calculó el porcentaje de funcionalización como sigue:

$$\% \text{ de funcionalización} = \frac{Z_m}{Y_m} \times 100$$

$$\% \text{ de funcionalización} = \frac{0.0983}{0.100} \times 100$$

$$\% \text{ de funcionalización} = 98.3\%$$

IV.2 En el caso de MKA-2 se procedió a calcular en forma similar, haciendo uso de las señales e integrales del espectro $^1\text{H-RMN}$ de este macromonómero (Figura 3.2 en capítulo III). Se calculó el grado de polimerización (DP) como sigue:

Donde:

Sea m el número de macromonómeros de polietiloxazolina (Petoxa)

Sea X el número de unidades del monómero 2-etil-2-oxazolina (Etoxa)

Sea Y el número de unidades del iniciador 4-clorometil estireno (CMS)

Sea Z en número de unidades del terminador N, N-dimetil-dodecilamina (DMDA)

Para calcular la cantidad de unidades de monómero (Etoxa) se utiliza las integrales de

las señales del espectro que se encuentran libres de interferencia:

$$X_m = \frac{\text{integral señal f}}{\text{cantidad de hidrógenos del grupo (CH}_3\text{)}}$$

$$X_m = \frac{4.42}{3}$$

$$X_m = 1.473$$

Para calcular la cantidad de unidades del iniciador (CMS) se utiliza las integrales de las señales del espectro que se encuentran libres de interferencia:

$$Y_m = \frac{\text{integral de la señal a, á y b}}{\text{cantidad de hidrogeno del grupo (H)}}$$

$$Y_m = \frac{0.16 + 0.16 + 0.016}{3}$$

$$Y_m = 0.16$$

Donde el grado de polimerización experimental se calculó como sigue:

$$\text{DP experimental} = \frac{\text{cantidad de unidades del monómero}}{\text{cantidad de unidades del iniciador}}$$

$$\text{DP experimental} = \frac{1.473}{0.16}$$

$$\text{DP experimental} = 9.21$$

Peso molecular del macromonómero experimental es:

$$\text{PM MKA-2} = \text{PM iniciador} + (\text{DP} \times \text{PM monómero}) + \text{PM terminador}$$

$$\text{PM MKA-2} = 117.12 \frac{\text{g}}{\text{mol}} + \left(9.21 \times 99.13 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) + 213.4 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$\text{PM MKA-2} = 1,243 \text{ g/mol}$$

Calculando la cantidad de unidades de terminador (DMDA) se utiliza las integrales de las señales del espectro que se encuentran libres de interferencia:

$$Z_m = \frac{\text{integral señal i}}{\text{cantidad de hidrógenos del grupo (CH}_2\text{)}_9}$$

$$Z_m = \frac{2.87}{2 \times 9}$$

$$Z_m = 0.159$$

Por lo tanto, se calculó el porcentaje de funcionalización como sigue:

$$\% \text{ de funcionalización} = \frac{Z_m}{Y_m} \times 100$$

$$\% \text{ de funcionalización} = \frac{0.159}{0.160} \times 100$$

$$\% \text{ de funcionalización} = 99.4\%$$



ANEXO V

CALCULOS DEL GRADO DE ABSORCION DE AGUA Y RENDIMIENTO DE HIDROGELES

La absorción de agua se calculó comparando el peso del hidrogel hinchado en agua versus el peso del hidrogel seco. Por lo tanto, se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Abs, H}_2\text{O Hidrogel} = \frac{P_1 - P_2}{P_2}$$

Donde:

Abs, H₂O Hidrogel = Absorción de agua del hidrogel en g H₂O/g HGA seco

P1: Peso de porción de hidrogel hinchado

P2: Peso de porción hidrogel seco

y para calcular el rendimiento del hidrogel se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ Rendimiento Hidrogel} = \frac{\frac{P_3 \times P_2}{P_1}}{\text{Peso HEMA} + \text{Peso MKA} + \text{Peso BIS}} \times 100$$

Donde:

Rendimiento hidrogel %

P1: Peso de porción de hidrogel hinchado

P2: Peso de porción hidrogel seco

P3: Peso de todo el hidrogel hinchado en agua en el equilibrio

Peso HEMA: Peso del monómero hidroxietilmetacrilato

Peso MKA: Peso del macromonómero 2-etil-2-oxazolina

Peso BIS: Peso del N,N'-metilenobisacrilamida

V.1 Para el HGA4:

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA4} = \frac{P_1 - P_2}{P_2}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA4} = \frac{0.7425 - 0.2332}{0.2332}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA4} = 2.18 \text{ g H}_2\text{O/g HGA Seco}$$

Rendimiento:

$$\% \text{ Rendimiento HGA4} = \frac{\frac{P3 \times P2}{P1}}{\text{Peso HEMA} + \text{Peso MKA} + \text{Peso BIS}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento HGA4} = \frac{\frac{2.0502 \times 0.2332}{0.7425}}{0.4507 + 0.4620 + 0.0297} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento HGA4} = 68\%$$

V.2 Para el HGA5:

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA5} = \frac{P1 - P2}{P2}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA5} = \frac{1.0706 - 0.4192}{0.4192}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA5} = 1.55 \text{ g H}_2\text{O/g HGA Seco}$$

Rendimiento:

$$\% \text{ Rendimiento HGA5} = \frac{\frac{P3 \times P2}{P1}}{\text{Peso HEMA} + \text{Peso MKA} + \text{Peso BIS}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento HGA5} = \frac{\frac{2.4276 \times 0.4192}{1.0706}}{0.4170 + 0.8142 + 0.0290} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento HGA5} = 75\%$$

V.3 Para el HGA6:

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA6} = \frac{P1 - P2}{P2}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA6} = \frac{1.1154 - 0.3677}{0.3677}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA6} = 2.03 \text{ g H}_2\text{O/g HGA Seco}$$

Rendimiento:

$$\% \text{ Rendimiento HGA6} = \frac{\frac{P3 \times P2}{P1}}{\text{Peso HEMA} + \text{Peso MKA} + \text{Peso BIS}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento HGA6} = \frac{\frac{5.4147 \times 0.3677}{1.1154}}{0.4218 + 1.4612 + 0.0495} \times 100$$

% Rendimiento HGA6 = 92%

V.4 Para el HGA7:

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA7} = \frac{P1 - P2}{P2}$$

$$\text{Abs H}_2\text{O HGA7} = \frac{0.9954 - 0.3732}{0.3732}$$

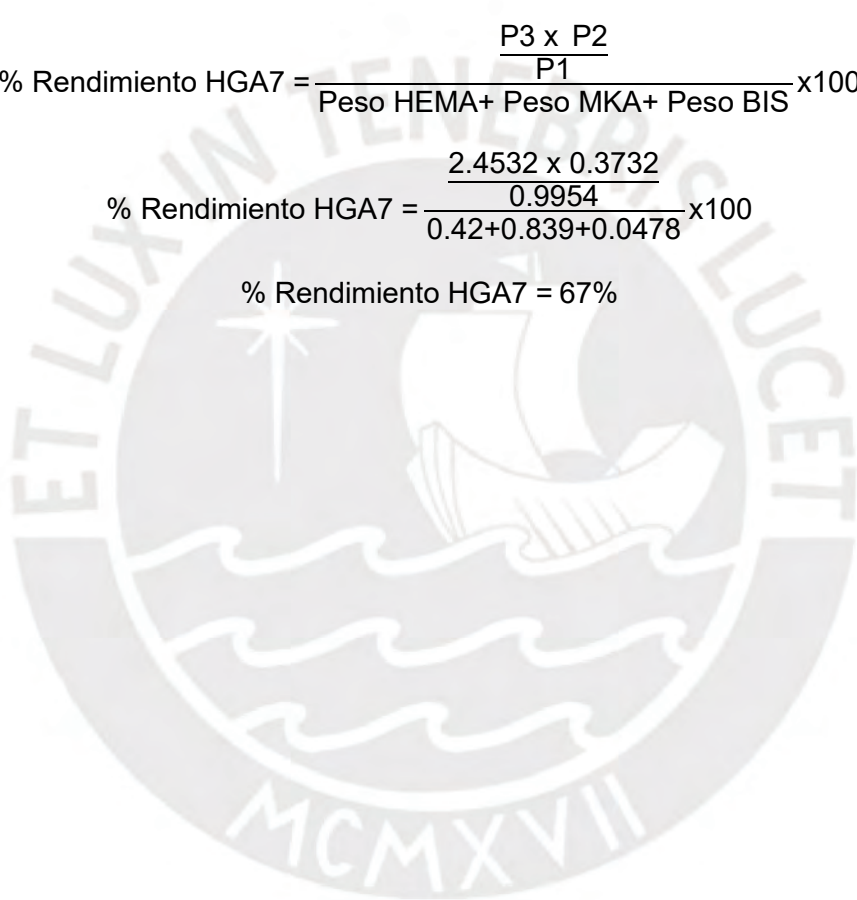
Abs H₂O HGA7 = 1.67 g H₂O/g HGA Seco

Rendimiento:

$$\% \text{ Rendimiento HGA7} = \frac{\frac{P3 \times P2}{P1}}{\text{Peso HEMA} + \text{Peso MKA} + \text{Peso BIS}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento HGA7} = \frac{\frac{2.4532 \times 0.3732}{0.9954}}{0.42 + 0.839 + 0.0478} \times 100$$

% Rendimiento HGA7 = 67%



ANEXO VI

FOTOS DE LA PRESENTE TESIS

SÍNTESIS DE MACROMONÓMEROS MKA-1 y MKA-2



Fotografía 1. Destilación y purificación de 2-etil-2-oxazolina (Etoxa).



Fotografía 2. Destilación a vacío de clorometilestireno (CMS).





Fotografía 3. Destilación a vacío de N,N -dimetil-dodecilamina (DMDA).



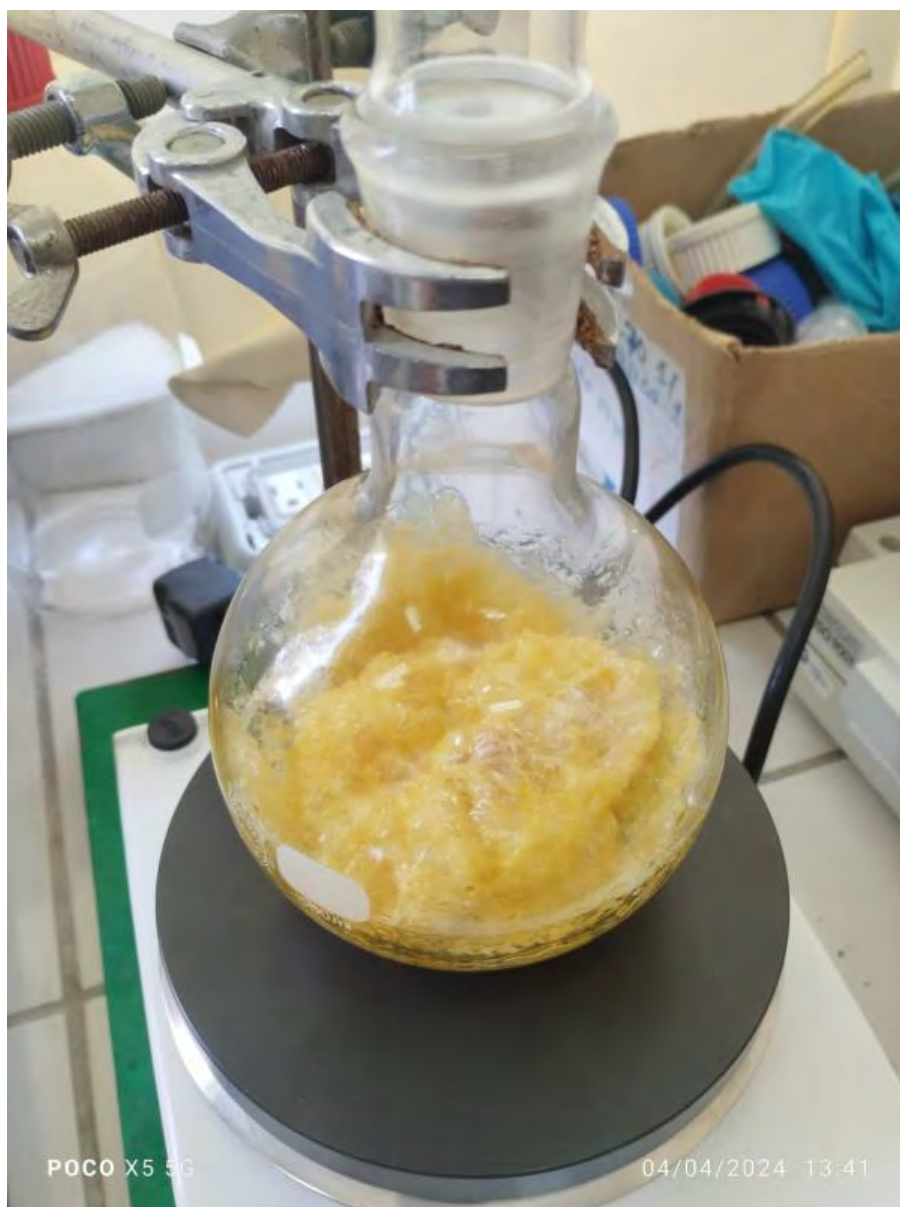
Fotografía 4. Síntesis de macromonómeros MKA-1 y MKA-2.

MCMXVII



Fotografía 5. Evaporación de solvente con equipo evaporador rotatorio.





Fotografía 6. Macromonómero MKA-1 en vacío para extracción de solvente.



Fotografía 7. Macromonómero MKA-1 purificado.

SINTESIS DE LOS HIDROGELES HGA



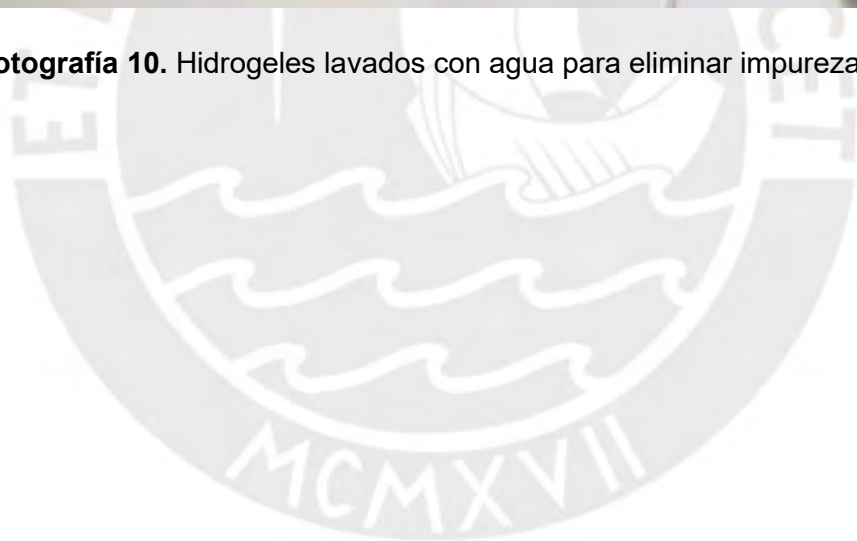
Fotografía 8. Síntesis de hidrogel HGA4.



Fotografía 9. Hidrogeles obtenidos de los moldes de vidrios.



Fotografía 10. Hidrogeles lavados con agua para eliminar impurezas.



SINTESIS DE LOS COPOLIMEROS INJERTADOS



Fotografía 11. Síntesis de copolímero injertado.



Fotografía 12. Copolímeros injertados G1, G1, G3 y G4 obtenidos.

