

Modificaciones hidrofílicas de los poliésteres microbianos

Autoría principal

Norma Galego Fernández¹.

Otros autores

Chavati Rozsa Galego¹, Beatriz Santos Carballal², Maykel González Torres³, Mayté Paredes Zaldívar⁴, Manuel Rapado Paneque⁴.

Colaboradores

Pedro Ortiz⁵, Ricardo Martínez¹, Denis Fernández⁵, Cristina Gastón⁶, Sonia Altanés⁴, Alexander Michels⁷, Moni Behar⁷, Fernando Zawislak⁷.

Entidad ejecutora principal

¹IMRE-Facultad de Química- UH.

Entidades participantes

²Departamento de Biología, Biotecnología y Nanobiotecnología, Universidad de Münster Alemania.

³Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

⁴Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN).

⁵Dpto. Química-Física, Facultad de Química, UH.

⁶Instituto Central de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

⁷UFRGS, Brasil.

Autor para correspondencia

Norma Galego

Dirección postal: Facultad de Química-IMRE

Zapata entre Calle G y Carlitos Aguirre, Vedado, Plaza de la Revolución, La Habana,

e-mail: norma@jmre.oc.uh.cu, norma@fq.uh.cu

Aporte científico de cada autor al resultado

- ✓ **Norma Galego Fernández** (40%): Autor Principal. Trabaja en el campo de estos polímeros hace más de 20 años. Es Tutora de las Tesis que acreditan este trabajo y autora de los 7 artículos presentados.
- ✓ **Chavati Rozsa Galego** (12%): Trabaja en el campo de estos polímeros hace más de 20 años. Realizó sus Tesis de Diploma, Maestría y Doctorado en el tema de los polihidroxicanoatos. Es tutora también de la Tesis de Diploma que se incluye y es autora de 3 artículos presentados.
- ✓ **Beatriz Santos Carballal** (12%): Realizó su trabajo de Diploma en el IMRE. Tesis: Modificaciones hidrofílicas en los polihidroxicanoatos. Tesis de Diploma. Facultad de Química-UH, 2010. Autor también de 3 artículos presentados.
- ✓ **Maykel González Torres** (12%): Realizó su trabajo de Maestría en el IMRE. Tesis: Síntesis y caracterización química-física del poli (3-hidroxybutirato-g-acetato de vinilo), obtenido por copolimerización de injerto inducida por radiaciones. Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología de Materiales, IMRE-UH, 2006 Autor también de 3 artículos presentados.

- ✓ **Mayté Paredes Zaldívar** (12%): Realizó su trabajo de Maestría por la Facultad de Química. Tesis: Modificación del sistema polihidroxitirato/ácido acrílico (PHB/AA) mediante radiaciones gamma. Tesis de Maestría en Química. Facultad de Química-UH, 2009. Autor también de 3 artículos presentados.
- ✓ **Manuel Rapado Paneque** (12%): Realizó un trabajo muy valioso en el desarrollo de los experimentos con irradiación de ^{60}Co y con sus criterios al respecto. Es autor de 4 artículos que acompañan a la propuesta.

Resumen

El presente trabajo, constituye una compilación de los trabajos, que en el área de modificaciones hidrofílicas de β -polihidroxicanoatos se han realizado en el Laboratorio de Polímeros del IMRE-UH en los últimos 8 años.

Los β -polihidroxicanoatos son poliésteres microbianos con propiedades únicas, tanto como termoplásticos así como biomateriales. Son excelentes candidatos para aplicaciones biomédicas en el desarrollo de biomateriales de segunda y tercera generación. Pero son moderadamente hidrófobos, lo que puede afectar su mejor desempeño.

La presente propuesta estudia diferentes formas de modificar estos polímeros con el objetivo de incrementar sus características hidrofílicas para mejorar su desempeño como biomaterial.

En el presente estudio se incluyen:

- Copolimerización por injerto, inducidas por radiaciones γ con la obtención del copolímero β -polihidroxitirato con injertos de poliacetato de vinilo (PHB-g-PAcV).
- Obtención de redes, utilizando también radiaciones ionizantes, semi interpenetradas del poliácido acrílico y β -polihidroxitirato (s-IPN/PAA-PHB), dando origen a hidrogeles superabsorbentes.
- Reacciones de transesterificación entre β -polihidroxitirato y una familia de propilenglicoles condujeron a la obtención de β -polihidroxitirato hidroxilado utilizando energía de microondas.
- Modificaciones superficiales de diferentes β - polihidroxicanoatos con haces de iones.

La hidrofiliidad se ha estudiado por la medida del ángulo de contacto de una gota de agua en la superficie de una película del material, fotografiando la gota y aplicando programas de cómputo adecuados. En algún caso se utilizó H (% de hinchamiento en agua). En todos los casos, se logró el objetivo trazado.

El desarrollo de este trabajo ha sido evaluado satisfactoriamente en 7 artículos científicos (4 del grupo 1, 1 del grupo 3 y 2 del grupo 4), 2 Tesis de Maestría y 1 de Diploma. No se ha recibido ningún Premio ACC que involucre estos resultados.

Comunicación Corta

Introducción

Recientemente con el desarrollo de los conceptos ambientalistas una gran cantidad de esfuerzos han sido dirigidos hacia el desarrollo de polímeros "Amigables con el Medioambiente". [1]

Los poliésteres microbianos conocidos con el nombre de β Polihidroxialcanoatos (PHAs) cumplen con esta característica. Los PHAs de cadena corta (menos de 6 átomos de C en la estructura de la unidad monomérica) y sus copolímeros tienen entre sus ventajas la conjugación de ser “Amigables con el Medioambiente” y propiedades físicas como termoplásticos (semejantes al polipropileno). A su vez, son materiales biodegradables y biocompatibles. [3] Todo esto conlleva a que tengan potenciales aplicaciones biomédicas. Desempeñan un rol importante en el desarrollo de biomateriales de segunda y tercera generación. [4-6].

En la aplicación de los biomateriales se debe tener en cuenta de las características estructurales y morfológicas de la superficie de contacto con el organismo vivo. Esa superficie de contacto es la frontera biomaterial-tejido, o sea, es la interfaz biomaterial-tejido que conlleva a la interfaz biomaterial-flujo sanguíneo. Y aquí pueden ocurrir los fenómenos, no deseados, de deposición de las proteínas de la sangre en la superficie del implante. Obviamente, el tipo de unión que se establece entre las proteínas y la superficie del biomaterial dependerá de la propia superficie. El carácter hidrofílico de la superficie favorece la interacción biomaterial-tejido ó biomaterial-flujo sanguíneo. [7-9] Un inconveniente que presentan los poliésteres microbianos estudiados es su moderado carácter hidrofóbico. [10-11]

El presente trabajo aspirante a Premio, compila las modificaciones hidrofílicas realizadas al β -Polihidroxibutirato (PHB), β -Polihidroxialcanoato de cadena corta, por diferentes reacciones. Reacciones de copolimerización por injerto, inducidas por radiaciones y con la obtención del copolímero β polihidroxibutirato con injertos de poliacetato de vinilo (PHB – graft – PAcV). Obtención de redes semi interpenetradas del polímero acrílico y β polihidroxibutirato (s-IPN/PAA-PHB) hidrogeles superabsorbentes, utilizando también radiaciones ionizantes. Reacciones de transesterificación entre β polihidroxibutirato y una familia de propilenglicoles condujeron a la obtención de β polihidroxibutirato hidroxilado utilizando energía de microondas. También se estudiaron modificaciones superficiales de diferentes β polihidroxialcanoatos con haces de iones. En todos los casos la hidrofiliidad se ha estudiado por la medida del ángulo de contacto de una gota de agua en la superficie de una película del material, la fotografía de la gota y la aplicación de programas de cómputo adecuados. Los resultados son todos satisfactorios.

Esta compilación de trabajos ha sido recientemente publicada en el último número de la Revista Anales de la ACC. [12]

Compilación de Resultados

Copolimerización por injerto.

Se estudió la copolimerización por injerto del acetato de vinilo en el PHB en ausencia de O_2 por irradiación simultánea con ^{60}Co , en una Instalación de irradiación autoblandada PX- γ -30 (Mayak, Rusia), con una dosis de irradiación de 10 kGy y se obtuvo el copolímero por injerto, PHB – g – PAcV [13]. El experimento anterior se realizó en presencia de diferentes solventes y se obtuvieron diferentes grados de injerto o sea diferentes contenido de poliacetato de vinilo (PAcV) y aumentó la hidrofiliidad del material con el aumento del grado de injerto. [12, 14- 16]

Este aumento en la hidrofiliidad se interpreta porque en el PHB hay átomos de hidrógeno unidos a carbonos terciarios que son sustituidos por PAcV en el nuevo material, así el nuevo material tiene mayor número de grupos éster en la cadena injertada, que además tienen la ventaja de estar más libres para una posible interacción con moléculas de agua ya que se encuentran en las cadenas laterales. Los productos fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas, calorimétricas, DRX y ángulo de contacto. La reacción fue estudiada atendiendo a aspectos cinéticos y de la radiólisis del solvente. Los ángulos de contacto variaron de 73° para el PHB a 43° para el PHB con un grado de injerto de 26%.

Obtención de un hidrogel.

En este trabajo se destaca la obtención de una red polimérica semi-interpenetrada del poliácido acrílico (PAA) y el PHB (s-IPN/PAA-PHB) por polimerización del ácido acrílico (AA) en presencia de PHB con una relación en masa de AA / PHB = 6, bajo la acción de las radiaciones ^{60}Co en una Instalación de irradiación autoblandada PX- γ -30 (Mayak, Rusia) y una dosis de irradiación de 10 kGy, en ausencia de oxígeno y sin ningún otro aditivo. Esta red es evaluada como un hidrogel superabsorbente, por lo que tiene características altamente hidrofílicas, con un porcentaje de hinchamiento (H) de 580 %. [12, 17]

El AA polimerizó y retículo por la acción de las radiaciones γ y en presencia del PHB se formó la red semi interpenetrada.

Por análisis gravimétrico y termogravimétrico se determinó la composición de la red: 10% PHB-90% PAA. [12, 18] Es evidente que en esta red las características hidrofílicas se deben fundamentalmente a la participación del PAA y las propiedades mecánicas están determinadas en gran medida por el PHB.

El estudio cinético del hinchamiento en agua del hidrogel obtenido se realizó aplicando el Modelo de Schott, o sea, se considera que en el caso de las matrices poliméricas que poseen grandes valores de hinchamiento, éste es gobernado por el estrés de la relajación de las cadenas macromoleculares y se aplica la cinética de hinchamiento de 2do orden. Se observa la satisfactoria coincidencia de los valores experimentales con los correspondientes al Modelo de Schott. [12, 16-17]

Reacciones de transesterificación

Se estudió la reacción de transesterificación del PHB con la familia de propilenglicoles: propilenglicol (PG), dipropilenglicol (DPG) y polipropilenglicol de $\overline{Mn}=400$ (PPG). En todos los casos se busca obtener el PHB hidroxilado, o sea, con grupos finales hidroxilo que harán al material más hidrofílico. [12]

La reacción se estudió con la relación de masa: m (PHB/glicol) = 0,28 y en presencia y ausencia del catalizador (ácido p-toluensulfónico 0,25 % en masa). El sistema es homogéneo. La utilización de calentamiento en equipos de microondas (MW) es muy conveniente en el trabajo con el PHB, pues a temperaturas ligeramente superiores a su temperatura de fusión ($T_m=178^\circ\text{C}$) el PHB se degrada y la reacción de

transesterificación necesita temperaturas en este rango. Utilizando la energía de MW se detecta la mayor temperatura en el interior de la muestra. Así, se necesita menos tiempo para lograr el mismo objetivo con el calentamiento por MW que con el convencional por conducción/convección. Por esta razón, se utilizó calentamiento por MW (750 W de potencia) durante 30 minutos (reacción con el PG) y calentamiento tradicional con baño de silicona a 180 °C durante 3 horas, como comparación para lograr resultados de la reacción. Con el calentamiento convencional no se logró el PHB hidroxilado en ese tiempo de reacción. Los mejores resultados se obtienen con la utilización de MW como fuente de energía y en presencia de catalizador y en la reacción con el PG se obtuvo una mezcla de 70 % de PHB hidroxilado/30% PHB y un ángulo de contacto de 50°. No hubo diferencias significativas con los otros miembros de la familia de propilenglicoles estudiados.

Modificaciones superficiales

La implantación de iones es un método físico utilizado para modificar superficies sólidas, el cual tiene como ventaja que puede modificar los materiales solo superficialmente, sin causar daños ni variaciones en las propiedades del material en su interior.

Entre los efectos de la irradiación sobre los materiales implantados se tiene un aumento del número de grupos polares en la superficie, ya que al irradiar se crean especies excitadas, las cuales se combinan con el oxígeno atmosférico formando enlaces polares en la superficie que permiten la existencia de interacciones por puente de hidrógeno con el agua. También la presencia de los iones implantados cercanos a la superficie, aumenta la hidrofiliidad del material irradiado.

En los últimos años, la implantación de iones ha sido satisfactoriamente empleada en polímeros para mejorar su compatibilidad con la sangre y con los tejidos del organismo.

En el presente trabajo se reportan resultados en una familia de PHAs de cadena corta, PHB y copolímeros con el hidroxivalerato (HV). Fueron irradiados con:

- H⁺ energía de 300 keV, fluencias entre 10¹¹ y 5·10¹³ iones/cm².
- Ag⁺ energía de 20 keV, fluencias entre 10¹⁴ y 10¹⁶ iones/cm².
- Na⁺ energías de 12,5 keV y 25 keV, fluencia de 5·10¹⁵ iones/cm².

Se utilizó el equipo Implantador de 500 keV de la Universidad Federal de Río Grande del Sur (UFRGS), Brasil y el rango de intensidades utilizado fue de 50-70 nA/cm².

Se logra en todos los casos una disminución del ángulo de contacto y con ello un aumento de la hidrofiliidad con el aumento de la fluencia y este efecto es más marcado en los copolímeros que en el PHB, así como con la implantación de iones Ag⁺. [12, 15]

Se observa una disminución de la cristalinidad, evaluada por DRX, así como por los índices de cristalinidad por FT-IR.

Otro efecto que muestra que las superficies fueron dañadas por la implantación que se observa en la MFA es el aumento de la rugosidad de las superficies después de

irradiadas. Esta mayor rugosidad, se traduce en una mayor área superficial, lo cual explica la disminución en el ángulo de contacto y como resultado el aumento de la hidrofiliidad.

El efecto de la irradiación con Na^+ a diferentes energías de muestras de PHB es de destacar la notable disminución del ángulo de contacto del PHB. Si se comparan los experimentos de implantación por irradiación con haces de iones es de notar que la mayor disminución en el ángulo de contacto se obtiene al irradiar con Na^+ , seguido del experimento con Ag^+ y por último con H^+ , en el que se observa una disminución muy pequeña de los ángulos de contacto. En todos los casos los materiales obtenidos son más hidrofílicos.

Conclusiones:

En todos los casos las transformaciones hidrofílicas fueron exitosas, obteniendo nuevos materiales más hidrofílicos que contribuyen a mejorar sus aplicaciones como biomateriales.

Referencias

- [1] Doi Y., Sudes, k., Molecular Design and Biosynthesis of Biodegradable Polyesters. *Polymers for Advanced Technologies* 2000; 11:865-72
- [2] Lenz, R., Marchessault, R., Bacterial Polyesters: Biosíntesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules REVIEWS* 2005; 6(1):1-8
- [3] Rozsa, Ch., Estudios en una familia de poliésteres microbianos: Polihidroxicanoatos. Tesis Dr. en Ciencias Químicas, UH, 2009; 7-9
- [4] Burcu H., D., Kiliçay, E., Hazer, B., Poly(3-hydroxyalkanoate)s: Diversification and biomedical applications. A state of the art review. *Materials Science and Engineering C* 2012; 32: 637-47
- [5] Kim, D. Y., Kim, H. W., Chung, M. G., Rhee, Y. H. , Biosynthesis, Modification and Biodegradation of Bacterial Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates. *The Journal of Microbiology, REVIEWS* 2007; 45(2): 87-9
- [6] Chen. G, Wu. Q. The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials *REVIEW, Biomaterials* 2005; 26: 6565–78
- [7] Grøndahl, L., Chandler-Temple, A., Trau, M. Polymeric Grafting of Acrylic Acid onto Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate): Surface Functionalization for Tissue Engineering Applications. *Biomacromolecules* 2005; 6:2197-203
- [8] Hu, S.-G., Jou, C.-H., Yang, M.-C. Antibacterial and Biodegradable Properties of Polyhydroxybutyrate Grafted with Chitosan and Chitooligosaccharides via Ozone Treatment. *Journal of Applied Polymer Science* 2003; 88: 2797-803
- [9] Asrar, J., Valentin, H. E., Berger, P.A., Tran, M., Padgett, S. R., Garbow, J. R. Biosynthesis and Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) Polymers. *Biomacromolecules* 2002; 3: 1006-12

- [10] Torun, G., Osea, K., Kenar, H., Hasirc, N., Hasirci, V. Macroporous poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)matrices for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2003; 24: 1949-58
- [11] Tesema, Y, Raghavan, D., Stubbs, J. Bone Cell Viability on Collagen Immobilized Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Membrane: Effect of Surface Chemistry. *Journal of Applied Polymer Science* 2004; 93: 2445-53
- [12] Modificaciones hidrofílicas de los poliésteres microbianos. Norma Galego, Chavati Rozsa, Beatriz Santos, Maykel González, Mayté Paredes, Alexander Michels, Moni Behar. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* Vol.4, No. 1. 2014.
<http://www.revistaccuba.cu/index.php/acc/article/viewFile/192/150>
- [13] Radiation-induced graft polymerization of vinyl-acetate onto poly (3-hydroxybutyrate). M. González, P. Ortíz, N. Galego, M. Rapado, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*.13:5, 376 – 392, 2008
- [14] Effect of Solvents on Gamma Radiation Induced Graft Copolymerization of Vinyl Acetate onto Poly (3-hydroxybutyrate) Maykel Gonzáles; Pedro Ortíz; Manuel Rapado; Norma Galego *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 14: 3, 231-245, 2009
- [15] Hydrophilic transformations into Polyhydroxyalkanoates. B. Santos, Ch. Rozsa, N. Galego, A. F. Michels, M. Behar, F. C. Zawislak *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 16: 431-434, 2011
- [16] Algunos aspectos que influyen sobre la reacción de copolimerización por injerto radioinducida del PAcV en el PHB. B. Santos, Ch. Rozsa, N. Galego. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 14(2): 92-100, 2013
- [17] Synthesis and characterization of a new semi-interpenetrating polymer network hydrogel obtained by gamma radiations. M. Paredes Zaldívar, N. Galego Fernández, M. Rapado Paneque, C. Gastón Peña, S. Altanés Valentin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 106, 725-730, 2011
- [18] Evaluación de las características térmicas y de la cinética de hinchamiento de una red polimérica semi-inter penetrada obtenida mediante radiaciones gamma.M. Paredes Zaldívar, N. Galego Fernández, M. Rapado Paneque, C. Gastón Peña, S. Altanés Valentin, G. Barreras González, *Revista Cubana de Química*, Vol. XXI, No. 3, 76-81, 2009