

Composites de hidroxiapatita con matrices biodegradables

Juan M. Díaz, Natalia Davidenko, Carlos Peniche, J. San Román* y Roberto Sastre Muñoz.*

Departamento de Química Macromolecular, Centro de Biomateriales, Universidad de la Habana, Avenida Universidad entre Calles G y Ronda, Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Código Postal 10400, Cuba.

*Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC. Calle Juan de la Cierva No. 3, Código Postal 28006, Madrid, España.

Recibido: 17 de mayo de 1999. Aceptado: 21 de julio del 2000.

Palabras clave: hidroxiapatita, quitosana, ácido acrílico, composites, sistemas biodegradables.
Key words: hydroxyapatite, chitosan, acrylic acid, composites, biodegradable systems.

RESUMEN. Mucho se ha publicado sobre el empleo de la hidroxiapatita (HAP) como un sustituto del hueso en diferentes áreas de la medicina. Desde hace algunos años, se viene criticando el uso de este sistema debido a la capacidad de migración de las partículas de HAP del sitio del implante. Su posible estabilización se viene investigando y se han desarrollado métodos para lograrlo. Se prepararon composites de hidroxiapatita con quitosana (CHI) y ácido acrílico (AA) con el objetivo de obtener sistemas biodegradables con características osteoconductoras. Se estudió la influencia de diferentes factores: método de preparación, contenido de HAP y la concentración de CHI sobre la cinética de fotopolimerización de estos composites bajo irradiación con luz visible. Como sistema de iniciación se empleó el par canforquinona-alcohol *N,N*-dimetilaminobencílico, ambos al 1 % en peso con respecto al AA. Se encontró que el método de preparación influye sobre las propiedades físico-químicas y cinéticas de los composites. Por ejemplo, para los sistemas preparados sobre la base de geles de AA y CHI previamente hinchada con agua, se observan menores velocidades de polimerización (R_p) que para los composites obtenidos a partir de los llamados geles inversos, donde el AA se pone previamente en contacto con la CHI (antes de la formación de su gel con agua). Además, la velocidad de polimerización alcanza su máximo al 15 % de CHI, disminuyendo después su valor al seguir aumentando el contenido de CHI en el sistema debido, posiblemente, al incremento de la heterogeneidad del medio. Por otra parte, para ambos sistemas el valor de R_p disminuye con el aumento del contenido de relleno. Los resultados cinéticos obtenidos se discuten teniendo en cuenta tanto las características químico-físicas de los geles (viscosidad, interacción entre sus componentes y pH), así como la homogeneidad del material resultante.

ABSTRACT. Many papers have been published about hydroxyapatite (HAP) as bone substitute in different medicine areas. Since some years ago, the use of this system has been criticized, because of the migration capacity of the HAP particles from the implantation sites. Its possible stabilization is being researched and some methods have been developed for reaching it. Composites of hydroxyapatite with chitosan (CHI) and acrylic acid (AA) were prepared with a view to producing biodegradable systems with osteoconductive characteristics. The influence of different factors such as the method of preparation, HAP content and concentration of CHI, on the kinetics of photopolymerisation of these composites under irradiation by visible light, was studied. The pair camphorquinone-*N,N*-dimethylaminobenzyl alcohol, both 1 % weight relative to AA, was used as the initiator system. It was found that the physical chemical properties and kinetics of the composites were dependent upon their method of preparation. For example, in systems prepared on the basis of gels of AA and CHI, previously swollen with water, lower polymerisation rates (R_p) were observed compared to the systems with composites obtained by means of so-called inverse gels, where AA is placed in contact with CHI prior to the formation of its gel in water. Also, the polymerisation rate records a maximum for 15 % CHI diminishing to more contents due to the increase of heterogeneity achieved by the system. On the other hand, in both systems the value of R_p decreases with increase of filler content. The kinetic results obtained for different composite preparation systems are discussed, taking into account both the physical chemical characteristics of the gels (viscosity, interaction between their constituents, and pH), and the homogeneity of the resultant material.

INTRODUCCION

Durante la pasada década se ha publicado una gran cantidad de trabajos sobre el empleo de la hidroxiapatita (HAP) como un sustituto del hueso en diferentes áreas de la medicina como la Odontología y la Traumatología, debido, principalmente, a sus conocidas propiedades de osteoconducción, osteointegración y biocompatibilidad.^{1,3} Entre las aplicaciones de este material se incluyen la reparación de defectos periodontales,⁴ implantación en zonas de extracciones para mantener la altura del reborde alveolar,⁵ así como el relleno de cavidades alveolares para la estabilidad y aumento del soporte de dentaduras artificiales.^{6,7} Sin embargo, desde hace algunos años, se viene criticando el uso de este sistema debido a la capacidad de migración del sitio del implante, de las partículas de HAP.⁸

Algunos autores han demostrado que para la estabilización del implante se necesita como mínimo un mes y durante este tiempo ocurren en él algunos ajustes y remodelaciones con su correspondiente reducción en el tamaño.^{9,10} Este tipo de problemas se viene investigando y se han desarrollado algunos métodos para evitarlo. Por ejemplo, se reporta el confinamiento de las partículas de HAP en el sitio del implante mediante tubos de colágeno reabsorbible^{11,12} que previenen esta migración; métodos similares se han descrito en otros casos utilizando tubos de mallas poliglicólicas.^{13,14} El uso de estos materiales en la prevención de la

migración de los implantes esta siendo investigado.

Una solución diferente para la migración de las partículas de HAP es el desarrollo de pastas fotopolimerizables que contengan en sí a estas partículas, las cuales pueden ser fácilmente inyectadas posteriormente en el lugar del implante utilizando como matriz polimérica geles de ácido acrílico (AA) y quitosana (CHI). Se eligió la CHI debido a que este polisacárido posee diversas características como son biocompatibilidad,¹⁵ actividad antihemostática¹⁶ y propiedades cicatrizantes, lo cual hace atractivo su uso como agente aglutinante en este tipo de materiales.

Este trabajo se propuso desarrollar composites fotopolimerizables empleando HAP como relleno y geles de AA-CHI como matriz polimérica, así como determinar la influencia de diferentes factores: método de preparación, contenido de HAP y la concentración de CHI sobre la cinética de la fotopolimerización de estos sistemas bajo irradiación con luz visible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

La quitosana (CHI) utilizada (grado de desacetilación, GD = 79,9 % determinado por RMN-¹H, $M_n = 2 \cdot 10^5$), fue obtenida a partir de caparzones de langosta (*Panulirus argus*) como se describe en otros trabajos.¹⁷ El ácido acrílico (AA) (Merck) y la canforquinona (CQ) (Aldrich) fueron usados directamente sin previa purificación. La amina utilizada, el alcohol 4-dimetilaminobencílico (DMOH), fue sintetizada como se describe en trabajos anteriores.¹⁸

La hidroxiapatita (HAP) utilizada, obtenida por el método de Rathje fue sometida a un proceso de secado y molienda hasta obtener un polvo, al cual se le determinaron, mediante técnicas de valoración volumétricas, el contenido porcentual de Ca²⁺ y PO₄³⁻ y su relación molar. Además, fue caracterizado por técnicas de DRX. Los tamaños de partículas y las áreas superficiales fueron determinados mediante el uso de Sedigraph 5100 (Micromeritics, USA) y el Sistema ASAP 2000 respectivamente (Tabla 1).

Métodos

Preparación de los composites

Los composites se prepararon por dos métodos descritos a continuación: en el método I a una deter-

minada cantidad de CHI, se le añade un volumen fijo de agua destilada y se deja esta mezcla en reposo durante unos 10 min, para lograr el hinchamiento de la quitosana. La cantidad de agua añadida era igual al volumen de AA que se le añadiría posteriormente. Este AA ya llevaba incorporado el sistema iniciador en concentración de 1 % de CQ y DMOH. Posteriormente, se le adiciona un 60 % en peso de HAP. En el

método II sólo se varió el orden de adición del agua y el AA a la CHI; es decir, primeramente, se pone en contacto la CHI con el AA y posteriormente, se añade el agua (Fig. 1, Tabla 2).

Cinética de fotopolimerización

Las reacciones de fotopolimerización fueron provocadas mediante la irradiación directa de las muestras depositadas en el portamuestra de

Tabla 1. Características de la hidroxiapatita (HAP) obtenida por el método de Rathje.

Factores	Resultados
Ca (%)	40,3
PO ₄ ³⁻ (%)	18,7
Relación molar Ca/P	1,66
Cristalinidad (DFX) (%)	> 95
Tamaño medio (µm)	4,9
Relación tamaño/mediana	1,6
Area específica superficial S (m ² /g)	57,7
Area de microporos	3,8

Tabla 2. Composición de los composites preparados por ambos métodos.

Composite	CHI (%, p/p) con respecto al AA	HAP (%, p/p)	[CQ]	[AA]
			(mol/L)	
CO110/CO210	10	60	0,011 3	2,625
CO115/CO215	15	60	0,011 1	2,555
CO120/CO220	20	60	0,010 7	2,472
CO125/CO225	25	60	0,010 5	2,431

CO1... = composites preparados por el método I.
CO2... = composites preparados por el método II.

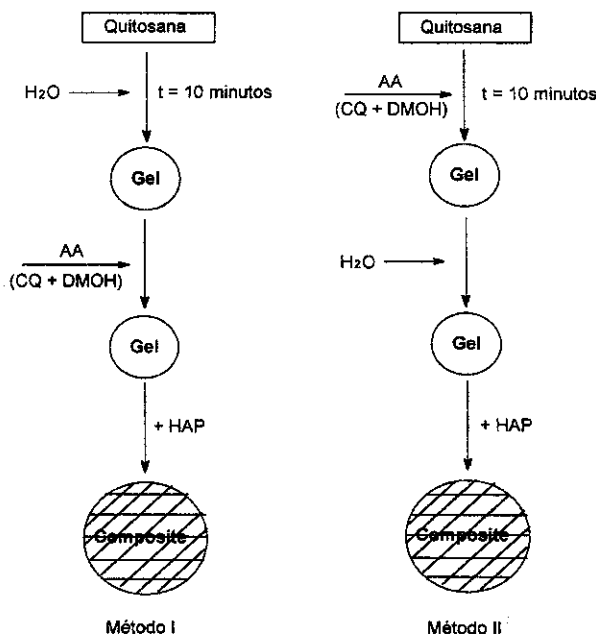


Fig. 1. Métodos de preparación de los composites

un calorímetro diferencial de barrido estándar Perkin-Elmer DSC-4, el cual fue modificado y adaptado para medir la velocidad de polimerización de muestras irradiadas como se describe en otros trabajos.^{19,20} Se trabajó a una temperatura constante de 37 °C para semejar la temperatura corporal humana. La masa de muestra tomada osciló entre los 5 y 7 mg y se utilizaron cápsulas con tapas de PMMA para evitar la evaporación del monómero. La intensidad de la luz incidente (I_0) se mantuvo constante e igual a 0,26 mcal/s y la longitud de onda igual a 470 nm. En todos los casos, las mediciones se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se realizó un estudio cinético de la fotopolimerización de los composites con el objetivo de determinar la influencia del contenido de CHI y el método de preparación sobre los parámetros cinéticos estudiados. De las partes lineales de las curvas cinéticas obtenidas (Fig. 2), se calcularon las correspondientes velocidades iniciales de polimerización (R_p) (Tabla 3).

De forma general, se pudo observar cómo en ambos métodos de preparación la R_p aumenta en un inicio hasta llegar a un máximo (para un 15 % de CHI) y después disminuye paulatinamente, lo que pudiera explicarse teniendo en cuenta que el aumento del contenido de CHI provoca un incremento en la viscosidad y en la heterogeneidad de los composites preparados. Este aumento de viscosidad debe disminuir, en primer término, la movilidad de los macrorradicales en crecimiento, lo que a su vez afectaría la constante de terminación (k_t), disminuyendo su valor. Esto daría lugar a un aumento del cociente $k_p/k_t^{1/2}$ y por consiguiente, de la velocidad de polimerización (R_p). Un posterior crecimiento de la viscosidad del medio reaccionante (al seguir aumentando el contenido del aglutinante CHI) pudiera llegar a afectar incluso, la movilidad de los micro-radicales, disminuyendo así, la constante de propagación y por consiguiente, la velocidad de polimerización. Por otra parte, al aumentar el contenido de CHI crece también la heterogeneidad del medio, lo cual debe influir negativamente sobre la ocurrencia de las reacciones de polimerización. Esto explicaría el decremento observado en la velocidad del proceso para los composites en los que el contenido de CHI estuvo por encima del 15 %.

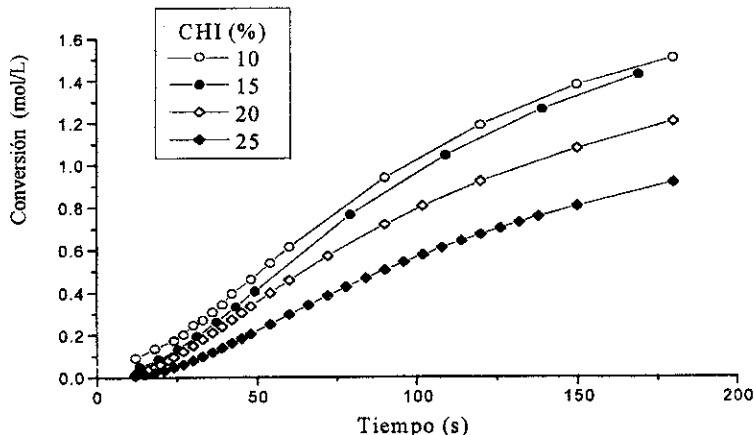


Fig. 2. Curvas cinéticas obtenidas para los composites preparados por el método I a una intensidad constante $I_0 = 0,26$ mcal/s.

Tabla 3. Resultados de la R_p para los composites preparados por los métodos I y II, a una intensidad de luz incidente $I_0 = 0,26$ mcal/s.

CHI (% p/p) con respecto al AA	R_p [mol/(L · s)]	
	Método I	Método II
10	0,012 1	0,005 2
15	0,012 2	0,007 7
20	0,008 9	0,006 4
25	0,007 5	0,004 7

En todos los casos se mantuvo constante e igual a 60 % el contenido de HAP.

Al comparar los resultados del estudio de los composites preparados por diferentes métodos, se pudo observar que, en todo el intervalo de contenidos de CHI estudiado, los mayores valores se obtuvieron en el caso de los composites I. Esto puede ser debido a las diferencias en la concentración del AA "libre" (capaz de polimerizar por vía fotoquímica) que queda en cada sistema después de interaccionar sus componentes principales (CHI y AA). Es lógico suponer que el método de preparación II, favorece a las interacciones entre CHI y AA con la formación de la correspondiente sal AA⁻CHI⁺ o de algún injerto de AA en la superficie de la quitosana. Debido a esto, en los composites II quedaría menos AA disponible para polimerizar que en los composites I, lo que incidiría directamente sobre el valor de la R_p .

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en el análisis del grado de conversión (GC) (Fig. 3). Para ambos sistemas, se observan las tendencias similares a las encontradas en el caso de la R_p , además, la disminución del GC con el aumento del contenido de CHI es

más acentuada para los composites I, debido posiblemente a una relativamente más elevada vitrificación del medio reaccionante (consecuencia de una mayor velocidad inicial de polimerización), lo que a su vez, impide alcanzar mayores conversiones en medios más viscosos y menos homogéneos.

Posteriormente, se varió el contenido de HAP y la concentración de monómero, con el objetivo de analizar la influencia de estos factores sobre la cinética de fotopolimerización, tomando como base al composite con un 15 % de CHI preparado por ambos métodos (Tablas 4 y 5).

Los resultados obtenidos al variar la concentración de monómero, AA, en esos composites (Fig. 4) permitieron observar cómo el aumento de AA produce un incremento en la R_p y que los valores de este parámetro siguen siendo mayores en el caso de los composites I. Estos resultados eran lógicos de esperar, ya que según la ecuación general de la velocidad de polimerización radicalica, el aumento de la concentración de monómero conduce a un aumento proporcional de la R_p .

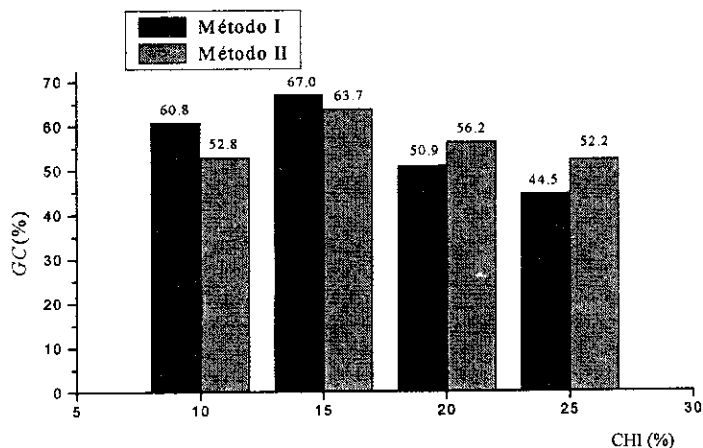


Fig. 3. Comparación del GC, a los 4 min de irradiación, para los composites con un 60 % de HAP preparados mediante los métodos I y II a una intensidad de luz incidente $I_0 = 0,26$ mcal/s.

Tabla 4. Composición de los composites preparados por ambos métodos, variando el contenido de monómero.

CHI (% p/p) con respecto al AA	[AA]		[CQ]
	(%)	(mol/L)	(mol/L)
15	40	2,098	0,009 1
15	50	2,555	0,011 1
15	60	2,047	0,013 2

HAP (% p/p) se mantuvo constante e igual a 60 %.

Tabla 5. Composición de los composites preparados por ambos métodos, variando el contenido de HAP.

CHI (% p/p) con respecto al AA	[AA]	[CQ]	HAP
	(mol/L)	(mol/L)	(% p/p)
15	2,555	0,011 1	60
15	2,879	0,012 5	55
15	3,189	0,013 8	50
15	3,524	0,015 3	45
15	3,824	0,016 6	40

La relación AA:H₂O se mantuvo constante e igual a 50:50.

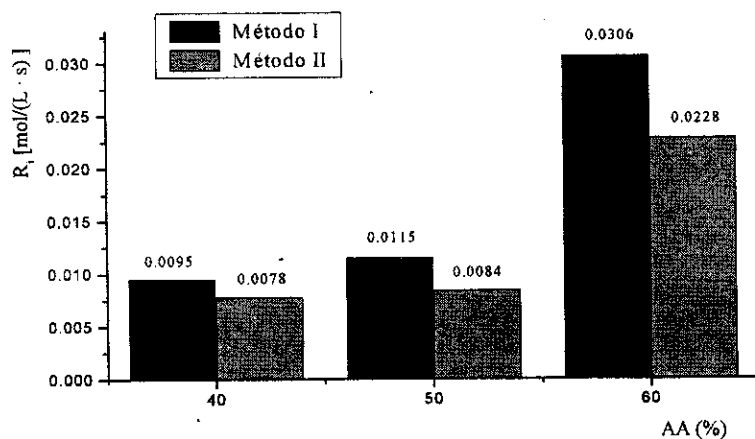


Fig. 4. Dependencia de las R_p para los composites preparados por los métodos I y II, con la variación del contenido de monómero (AA) con una concentración constante de CHI igual a un 15 % con respecto al AA.

Se pudo observar que la disminución del contenido de relleno provoca un aumento en la R_p , lo cual puede ser explicado a través de una menor viscosidad del medio y una mayor cantidad del monómero "libre" en los composites menos cargados (Fig. 5). Por otra parte, estos resultados están en concordancia con los observados en la fotopolimerización de los composites bioestables formados por Bis-GMA-dimetacrilato de trietilenglicol (PL) y la hidroxiapatita (relleno)²¹ en los que también se observó la disminución de la velocidad del proceso con el aumento del contenido de la carga inorgánica. Para explicar este fenómeno los autores acudieron a la Teoría de la Mesofase aplicable a los composites cargados con partículas.²² Teniendo en cuenta que en el sistema estudiado se empleó el mismo relleno inorgánico (HAP), resulta lógico basarse en la misma teoría para explicar las tendencias observadas y suponer que a una mayor concentración de la carga corresponde una mayor cantidad del componente monomérico (AA "libre") incluido en la mesofase, alcanzando su máximo al 60 % de relleno. La viscosidad y la densidad de esta mesofase son, normalmente, mayores que las de la matriz, lo cual condiciona una menor movilidad molecular de la especie que polimeriza. De esta forma, la constante de propagación (kp) de la mesofase debe ser menor que en el seno del componente monomérico y, por consiguiente, su velocidad de polimerización debe ser menor, tal y como se observa experimentalmente.

AGRADECIMIENTOS

A los Proyectos CYTED VIII.6 "Biomateriales compuestos con carga de hidroxiapatita", MEC-ICI (España) "Preparación y caracterización de biomateriales poliméricos a partir de monómeros acrilfuránicos" y CITMA (Cuba) "Biomateriales de fosfatos de calcio para reparaciones óseas" por el apoyo financiero otorgado para su ejecución.

BIBLIOGRAFIA

1. Kawakami T., Antoh M., Hasegawa H., Yamagishi T., Ito M. and Eda S., *Biomaterials*, **13**, 759, 1992.
2. Frank R.M., Kiewansky D., Hemmerle J. and Tenenbaum H., *J. Clin. Periodont.*, **18**, 669, 1991.
3. Mattoli-Belmonte M., Biagini G., Muzzarelli R.A.A., Castaldini C., Gandolfi G., Krajewski A., Ravagliodi A., Fini M. and Giardino R., *J. of Bioac. and Comp. Polym.*, **10**, 249, 1995.

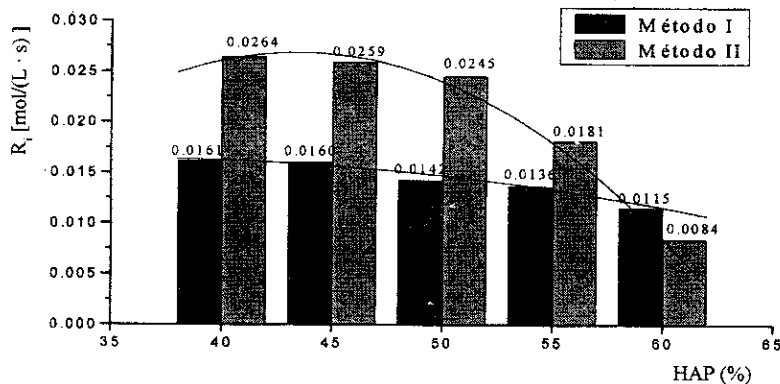


Fig. 5. Resultados correspondientes al estudio de la influencia del contenido de HAP (% p/p) sobre la velocidad inicial del proceso de fotopolimerización (R_i) de composites preparados por los métodos I y II, manteniendo constante el contenido de CHI (% p/p) igual a un 15 % con respecto al AA.

4. Dahlin C., Gottlow J., Lindhe A., Nyman S., *Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg.*, **24**, 13, 1990.
 5. Geibert J., Nyman S., *J. Periodontol.*, **61**, 157, 1990.
 6. Crain A.N., Tobin G.P., Gebelman J., *Compend. Contin. Educ. Dent.*, **8**, 334, 1897.
 7. Larsen H.D., Finger I.M., Guerra and L.R., Kent J.N., *J. Prosthet. Dent.*, **49**, 461, 1987.

8. Takagi Y., *Nihon Shika Hyoron*, **543**, 57, 1988.
 9. Becker W., Becker B., *Int. J. Periodont. Restor. Dent.*, **10**, 377, 1990.
 10. Desjardins R.P., *J. Prosthet. Dent.*, **54**, 374, 1985.
 11. Beischer N., De Waal H., Bloom A., *Int. J. Periodont. Restor. Dent.*, **8**, 45, 1990.
 12. Chung K.M., Salkin L.M., Stein M.D., Freedman A.L., *J. Periodontol.*, **61**, 732, 1990.

13. Guilbert P., Mauduit J., Frank R.M., Vert M., *Biomaterials*, **14**, 353, 1993.
 14. Warrer K., Karring T., Nyman S., Golowesky S., *J. Clin. Periodontol.*, **19**, 633, 1992.
 15. Kurita K., *Polymer Degradation and Stability*, **59**, 117, 1998.
 16. Shimojoh M., Masaki K., Kurita K. and Fukushima K., *Nippon Nogerkagaku Kaishi*, **70**, 787, 1996.
 17. Argüelles-Monal W., Peniche-Covas C., *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **9**, 693, 1988.
 18. Elvira C., Levenfeld B., Vázquez B., San Román J., *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, **34**, 2783, 1996.
 19. Davidenko N., Peniche C., Sastre R. and San Román J., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **34**, 1753, 1996.
 20. Mateo J.L., Bosch P., Catalina F. and Sastre R., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **30**, 829, 1992.
 21. Alvarez M., Davidenko N., García R., Alonso A., Rodríguez R., Guerra R.M., Sastre R., *Polym. Inter.*, **48**, 699, 1999.
 22. Theocaris P.S. *The Mesophase Concept in Composites*, Akademie-Verlag Berlin, 9, 1987.

NUEVO
 PRODUCTO
 PARA RECUBRIR
 SUS SEMILLAS

ECOMIC

Especialmente indicado para:
 arroz, algodón, cafeto, frutales, hortalizas,
 frijol, maíz, cítricos, pastos, girasol, soya,
 flores, maní y sorgo.

ECOMIC es un inoculante sólido que funciona como un biofertilizante y contiene propágulos de hongos micorrizógenos con un elevado grado de pureza y estabilidad biológica. Se emplea para elevar la población de una o más especies microbianas en el suelo, favoreciendo el crecimiento de las plantas.

Es producido por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba y ha sido evaluado con éxito, así como también, comercializado en Colombia, Bolivia y México.

COMERCIAL MERCADU S.A.

Calle 13 y 8, No. 915, Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana.
 Fax: (53)(7) 55 3784 y 33 302. Correo electrónico: agencia@mercadu.get.cma.net