

Preparación y caracterización de un material compuesto poli(uretano)/hidroxiapatita mediante separación de fases

CARLOS ALBERTO MARTÍNEZ-PÉREZ¹, PERLA GARCÍA-CASILLAS¹,
ALBERTO MARTÍNEZ-VILLAFÁÑE¹, JORGE ROMERO-GARCÍA².

¹ Departamento de Biomateriales, División de Deterioro de Materiales,
Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C.

Miguel de Cervantes # 120, Chihuahua, Chih. , México C.P. 31109

² Departamento de Biopolímeros, Centro de Investigación en Química Aplicada,
Blvd. Enrique Reyna # 140
Saltillo, Coah. C.P. 25000

Resumen

Recientemente se han utilizado materiales porosos para la regeneración del tejido óseo, uno de los aspectos más importantes es contar con una morfología controlada la cual sirva como base y guía para el crecimiento del tejido. En este trabajo se han preparado poliuretanos y compositos poliuretano/hidroxiapatita por una separación de fase inducida térmicamente; por medio de la cual se pudieron producir materiales porosos con una morfología controlada y reproducible. La microestructura fue controlada por la variación en la concentración del polímero, temperatura de congelamiento, relación solvente/no solvente y co-solvente utilizado. Usando esta técnica se pueden obtener materiales con un tamaño de poros desde unas cuantas micras hasta 200 μ m. Debido a la porosidad interconectada y a la bioactividad que proporciona la hidroxiapatita pueden ser una alternativa para la regeneración del tejido óseo.

Summary

Guide regeneration techniques have been recently used to heal soft and hard tissue defects. In this approach, scaffolding plays a pivotal role. Hydroxiapatite (HA) mimics the natural bone mineral and has shown good bone-bonding properties. In this work, porous poly (urethanes)/hydroxiapatite composites has been prepared by a thermally induced phase separation technique. Freeze drying of the phase separated polymer/HA/solvent produced foams with co-continuous structure of interconnected pores. Varying the polymer concentration, quenching temperature controlled the microstructure, and co-solvent utilised. Using this technique, homogeneous porous materials with controllable and reproducible morphology was prepared. Pore size ranging from several microns to a few hundred microns was obtained. Due to interconnected pores and the hydroxiapatite bioactive, they are promising scaffolds for bone – tissue engineering.

Keywords: freeze – drying, polyurethane, scaffolds, bone, tissue, hydroxiapatite, bioactive

Correspondencia:

Carlos Alberto Martínez-Pérez,
Departamento de Biomateriales, División de Deterioro de Materiales,
Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C.
Miguel de Cervantes # 120, Chihuahua, Chih. , México C.P. 31109
Fax: (1) 439-11-12
Email: martinezc@nurse.cimav.edu.mx

Introducción

Recientemente los materiales biodegradables se han propuestos recientemente en aplicaciones ortopédicas temporales[1-5]. Varios trabajos se han enfocado en la elaboración de materiales porosos como el ácido poliglicólico, el ácido poliláctico, etc., con la finalidad de crear las condiciones necesarias para la regeneración del tejido [3]. Algunos de estos materiales han sido evaluados específicamente para reconstruir, regenerar, y reparar órganos dañados como el cartílago de la nariz y de los oídos, así como tejidos biológicos dañados (nervios, hueso, meniscos)[1]. Esto se puede lograr empleando materiales con estructura porosa e interconectada elaborada con materiales biodegradables y biocompatibles[5]. El poliuretano se ha utilizado en diversas aplicaciones biomédicas como en válvulas del corazón, prótesis vasculares, y reconstrucción de meniscos entre otras[6]. Esta versatilidad se debe al gran nivel de biocompatibilidad y al amplio rango de propiedades mecánicas y físicas[7-9]. Las matrices macroporosas son de estructura similar al hueso esponjoso. Los poros permiten tener suficiente espacio para el crecimiento de células y el transporte de nutrientes para obtener un crecimiento a través de la matriz[10]. La hidroxiapatita sintética se ha utilizado como un sustituto del hueso y como relleno en polímeros orgánicos[11-13]. La elaboración de materiales compuestos de poliuretano/hidroxiapatita pueden presentar osteoconductividad debido a la presencia de HA, la cual, se ha demostrado que presenta buenas propiedades de enlace al hueso y ayuda a su regeneración[14-17], también la microestructura que se puede obtener en los poliuretanos hace que estos materiales sean una

buena alternativa para la reparación del tejido óseo blando.

Materiales y Métodos

Síntesis de la hidroxiapatita

A una solución 0.5M de hidróxido de calcio se le agregó gota a gota una solución 0.3M de ácido (orto)fosfórico con una relación estequiométrica para obtener la hidroxiapatita, durante el proceso la solución fue mantenida a una temperatura de 42°C y a un pH alrededor de 11 por la adición de hidróxido de amonio, La suspensión que se obtuvo se dejó envejecer a 80 °C por 12 horas, después fue filtrada y secada a 120 °C. Los polvos obtenidos se examinaron por difracción de Rayos X (XRD, Siemens D5000) con una radiación CuK α , y por espectroscopía infrarrojo (magna-IR750 II). La relación Ca/P de la hidroxiapatita fue determinada por espectroscopía de plasma obteniendo una relación de 1.67.

Síntesis del poliuretano y de los materiales compuestos

6 equivalentes de policaprolactone diol (P.M. 1250) y 2 equivalentes de policaprolactone triol (P.M. 900) fueron disueltos en 1,4 dioxano. Posteriormente se le agregaron 9 equivalentes de 1,6 hexamethylenediisocyanate (HDI) a la solución. Como catalizador se utilizó 0.5% de dibutiltin dilaurate. La mezcla fue congelada, después fue colocada en un aparato de liofilización (labconco 4.5) conectado a una bomba de vacío (0.15 milibar). Después de llevar a cabo la liofilización, el polímero fue curado por 48 horas a presión reducida y a una temperatura de 60 °C. Para la preparación de los

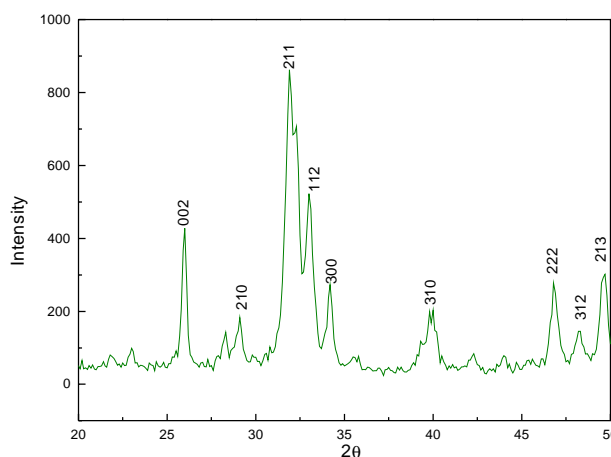


Figura 1. Patrón de difracción de Rayos X para los polvos de Hidroxiapatita

compositos la HA se agregó a la solución antes de ser congelada. La HA fue agregada en diferentes concentraciones del 10 al 40 % en peso, la solución fue agitada vigorosamente por 30 minutos antes de ser congelada. La caracterización de microestructura fue llevada a cabo en un microscopio electrónico de Barrido MEB JOEL JSM58001V, también se utilizó la espectroscopía infrarrojo para su análisis químico. Se realizaron pruebas de compresión en una máquina instron a una velocidad de 2 mm/min.

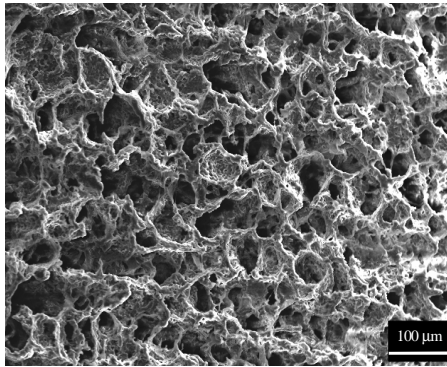


Figura 2. Micrografía de un poliuretano elaborado en 1,4 dioxano y agua(93/7 v/v)

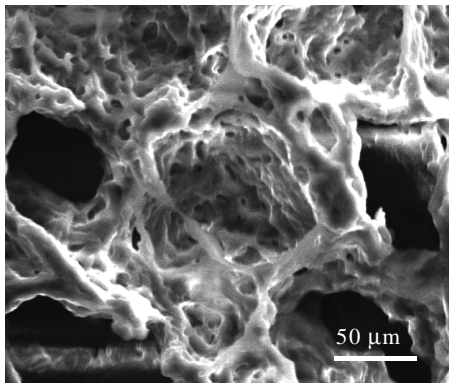


Figura 3. Detalle de la micrografía 2

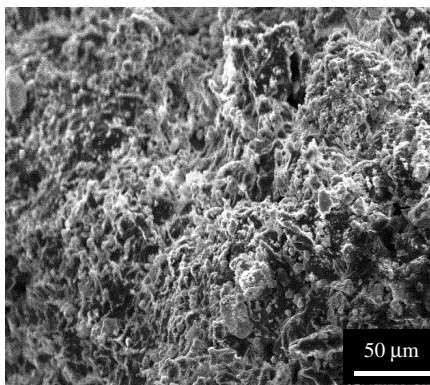


Figura 4. Poliuretano elaborado en 1,4 dioxano y c-hexano (70/30 v/v) Congelado a una temperatura de $-77\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Resultados y discusión

La figura 1 muestra el patrón de difracción de Rayos X de los polvos de HA, el cual muestra que la HA es la única fase presente y no se detectaron trazas de otras fases como óxido de calcio, las fases α ó β del fosfato tricálcico. La liofilización es un proceso en el cual el solvente es removido por sublimación de este del material congelado, lo cual, lleva a una estructura porosa. La densidad del polímero poroso es determinada por la concentración del polímero en la solución inicial. La morfología es determinada por la separación de fases. Esta se puede dividir en separación de fases líquido – líquido (la cual ocurre antes que el solvente es congelado) y separación de fases líquido – sólido (la cual ocurre cuando el solvente es congelado).

Si se agrega un no – solvente a la solución puede inducir una separación de fases líquido – líquido[18]. La figura 2 muestra una micrografía de un poliuretano elaborado en 1,4 dioxano y agua(93/7 v/v). La solución fue congelada a $-33\text{ }^{\circ}\text{C}$. La estructura es básicamente homogénea e isotrópica con un tamaño de poros alrededor de $50\text{ }\mu\text{m}$ con pequeños poros interconectados como se puede ver en la figura 3. Esta estructura se obtiene por la adición del agua como no solvente la cual induce a una separación de fases líquido – líquido y genera una combinación de separación de fases líquido – líquido y líquido – sólido. La morfología se puede predecir de un diagrama de fases como se ha hecho en otros sistemas[19]. A concentraciones bajas, la fase rica en el polímero se dispersa en la matriz diluida. A concentraciones altas de polímero la situación es invertida. Durante el congelamiento la solución homogénea se mueve a un dominio en el cual la separación de fase ocurre. La separación de fase ocurre hasta que el solvente es congelado. La morfología final se determina de acuerdo a si una separación de fase líquido – líquido ocurre (antes que la solución se congele) o si ocurre una separación sólido – líquido. El tamaño de poro se puede controlar tanto por la concentración del polímero como por la velocidad de enfriamiento. Sin embargo, observamos que para velocidades de congelamiento altas se favorece la nucleación y crecimiento y únicamente se obtienen polvos y/o estructuras finitas(fig. 4). La figura 5 muestra una micrografía de un polímero elaborado en una solución con diferentes relaciones de 1,4 dioxano/c-hexano y 20% en peso del poliuretano. La porosidad se incrementa conformen se incrementa el porcentaje de c-hexano en la solución. La morfología

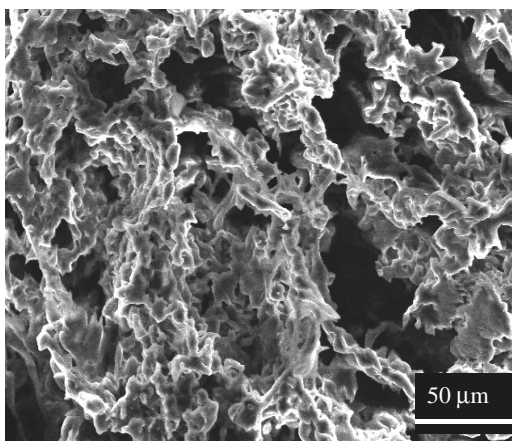


Figura 5a. Micrografía de un poliuretano elaborado con una mezcla 1,4 dioxano/c-hexano(8 wt%)

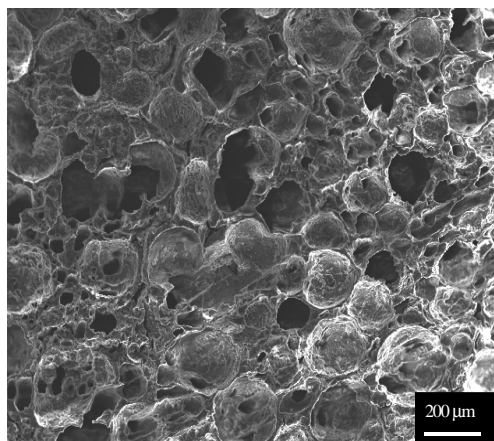


Figura 6. Micrografía de un poliuretano obtenido en una mezcla de 1,4dioxano/c-hexano/agua (65/21/14 v/v/v). Temperatura de congelación -15°C

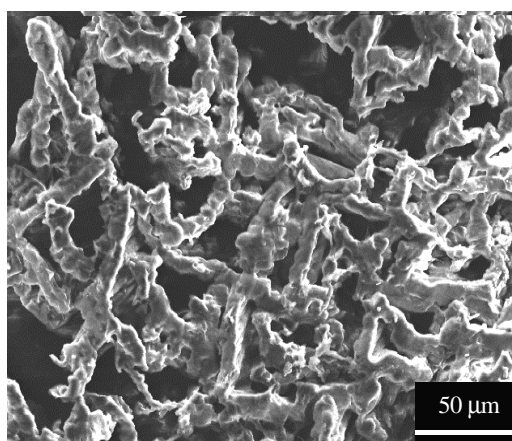


Figura 5b. Micrografía de un poliuretano elaborado en una mezcla de 1,4 dioxano/c-hexano(14 wt.%)

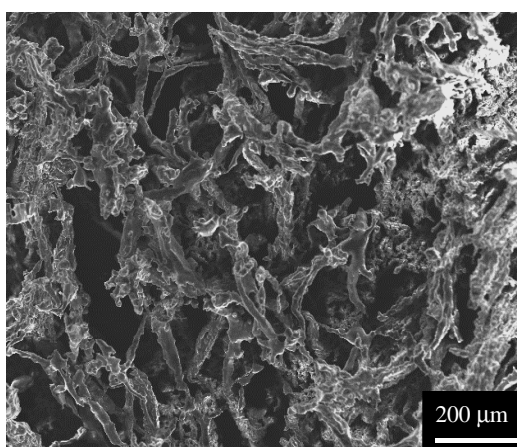


Figura 5c. Micrografía de un poliuretano elaborado con una mezcla 1,4 dioxano/c-hexano(20 wt%)

consiste de pequeñas moléculas unidas por moléculas alargadas. Sin embargo, los polímeros elaborados en solución con más de un 20% de c-hexano no son apropiados para aplicaciones quirúrgicas. La figura 6 muestra una micrografía del MEB elaborado en una solución de 1,4 dioxano/c-hexano/agua (65/21/14 v/v/v). El tamaño de poros fue de más de 200 µm los cuales parecen ser poros obtenidos por la evaporación del solvente. Estos macroporos fueron obtenidos por las bajas velocidades de enfriamiento la cual fue de -15°C.

El comportamiento de las curvas esfuerzo contra deformación muestran una deformación lineal a bajos esfuerzos, en esta etapa el material se va acomodando entre los poros, después de esto se pasa a un proceso de densificación en donde la carga se eleva linealmente. La figura 7 muestra una gráfica de la variación del módulo de Young con respecto a la hidroxiapatita, el módulo de Young varía en forma similar a como varía la densidad del poliuretano sin hidroxiapatita, por lo que se puede esperar que este comportamiento se debe no solamente a la hidroxiapatita en si, sino también al aumento de densidad que sufre el poliuretano al agregar la HA, esto aspecto que se puede esperar que tenga una influencia es el tamaño, y la forma de las partículas de HA, lo cual esta en estudio.

El espectro infrarrojo de los materiales compuestos PU/HA es presentado en la figura 8. En el espectro se muestran los picos característicos del poliuretano como el que se presenta a 3330 cm⁻¹ que se atribuyen a la vibración por estiramiento del enlace N-H, a 1730 cm⁻¹ se presenta el pico por la vibración ocurrida por el estiramiento del enlace del uretano C=O, el pico a 1535 cm⁻¹ corresponde al

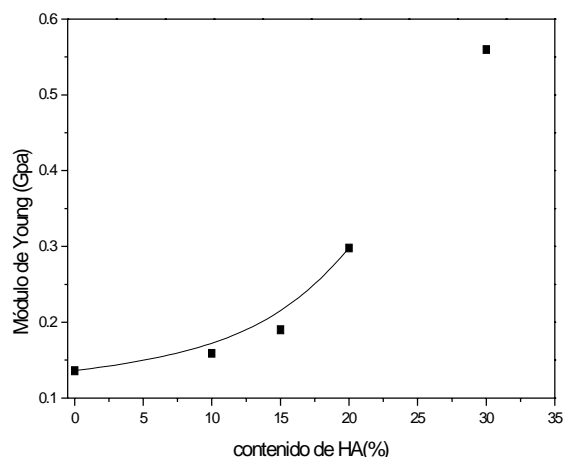


Figura 7. Variación del módulo de Young con respecto al contenido de HA.

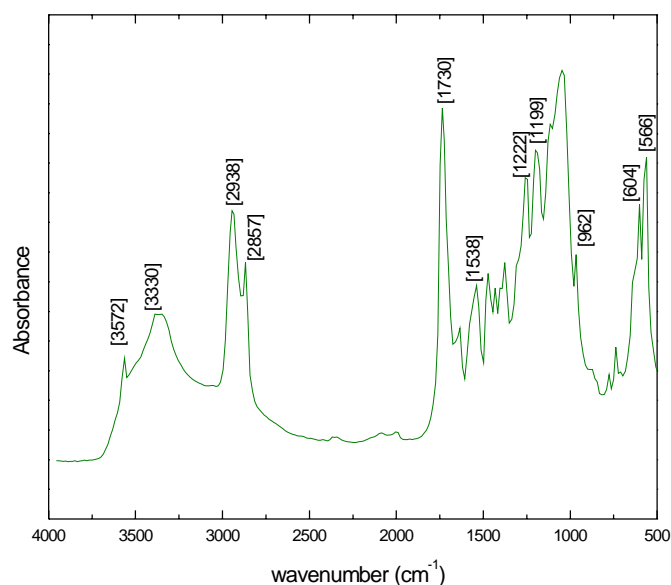


Figura 8. Espectro infrarrojo de un compuesto poliuretano/hidroxiapatita

modo de estiramiento de los enlaces N-H + C-N del uretano, y a 1222 cm^{-1} el pico se atribuye al estiramiento del enlace C-N. Los picos que corresponden a la HA se observan a 1039, 962, 604, y 566 cm^{-1} atribuidos al modo de estiramiento del $(\text{PO}_4)^{3-}$ y el modo de estiramiento que ocurre alrededor de 3572 cm^{-1} .

Conclusiones

Se pudieron producir materiales porosos elaborados de poliuretano y poliuretano/hidroxiapatita por una técnica de separación de fases inducida térmicamente. Fue posible controlar la porosidad y la morfología por la variación de la velocidad de congelamiento y el co-solvente y no solvente utilizado. Estos materiales, combinan un material orgánico biodegradable y un cerámico bioactivo, lo cual

tiene una aplicación potencial como implantes ortopédicos temporales.

Bibliografía

1. **Chaput, C.; DesRosiers, E.A; Assad, M.; Brochu, M.; Yahia, L.H.; Selmani, A.; Rivard, C.-H.** *Advances in Materials Science and Implant orthopedic Surgery*, Luwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 229, 1995.
2. **Mikos, A.G.; Bao Y.; Cima, L.M.; Ingber, D.; Vacanti, J.P.; Langer, R.J.** *of Biomed. Mat. Res.*, v. 27, p. 183, 1993.
3. **Mikos, A.G.; Sarakinos,; Leite, G. S.M.; Vacanti, J.P.; Langer, R.** *Biomaterials*, v.14, p. 323, 1993.
4. **Beumer, G.J.; van Blitterwijk, C.A.; Bakker, D.; Ponce, M.** *Biomaterials*, v.14, p.598, 1993.
5. **de Groot, J.H.; Nijenhuis, A.J.; Bruin, P.; Pennings, A. J.; Veth, R.P.H.; Klomp maker J.; and . Jansen,**

- H.W.B. Colloid and Polymer Science, v.268 n.12,p.1073,1990.
6. **Szycher,M.; Siciliano, A.A.; and Reed, A.M.** Polyurethane Elastomers in Medicine. In Polymeric biomaterials, ed. S. Dumitriu, Marcel Decker, Inc, New York NY.,p.233,1994.
 7. **Worley,S.; Marchand, R.; Lavallée, C.** Biomaterials, v.11,p.97,1990.
 8. **Chirilia,T.V.; Constable, I.J.; Crawford, G.J.; Vijayasekaran, S.; Thompson, D.E.; Chen, Y.C.; Fletcher, W.A.; Griffin, B.J.;** Biomaterials, v.14,p.26,1993.
 9. **Lelah, M.D.;** Cooper, S.L.; Polyurethanes in Medicine, CRC Press, Boca Raton, FL, 1986.
 10. **Jin, S.;** Gonsalves, K. J. Mater. Sc.: Mater. Med. v.10, p.363,1999.
 11. **Lindholm, T.C.;** Gao, T.J.; Lindholm, T.S.; Int. J. Oral Maxillofac. Surg, v.23,p.306,1994.
 12. **Wan, A.C.A.;** Khor, E.; Hastings, G.W. J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater) v.38, p.2351997.
 13. **Liu, G. J.;** Miyaji, F.; Kokubo, T.; Takadama, H.; Nakamura, T.; Murakami, A. J. Mater. Sc.:Mater Med. v.9,p.2851998.
 14. **Zhang, S.;** Gonsalves, K.E.; J.Mater. Sc.: MaterMed. v.8, p.251997.
 15. **Correia, R.N.;** Magalhaes, M.C.F.; Marques, P.A.A.P.; Senos, A.M.R.; J. Mater Sc. Mater Med. v.7,p.501,1996.
 16. **Groot,K.;** Biomaterials v.1, p.47,1980.
 17. **Tampieri, A.;** Celotti, G.; Szotagh, F.; Landi, E.; J. Mater. Sci. Mater. Med. v.7, p.29,1996.
 18. **Aubert, J.H.;** Clough, R.H. Polymer, v.26, p.2047, 1985.
 19. **Hikmet, K.M.;** Callister, S.; Keller, A. Polymer, v.29, p.1378, 1988.