

SINTESIS DE HIDROGELES DE POLIACRILAMIDA CO-ACIDO METACRILICO MEDIANTE TECNICAS DE IRRADIACION GAMMA: INFLUENCIA DE LA DOSIS ABSORBIDA SOBRE EL PROCESO DE HINCHAMIENTO.

M. Sc.*Manuel Rapado, **Lic. Stalina Prado, ***Dr. Dionisio Zaldivar, Ing *Dianelys Sainz, ****Boris Chong, *Sonia Altanés.

* Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear, (CEADEN).

** Fac. de Química. Universidad de la Habana.

*** Centro de Biomateriales, UH.

**** Instituto Superior de Ciencias y Tecnología Nuclear, (ISCTN).

RESUMEN

En nuestro estudio las radiaciones gamma cumplen la doble función de lograr la polimerización y el entrecruzamiento simultáneo evitando el uso de sustancias contaminantes y obteniéndose un producto estéril. En el presente trabajo se determina la influencia de la dosis absorbida sobre el grado de hinchamiento en soluciones de pH salino, el cual se acentúa a medida que la dosis absorbida aumenta de 10 a 50 kGy. Se pudo comprobar a partir de los resultados experimentales que en los primeros estadios (100-150 min) se cumple el comportamiento fickiano, para los cuales fueron determinados los coeficientes de difusión. Las desviaciones de los últimos estadios del hinchamiento mostraron estar regidas por una cinética de segundo orden según un modelo propuesto por Schott¹. Estos nuevos hidrogeles exhiben un elevado grado de hinchamiento factor que *a priori* asegura una alta biocompatibilidad debido a que este efecto aumenta su similitud con los tejidos vivos.

SYNTHESIS OF POLY (ACRYLAMIDE-CO-METACRYLIC ACID) HYDROGELS BY MEANS OF GAMMA IRRADIATION TECHNIQUES: INFLUENCE OF ABSORBED DOSE ON THE SWELLING PROCESS.

ABSTRACT

In this report gamma radiation techniques were performed a double function of proceeding the processes of polymerization and crosslinking with the advantage of avoid the uses of chemicals crosslinkers. The influence of absorbed dose on the swelling ratio as a function of pH have been presented. For these hydrogels, swelling studies indicated that swelling decrease with the increase of the absorbed dose from 10 to 50 kGy. It was confirmed that at the firsts stages (100-150 min) the diffusion studies were in accordance with Fickian behavior and the diffusion coefficients were obtained, whereas the latest stages were in good agreement with second-order diffusion kinetics proposed by Schott¹. These news hydrogels exhibit a higher degree of swelling, a factor that, *a priori*, assures high biocompatibility because it increases the similarity with living tissues.

INTRODUCCIÓN.

Una de las propiedades físicas más importantes que afectan el comportamiento de los hidrogeles bajo uso es su hinchamiento en soluciones acuosas². El hinchamiento puede definirse en términos de velocidad y de estado máximo en el equilibrio y es considerado un

factor fundamental para describir cuan hidrofílico es un hidrogel³. El mismo define la capacidad de penetración de las moléculas del solvente en una matriz polimérica y depende del grado de entrecruzamiento del polímero, de su naturaleza y de la naturaleza del disolvente, entre otros. Los procesos de formación de hidrogeles mediante radiación gamma llevan implícito dos efectos esenciales; la polimerización de monómeros y el entrecruzamiento creado en el polímero, debido al resultado de la recombinación mutua de los macroradicales, los cuales se forman principalmente por iniciación con los productos intermedios de la radiólisis del agua (efecto indirecto de las radiaciones) y otras especies reactivas como iones y radicales libres de los monómeros de partida (efecto directo de las radiaciones).^{4,5,6}

El objetivo del presente trabajo consistió en determinar la influencia de la dosis absorbida sobre el grado de hinchamiento y su comportamiento cinético en diferentes soluciones de pH salino, para hidrogeles de poliacrilamida co-ácido metacrílico obtenidos por poliadición radioinducida a partir de sus monómeros correspondientes.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Monómeros de partida: se utilizaron acrilamida (AA) y ácido metacrílico (AM), suministrado por la firma FLUKA , de pureza no menor de 99.8 %.

Solvente: agua bidestilada.

Soluciones buffer: fueron preparadas las siguientes composiciones para trabajar a pH 2, (glicina cloruro de sodio sódico y ácido clorhídrico 0,1 mol/L); a pH 7,4 (dihidrógenofosfato de potasio -hidrógenocarbonato de sodio); y a pH 10, (carbonato de sodio hidrógenocarbonato de sodio).

Preparación de los hidrogeles por copolimerización: soluciones acuosas acuosas de AA 75 % (2,11 mol/L) y AM 25 % (0,58 mol/L) fueron colocadas en ámpulas de vidrio pyrex de 1,7 cm de diámetro y 10 cm de longitud y selladas en presencia de oxígeno y se irradiaron en una instalación del tipo PX-γ-30 con fuentes radioisotópicas de Cobalto-60 a una temperatura de 25 °C a diferentes dosis (10; 30 y 50 kGy). La tasa de la dosis fue de 4,3 kGy/h. La dosimetría del proceso fue realizada empleando el sistema dosimétrico Fricke y cérico-ceroso, según.^{7,8}

Preparación de los discos del sistema para el estudio de hinchamiento: a partir de los hidrogeles obtenidos se prepararon discos de 1,5 mm de espesor y 1,5 cm de diámetro; cuyas mediciones se realizaron con un micrómetro y se determinaron los errores de medición de los mismos. Estos discos se secaron en la estufa a 60°C hasta llevarlos a peso constante.

Estudio de hinchamiento: los discos preparados; previamente secados, se sumergieron en 20 mL de distintas soluciones salinas de pH conocidos (2, 4 y 10) en un baño termostataado a 37 ° C. Las mediciones se realizaron hasta que el equilibrio fue alcanzado. El incremento en peso, que representa la cantidad de agua absorbida por la matriz fue medido en función del tiempo. El grado de hinchamiento fue seguido gravimétricamente según la siguiente ecuación:⁹

$$W = (W_t - W_o) / W_o \quad (1)$$

siendo W : grado de hinchamiento; W_t : peso de la película en el tiempo ; W_o : peso de la película seca.

Para profundizar sobre el proceso de hinchamiento, se trabajó con la solución de la forma diferencial de la Ley de Fick para películas delgadas, despreciando la difusión de los bordes la cual puede expresarse como una función reducida de W_t / W_{max} y t^{1/2} según la siguiente ecuación:¹⁰

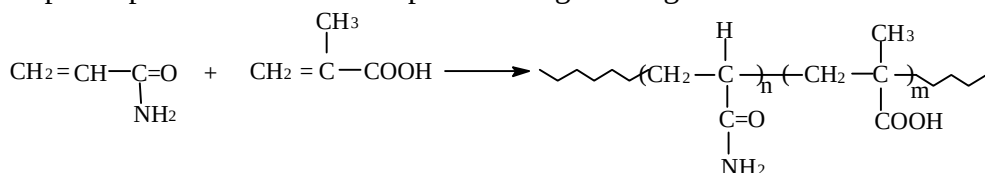
$$W_t / W_{\max} = 4 (D t / \pi l^2)^{1/2} \quad (2)$$

siendo W_t : ganancia de agua a un tiempo t ; $W_{\max}$: ganancia de agua máxima; D : coeficiente de difusión ; t : tiempo; l : grosor de la película.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis

En el presente trabajo se obtuvieron copolímeros de poli(acrilamida-co-ácido metacrílico) irradiando la mezcla de monómeros de partida (acrilamida y ácido metacrílico), cuya reacción se puede plantear de forma simplificada según la siguiente ecuación:



Las muestras que recibieron mayor dosis (30 y 50 kGy) tomaron una consistencia dura, poco elástica y se tornaron blancas, las que recibieron menores dosis (10 kGy) también tomaron una coloración blanca, pero se pudo constatar que eran más blandas y elásticas. Los altos porcentos de conversión logrados (mayores que 95 %) no permitieron la detrmnacion de los parametros de copolimerizacion r_1 y r_2 ni por el método de Fineman-Ros o por el de Kelen - Tudos

En este trabajo se hace especial énfasis al estudio del equilibrio de hinchamiento y su cinética debido a que es un proceso termodinámico de gran importancia para la caracterización de los hidrogeles como sistemas liberadores de medicamentos.

A continuación se representan los valores experimentales del hinchamiento en función del tiempo de inmersión a la temperatura de 37 °C para diferentes dosis absorbidas Figs. 1a ,1b, 1c.los cuales resultan de gran interés por sus características de hinchamiento.

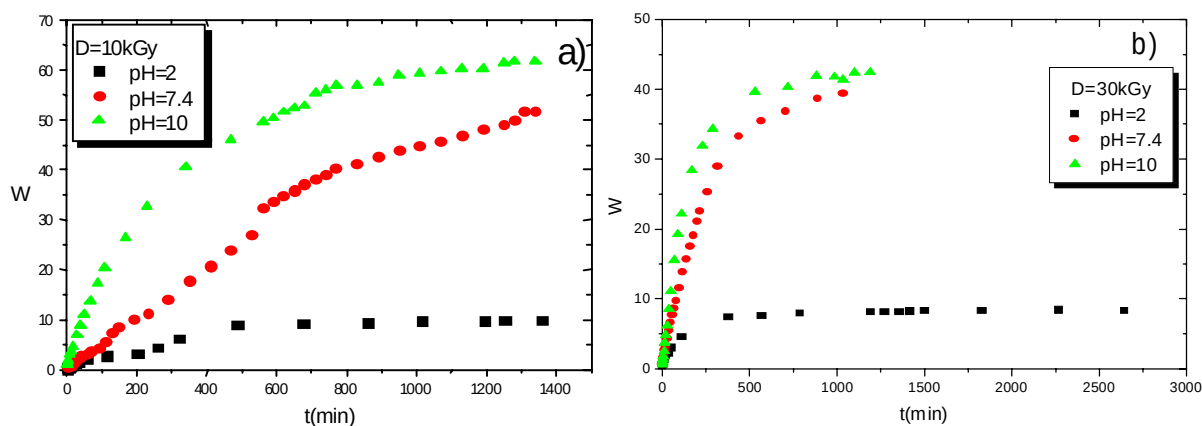


Fig. 1a,b) Variación del grado de hinchamiento en función del tiempo de inmersión para los discos de la muestras irradiadas a 10 y 30 kGy a diferentes pH

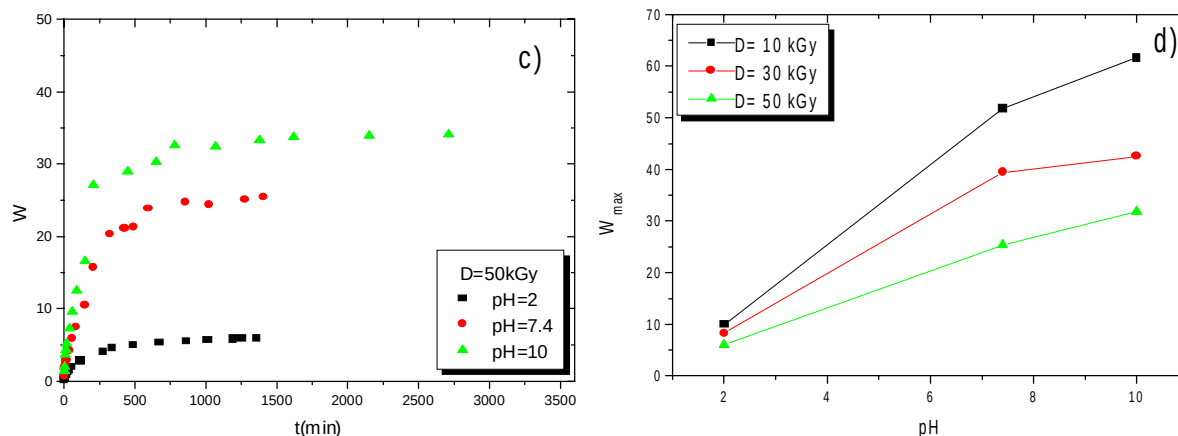


Fig. 1c,d) Variación del grado de hinchamiento en función del tiempo de inmersión para los discos de las muestras irradiadas a 10, 30 y 50 kGy a diferentes pH

Como se puede apreciar en las figuras anteriores la dosis absorbida influye sobre el grado de hinchamiento en función del pH del medio, para dosis de 10, 30 y 50 kGy y pH 2 se alcanzaron hinchamientos del 60, 45 y 35 % respectivamente mientras que a pH fisiológico (7,4) para dosis de 10, 30 y 50 kGy descendieron desde 50, 40 hasta 25 %; ya para pH 10 los valores del hinchamiento descendieron desde 10, 8 hasta 5 %. Estos resultados evidencian una dependencia entre la dosis adsorbida, el grado de hinchamiento y el pH del medio. un efecto similar se observa para el grado de hinchamiento máximo en función del pH el cual disminuyó desde un 65 % para dosis absorbida de 10 kGy hasta un 30 % para dosis de 50 kGy. Ver Fig Id. Resultados similares se obtuvieron en trabajos recientes de Saldivar^{11,12} y colaboradores en sistemas reticulados por vía térmica empleando iniciadores redox. Lo que demuestra que a mayores dosis el copolímero está más entrecruzado; efecto que hace más difícil la penetración del solvente en el interior de la masa polimérica.

A pH 10 el grado de hinchamiento máximo aumenta y este resultado se debió probablemente a que en este medio la formación del anión carboxilato del ácido metacrílico presenta la carga deslocalizada entre los átomos de oxígeno y puede aceptar un mayor número de moléculas de agua, mientras que a pH 2 el ácido está en su forma no dissociada y se enlaza por puentes de hidrógeno con las moléculas de agua en una menor proporción.

Por otra parte en nuestro sistema el grado de hinchamiento en el equilibrio de la matriz del hidrogel es determinado por el balance entre las fuerzas elásticas y las fuerzas de hinchamiento producidas por la presión osmótica interna y el incremento inducido por el hinchamiento lo cual señala la complejidad de un fenómeno dual de difusión y de relajación reológica del material¹³. Esto se evidencia en los estudios de caracterización presentados más adelante. Dicho balance depende en nuestro caso de la dosis absorbida y a su vez de la densidad de entrecruzamiento de la matriz polimérica para la cual el efecto de la dosis se acentúa a medida que la dosis absorbida aumenta de 10 a 50 kGy mientras que el hinchamiento en el equilibrio disminuye con el aumento del grado de reticulación.

Un criterio del comportamiento fickiano¹⁴, considera que el diagrama de W_t / W_{max} con la raíz cuadrada del tiempo debe ser lineal. Las Fig II (a,b y c), muestran los diagramas obtenidos, para el sistema copolímero AA / AM. El tratamiento de Fick se aplicó para los primeros tiempos de inmersión o estadios de hinchamiento, ya que para estadios superiores ocurren desviaciones del comportamiento fickiano y así se apreció en todos los casos.

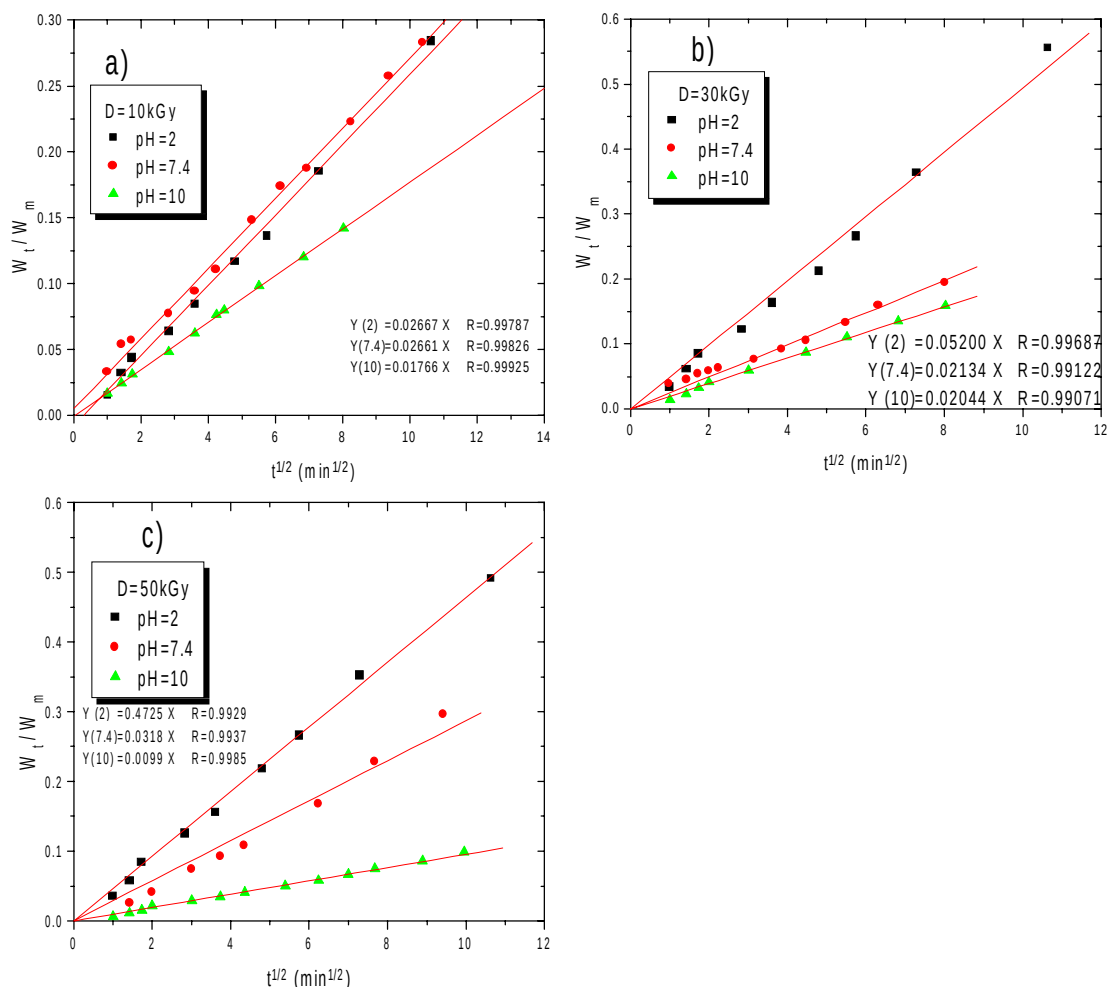


Fig.II a, b, c) Variación de W_t / W_m contra $t^{1/2}$ según el comportamiento propuesto por Fick para diferentes pH.

Se comprobó a partir de los resultados experimentales que en los primeros estadios (100-150 min) se cumple el comportamiento fickiano. Determinándose la significación de los interceptos y en ningún caso estos resultaron significativos, por lo que se puede considerar que las rectas parten del inicio de los ejes de las coordenadas. Como se sabe el hinchamiento depende en gran medida de las dimensiones de las películas, principalmente del grosor, se realizaron varias medidas de los mismos para minimizar los errores en los cálculos de los coeficientes de difusión de los hidrogeles. Los coeficientes de difusión de los copolímeros se determinaron a través de las pendientes de las curvas estudiadas a pH 7,4. A continuación mostramos los valores de dichos coeficientes.

Tabla 2 Coeficientes de difusión calculados según la ecuación de Fick.

	Coeficientes de difusión (cm^2/s) $\times 10^9$		
pH / Dosis (kGy)	10	30	50
7.4	1.54 ± 0.04	0.37 ± 0.08	0.27 ± 0.04

A partir de este estudio se obtuvo que en la medida que más reticulado está el sistema, menor es el coeficiente de difusión, como resultado de un aumento del entrecruzamiento lo que infiere que le será más difícil a la matriz polimérica sorber agua hacia el interior de la red.

Atendiendo a las desviaciones del comportamiento fickiano, pasados entre los primeros 100 y 150 minutos pudimos comprobar lo referido por Schott¹⁵ en sus estudios.

Al analizar la cinética de hinchamiento de la gelatina y la celulosa, Schott obtuvo una ecuación empírica que ajusta los valores obtenidos para todo el proceso de hinchamiento:

$$\frac{t}{W} = A + Bt \quad (3)$$

donde W es el hinchamiento en un tiempo t; A y B son constantes las cuales se pueden definir de la forma siguiente: para tiempos grandes de hinchamiento $Bt \gg A$ y B representa el inverso del hinchamiento máximo o de equilibrio B; $B = \frac{1}{W_{\infty}}$. Mientras que para tiempos

pequeños $A \gg Bt$, por lo que se puede identificar como el inverso de la velocidad inicial de hinchamiento; $A = \frac{1}{\left(\frac{dW}{dt}\right)_0}$. Este valor se corresponde con el momento en que se está

produciendo la permeación del fluido hacia el interior del hidrogel y antes de que se produzca la deformación tridimensional encargada de retardar el hinchamiento.

Al llevar los valores obtenidos en el hinchamiento a un gráfico de t/W en función del tiempo se comprobó que el hinchamiento de las membranas de estos materiales se ajusta al modelo propuesto y demostró que el mismo representa una cinética de segundo orden de acuerdo a la ecuación:

$$\frac{dW}{dt} = K(W_{\infty} - W)^2 \quad (4)$$

Schott¹⁵ explica la cinética de hinchamiento de segundo orden en medio acuoso asumiendo que la velocidad de hinchamiento es directamente proporcional a la cantidad de hinchamiento relativo. Cuando el agua penetra entre las cadenas hincha la red y rompe los enlaces de valencia secundarios, ya que forma puentes de hidrógeno con los grupos hidrofílicos del complejo.

A continuación presentamos las Figs. III.a, III.b y III.c donde se puede observar el comportamiento lineal lo cual demuestra que nuestro sistema sigue una cinética de segundo orden en todos los casos vistos, cumpliendo con la ecuación propuesta por Schott :

$$t / W = A + Bt$$

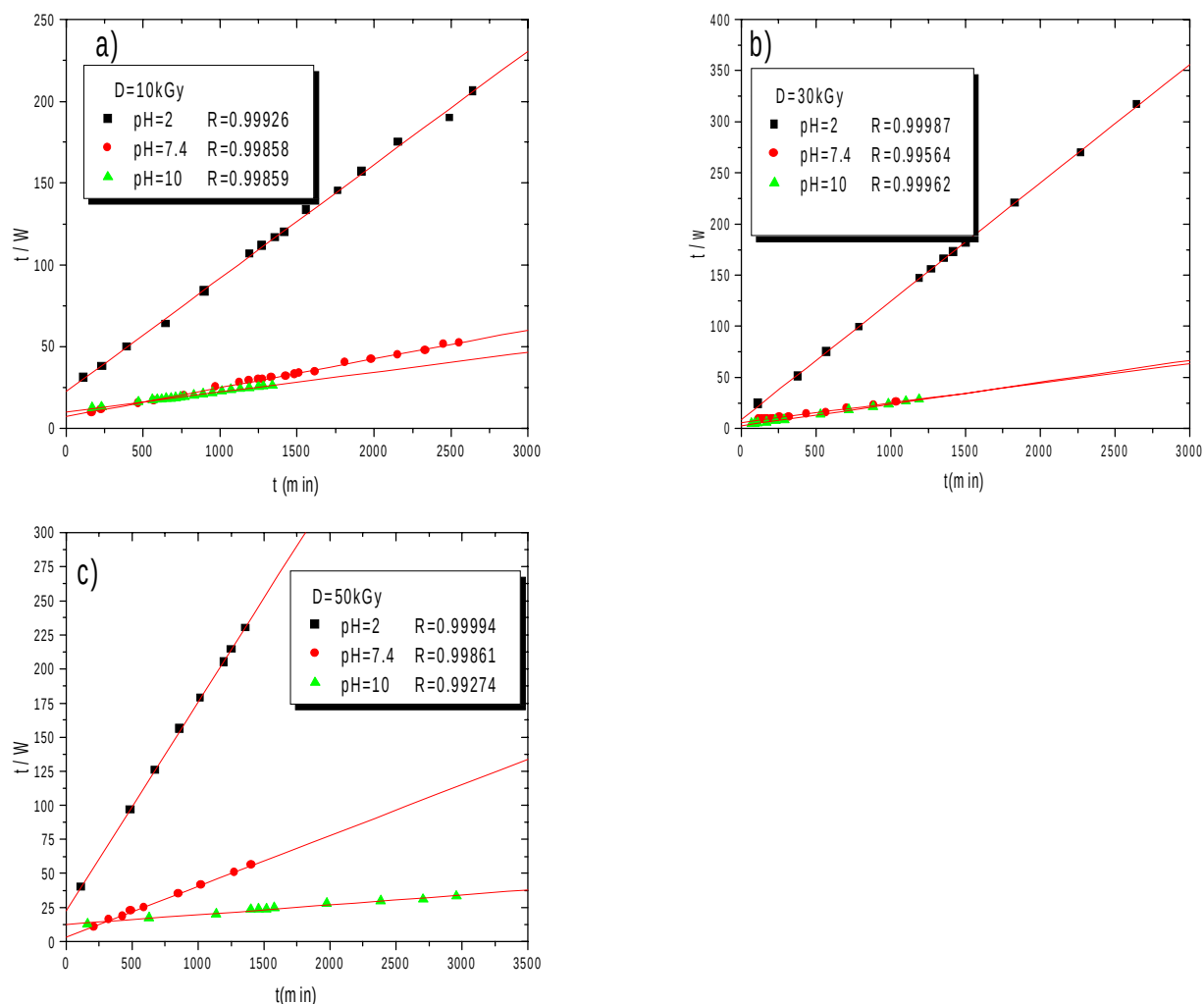


Fig III. Variación de t / W en función del tiempo para las muestras irradiadas a 10, 30 y 50 kGy sumergidas en soluciones buffer a diferentes pH.

Como se aprecia, en todos los casos se cumple el comportamiento de Schott , con muy buenos coeficientes de correlación.

En nuestro caso contamos con películas poliméricas rígidas para las cuales a tiempos de hinchamiento mayores de 150 minutos, el espesor de las películas no permanece constante y el comportamiento de primer orden ya no es apreciable.

CONCLUSIONES

1. La irradiación de las soluciones acuosas de los monómeros acrilamida y ácido metacrílico condujeron a la formación de una estructura reticulada (hidrogel).
2. El grado de hinchamiento en el sistema copolimérico, poli(acrilamida - co - ácido metacrílico) disminuye, con el aumento de la dosis absorbida, predominando el entrecruzamiento hasta valores de dosis del orden estudiado.
3. El proceso de hinchamiento para todas las dosis estudiadas se ajusta al modelo fickiano de la difusión, observándose que a tiempos mayores de 150 minutos (aproximadamente); nuestro copolímero no obedece a este comportamiento y sí a una cinética de difusión de segundo orden propuesta por Schott.

4. Considerando los resultados expuestos hasta aquí se puede notar que los nuevos hidrogeles obtenidos por poliadición radioinducida del copolímero de poliacrilamida co-ácido metacrílico exhiben un alto grado de hinchamiento factor que *a priori* asegura una alta biocompatibilidad debido a que este efecto aumenta su similitud con los tejidos vivos lo que los hace candidatos potenciales como sistemas de liberación controlada al ponerse en contacto con el medio de difusión apropiado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schott H, J. Macromol. Sci – Phys. B 31, 1 (1992).
2. Peppas N.A., Barr – Howell B.D. In: Hydrogels in medicine and Pharmacy, 28 (1986).
3. Comyn J., Polymer Permeability, Elsevier Applied Science publishers LTD (1986).
4. J.M. Rosiak Interregional Training course on the applications of the electrons beams on Industry and environment. Warsaw Poland. (1997)
5. C.Van Sonntag. The chemical Basic of Radiation Biology Chapter 3, 31 (1987).
6. J. M. Rosiak. Radiation formation of hydrogels for drug delivery. J of Controlled release 31 (1994) 9-19.
7. Sainz .D., Rapado M, Martín G, Chávez A, Altanés S CEADEN. International
8. Symposium on nuclear and Related Techniques in Agriculture.
9. Prieto, E. Fco., NRIAL.Determinación de la dosis absorbida utilizando el dosímetro Fricke. III.A (1991).
10. D. Zaldivar. Tesis doctoral (1997).
11. D. Zaldivar, C. Peniche, A. Gallardo, J. San Román, Biomaterial, Vol 14, # 14 (1993)
12. J. L. Escobar. Tesis de Diploma. La Habana 1997.
13. C. Bregni y otros. Boll.Chim. Farmaceutico-Anno 134-n. 2 Febbraio 1995.
14. Comyn J., Polymer Permeability, Elsevier Applied Science publishers LTD(1986)
15. Schott H., J,Pharm.Sci.81:467-470 (1992).