

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES INTELIGENTES DEL TIPO RED INTEPENETRADA BASADOS EN POLI(N-ISOPROPIL ACRILAMIDA)

Ramón Coronado^{1,3}, Sara Pekerar², Arnaldo T. Lorenzo³, Alejandro J. Müller³, Marcos A. Sabino^{1*}

1: Grupo B5IDA, Departamento de Química, Universidad Simón Bolívar, Apartado 89000, Caracas 1080-A, Venezuela

2: IVIC, Instituto Venezolano de Investigación Científicas, Centro de Química, Altos de Pipe, Estado Miranda, Venezuela

3: Dpto. de Ciencia de los Materiales, GPUSB, Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela

* E-mail: msabino@usb.ve

Trabajo presentado en el XIII COLOQUIO VENEZOLANO DE POLÍMEROS, 11 al 14 de Mayo de 2009 (Naiguatá, Venezuela).
Selección de trabajos a cargo de los organizadores del evento.

Disponible en: www.polimeros.labb.usb.ve/RLMM/home.html

Abstract

In the present work, an intelligent hydrogel was synthesized from the monomer N-isopropylacrylamide (NIPA) thus generating the Poly (N-isopropylacrylamide), PNIPA. Also from NIPA, other hydrogels were obtained by blending it with 1% hyaluronic acid (AH), poly(ethylene oxide), (POE) and chitosan (QN). For all the gels obtained, the "intelligent" nature was maintained since the coher critical solution temperature, LCST was observed. This transition was studied by differential scanning calorimetry (DSC) and oscillatory rheology at constant frequency as a function of temperature. The LCST transition temperature was found between 33 and 36°C. The porous morphology obtained allows the applicability of the hydrogels as injectable and biocompatible materials, a fact that was verified by cytotoxicity/biocompatibility studies employing fibroblastic cells.

Keywords: *poli -NIPA, intelligent hydrogels, hyaluronic acid, chitosan, poly(ethylene oxide)*

Palabras Claves: *poli-NIPA, hidrogeles inteligentes, ácido hialurónico, quitosano, poli(óxido de etileno)*

1. INTRODUCCION

En la actualidad, el desarrollo de Hidrogeles Inteligentes ha tomado interés en el área de la bioingeniería. Estos hidrogeles son similares a los hidrogeles convencionales, siendo sintetizados con métodos equivalentes. Sin embargo merecen estar en su propia categoría, gracias a su comportamiento particular, debido a que pueden cambiar drásticamente su volumen ante la aplicación de un estímulo específico, tal como un cambio en la temperatura, pH, campos eléctricos y luz. Estos cambios son revertidos una vez que el estímulo es removido^[1]

Dentro de esta familia de hidrogeles encontramos los hidrogeles basados en poli (N-isopropilacrilamida) PNIPA, poli (N-isopropilmetilacrilamida), poli ácido acrílico, Poli (dietilamino metacrilato) y poli (organofosfaceno).^[2]

El PNIPA es un polímero, no-biodegradable que presenta una transición de fase o temperatura mínima crítica de solubilidad, LCST por sus siglas en inglés (Lower Critical Solution Temperature) en ~ 32°C cuando se encuentra en solución acuosa, y el hidrogel de este polímero entrecruzado forma dos fases a temperaturas iguales y superiores a dicha temperatura LCST [3]. Esto lo hace de gran interés para el estudio y desarrollo de aplicaciones en el campo biomédico, debido a que 37,4°C (temperatura corporal) proporciona el estímulo necesario para generar el cambio de fase en el hidrogel.

Otra área de estudio importante es la obtención de hidrogeles del tipo interpenetrados (IPN: interpenetrated networks), donde muchos polímeros naturales (como quitosano, almidón, ácido hialurónico, colágeno, etc) son utilizados en la síntesis de éstos y pueden de alguna manera garantizar el proceso de

biocompatibilización, ampliando así las potencialidades del nuevo material. El objetivo de esta investigación, es sintetizar hidrogeles inteligentes para aplicaciones biomédicas a partir de PNIPA como matriz y en presencia de polímeros naturales: ácido hialurónico y quitosano; y de uno sintético soluble en agua como el poli (óxido de etileno).

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Para la polimerización del PNIPA se partió de los monómeros de N-isopropilacrilamida (NIPA) (Sigma-Aldrich, PM= 113.16 g/mol), peroxidisulfato de amonio (PA) como iniciador, y N, N, N, N-tetrametilnediamina acelerante, y para lograr un ligero entrecruzamiento en el hidrogel se utilizó el N, N'-Metilbisacrilamida (BIS). Para la realización de las formulaciones compuestas, se utilizó 1% p/p de cada fase dispersa siendo: ácido hialurónico (AH) (proveniente de Cordón Umbilical, Sigma-Aldrich), Poli (óxido de etileno) (POE) con PM= 1x10⁶ g/mol de Polysciences y por último, quitosano donado por el grupo 3Bs (Universidad Minho, Portugal). Luego de sintetizados, se procedió a la liofilización, con el fin de obtener información sobre agua asociada dentro de la red interpenetrada, y preparar cada muestra para su caracterización. Seguidamente se usó la espectroscopia infrarrojo FTIR con un equipo Nicolet, resolución 4cm⁻¹. Se complementó la caracterización molecular mediante Resonancia Magnética Nuclear de protones (¹H-RMN), y se estudió también el proceso de transición con la temperatura a través de esta técnica. Para la caracterización morfológica se utilizó un microscopio electrónico de barrido Phillips-S500. Las muestras fueron fracturadas criogénicamente en N₂(liq), posteriormente se

recubrieron con una fina capa de oro. Para el análisis calorimétrico se utilizó un calorímetro Perkin Elmer DSC-7, y se realizó cada corrida en un ambiente inerte de N_{2(g)}. El rango de temperatura barrido fue de 20-50 °C, a 3 °C/min para evidenciar eficazmente la transición LCST. Las propiedades reológicas de los hidrogeles, fueron realizados en un reómetro Rheometrics RDA-II, mediante ensayos dinámicos con barrido de frecuencias. Para determinar los ensayos de citotoxicidad se realizó una prueba de morfología celular usando células fibroblásticas provenientes de una línea celular VERO con el fin de verificar si hay efectos citóxicos de los hidrogeles en las células vivas.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la polimerización, y analizados mediante FTIR y RMN, permiten inferir que los hidrogeles obtenidos corresponden al tipo de hidrogeles interpenetrados, ya que no se tienen evidencias de formación de enlaces entre el polímero NIPA en presencia de las fases de AH, QN y POE, por lo que se puede proponer que el sistema corresponde a lo mostrado en el diagrama 1.

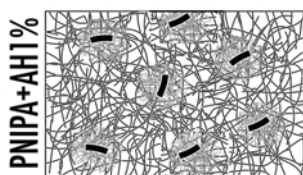


Diagrama1. Esquema de la red interpenetrada obtenida.

Los espectros FTIR correspondientes a los hidrogeles y permiten demostrar la presencia de los nuevos compuestos (AH, POE, QN) en el nuevo hidrogel formado. El espectro ¹H-RMN del hidrogel de PNIPA muestra todas las bandas típicas del polímero. La transición de fase pudo ser evidenciada por los cambios apreciados en las bandas asociadas al isopropil al variar la temperatura del experimento. La baja concentración de 1% p/p de AH, POE y QN no permitió evidenciar la presencia de protones asociados a sus estructuras moleculares. En cuanto a los resultados de agua asociada encontrados en la liofilización, se puede decir que si una estructura presenta una mayor rigidez en la red y se encuentra más entrelazada, la movilización de las moléculas de agua se dificulta, favoreciendo a su vez la interacción de agua asociada, ya que el agua está siendo obligada estructuralmente a permanecer dentro de la red. Los resultados de DSC, permiten evidenciar la transición de fase LCST, según se muestra en la figura 1, permaneciéndose entre un rango de aproximadamente 4°C, lo cual depende de la rigidez/enredos moleculares que cada componente puede impartir a la red interpenetrada del hidrogel, siendo mas evidente un ligero desplazamiento en los casos de POE y QN.

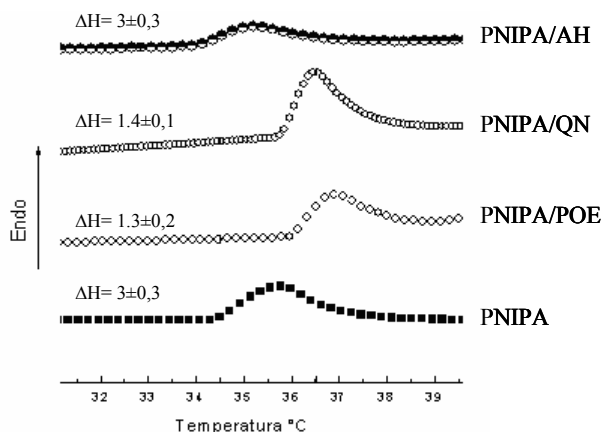


Fig. 1. Resultados de DSC en calentamiento de los hidrogeles, mostrando la transición de fase LCST, y los ΔH asociados (J/g)

Los resultados de DSC en cuanto a DH de la transición se lograron asociar a la cantidad de agua asociada en los hidrogeles. Los resultados reológicos en cuanto a medida de la transición se refiere, fueron consistentes con los de DSC y se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Transición LSCT medida mediante análisis reológico.

Formulación	T (LCST) ± 1°C
PNIPA	31
PNIPA + 1% AH	31
PNIPA + 1% POE	33
PNIPA + 1% QN	33

Los análisis morfológicos mediante MEB, permitieron evidenciar la porosidad de los hidrogeles, y ésta depende del nivel de reticulación que alcanza la red de NIPA en presencia de cada fase interpenetrada AH, POE, QN. Asimismo los análisis de citotoxicidad/biocompatibilidad permitieron evidenciar que estos hidrogeles luego de 12 horas de incubación del cultivo celular (VERO) a 37°C y 5% CO₂ en contacto con cada formulación de hidrogel, exhibieron una buena adhesión-biocompatibilización.

4. CONCLUSIONES

Se lograron sintetizar y caracterizar hidrogeles de PNIPA del tipo interpenetrado con polímeros naturales AH y QN, así como con POE. Estos polímeros mostraron una transición del tipo LCST entre 32-36°C medidas mediante DSC y análisis reológico. La porosidad mostrada por MEB así como la adhesión celular son positivas para la biocompatibilidad debido a la mejor difusión de fluidos y nutrientes, que ayudan a la interacción de estos con el organismo receptor, ya que se presentan como potenciales hidrogeles inyectables

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1]Ruel-Garie E., Leroux J-C. *European J. of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2004; **58**: 409–426
 [2]. Drury J.L., Mooney D.J., *Biomaterials*; 2003; **24**: 4337-4351.
 [3]. Hadi-Zareie M., Dincer S, Piskin E. *J.of Colloid and Interface Sci.*; 2002; **251**: 424–428