

SÍNTESE DE HIDROGÉIS CONSTITUÍDOS DE PLA-PEG-PLA E GELATINA OBTIDOS POR FOTOPOLIMERIZAÇÃO E POLIMERIZAÇÃO TÉRMICA

Jéssica F. T. C. Petry^{1*}, Douglas Gamba², Cesar Petzhold³

1. Estudante de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química da UFRGS

2. Professor do Instituto de Química da UFRGS

3. Professor do Instituto de Química da UFRGS / Orientador

Resumo:

Neste trabalho hidrogéis constituídos de copolímeros de poli(lactídeo-b-etileno glicol-b-lactídeo) (PLA-PEG-PLA) foram preparados visando aplicação na área biomédica e farmacêutica. Para isto, os copolímeros foram sintetizados com diferentes proporções mássicas entre D,L-lactídeo:PEG através de polimerização por abertura de anel.

As massas molares dos copolímeros foram determinadas por RMN de ¹H e SEC e a caracterização térmica foi feita através de análises de TGA e DSC. Os copolímeros foram modificados com grupos metacrilatos (reticulantes), assim como o PEG. A modificação foi confirmada por RMN de ¹H.

Os hidrogéis foram preparados por fotopolimerização e caracterizados por compressão e grau de intumescimento. Além dos hidrogéis de PEG e de PLA-PEG-PLA, foram preparados hidrogéis de copolímeros contendo 1% de gelatina. O hidrogel do copolímero com gelatina mostrou perfil mecânico semelhante ao do núcleo pulposo, que faz parte do disco intervertebral, indicando uma potencial aplicação.

Palavras-chave: PLA-PEG-PLA, fotopolimerização, hidrogel.

Apoio financeiro: CNPq

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UFRGS

Introdução:

Nas últimas décadas, hidrogéis têm atraído atenção como biomateriais, em virtude de suas propriedades mecânicas e biológicas. São materiais constituídos de uma rede tridimensional de polímeros hidrofílicos, capazes de reter até 95% de água em sua estrutura, os quais podem ser ligados covalentemente através de reações de reticulação ou mantidos unidos através de forças coesivas, como ligações de hidrogênio ou iônicas^{1,2}. Muitos polímeros têm sido investigados para utilização como biomateriais. Um dos macromônômeros mais utilizados na fabricação de hidrogéis sintéticos é o poli(etileno glicol) (PEG), que apresenta propriedades físico-químicas e biológicas únicas, como biocompatibilidade, ausência de imunogenicidade e citotoxicidade, solubilidade em água e em solventes orgânicos e é facilmente eliminado do organismo. Além disso, o PEG também é frequentemente utilizado como macroiniciador em polimerizações por abertura de anel para a preparação de copolímeros em bloco com poliésteres, como o poli(ácido láctico) (PLA).^{3,4} Em virtude de sua biodegradabilidade e biocompatibilidade este poliéster pode ser utilizado para aplicações em biomedicina, engenharia de tecidos e sistemas de liberação controlada de fármacos. Ao contrário do PEG, o PLA não é solúvel em água e possui características hidrofóbicas. Entretanto, ao ser copolimerizado com PEG é possível a obtenção de um polímero solúvel em água, o que o torna atrativo para a preparação de hidrogéis.⁵

Neste trabalho foi mostrada a síntese e caracterização do copolímero PLA-PEG-PLA e sua funcionalização com anidrido metacrílico e posteriormente sua aplicação na preparação de hidrogéis.

Metodologia:

Síntese dos copolímeros

Os copolímeros foram sintetizados através de polimerização por abertura de anel do monômero D,L-lactídeo utilizando PEG como

iniciador. No total, 4 copolímeros foram preparados utilizando PEG com massa molar de 4.600 g.mol^{-1} , onde a proporção em massa de D,L-lactídeo:PEG foi variada.⁶ A caracterização dos copolímeros foi realizada através de análises de RMN de ^1H , cromatografia por exclusão de tamanho (SEC), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial exploratória (DSC).

Funcionalização dos copolímeros de PLA-PEG-PLA

A funcionalização dos copolímeros é necessária para que haja a formação dos hidrogéis através de grupos reticuláveis, tais como grupos acrilato ou metacrilato.⁷ Assim, no procedimento padrão para esta funcionalização, o copolímero foi modificado com anidrido metacrílico. O copolímero foi solubilizado em diclorometano seco, sob atmosfera inerte, seguido da adição de anidrido metacrílico (3 eq.) e trietilamina (3 eq.). A reação foi realizada por 4 dias à temperatura ambiente. Após este período, o diclorometano foi evaporado em evaporador rotatório e o produto remanescente foi solubilizado em THF e precipitado em hexano (2x). O material sólido obtido foi seco sob vácuo por 16 horas. Para fins de comparação, o PEG de massa molar de 4.600 g.mol^{-1} foi submetido ao mesmo procedimento experimental para a funcionalização destes polímeros. A caracterização da funcionalização foi feita através de RMN de ^1H .

Preparação dos hidrogéis

Os hidrogéis foram preparados por duas rotas diferentes, polimerização térmica e fotopolimerização. Os hidrogéis obtidos por fotopolimerização mostraram-se mais interessantes para o objetivo do trabalho por sua facilidade de obtenção e viabilidade na aplicação em medicina regenerativa.

O copolímero funcionalizado que apresentou solubilidade em meio aquoso foi utilizado na preparação dos hidrogéis. Uma solução de 15 % do copolímero em tampão fosfato (pH 7,4) foi preparada. Após a solubilização, o iniciador (Irgacure 2959) foi adicionado e a reação de reticulação para a formação do hidrogel foi realizada via polimerização fotoquímica. Hidrogéis de copolímero contendo gelatina (1 %) foram preparados via polimerização fotoquímica, utilizando ácido acético (3 %) para auxiliar a solubilização deste polímero natural.⁸ O procedimento também foi realizado com o PEG funcionalizado, para fins de comparação. A fotopolimerização foi realizada

utilizando uma lâmpada de luz ultravioleta ($8,42 \text{ mW/cm}^2$) em comprimento de onda de 365 nm, durante 1 hora, à temperatura ambiente. Os hidrogéis foram caracterizados por grau de intumescimento e análise de compressão.

Resultados e Discussão:

Caracterização dos copolímeros de PLA-PEG-PLA

Os copolímeros foram sintetizados nas proporções de D,L-lactídeo:PEG 2:1, 1:1, 0,8:1 e 0,5:1 (m/m). A partir da análise de RMN de ^1H é possível comprovar a presença do tribloco através de um intenso sinal em cerca de 1,6 ppm referente aos hidrogênios metílicos da unidade repetitiva do PLA, bem como um multipletto em 5,2 ppm atribuídos aos hidrogênios $-\text{CH}$ desta mesma unidade repetitiva. Em cerca de 3,7 ppm observa-se um intenso sinal referente aos hidrogênios metilênicos da cadeia do PEG e entre 4,25-4,45 ppm ocorre a presença de dois conjuntos de multipletos, os quais são atribuídos aos hidrogênios $-\text{CH}$ terminais das cadeias de PLA e aos hidrogênios $-\text{CH}_2$ terminais da cadeia do PEG.

A massa molar dos copolímeros foi determinada por RMN de ^1H e SEC, e comparada com o valor teórico calculado. A massa encontrada utilizando RMN de ^1H mostrou-se mais semelhante aos valores teóricos do que as encontradas por SEC. Estes resultados podem estar relacionados à utilização de uma curva de calibração com padrões de poliestireno, o qual em solução irá apresentar um volume hidrodinâmico diferente do copolímero PLA-PEG-PLA e, conseqüentemente, uma massa molar diferente da esperada. Além disso, o THF não é um bom solvente para estes copolímeros, reduzindo o volume hidrodinâmico do novelo polimérico em solução. Deste modo, a massa molar adotada para o cálculo das reações de funcionalização das cadeias com anidrido metacrílico foi aquela calculada através da análise de RMN.

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada para determinar a influência da quantidade de PLA nas propriedades térmicas do copolímero. Para os copolímeros contendo as proporções de 0,5:1, 0,8:1 e 1:1, observa-se um deslocamento do pico de fusão para temperaturas menores quando comparados com o PEG. Esta diminuição relaciona-se ao rompimento da regularidade da cadeia do PEG pela presença das cadeias do PLA, o que leva à diminuição

da formação de estruturas cristalinas no copolímero. Quando uma proporção de 2:1 de D,L-lactídeo:PEG foi utilizada, o polímero obtido apresentou-se completamente amorfo.

Análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas nos copolímeros sintetizados a fim de se obter o perfil de degradação térmica dos mesmos, além da determinação da proporção entre os blocos de PLA e de PEG. Para todos os copolímeros são observadas duas perdas de massa, onde a primeira é referente à degradação térmica do segmento de PLA e a segunda corresponde ao bloco de PEG.

Para a preparação dos hidrogéis é necessário que o copolímero seja solúvel em meio aquoso. De todos os copolímeros sintetizados, o escolhido foi o de proporção 0,8:1 lactídeo:PEG, que foi o copolímero solúvel em água com a maior proporção de PLA na cadeia.

Caracterização da funcionalização dos copolímeros

A partir dos testes de solubilidade, o copolímero de PLA-PEG-PLA de proporção 0,8:1 foi funcionalizado com anidrido metacrílico, obtendo-se assim grupos reticuláveis em suas extremidades. A comprovação da funcionalização das cadeias do copolímero foi realizada através da análise de RMN de ^1H , cujo espectro, Figura 1, apresenta os hidrogênios da ligação dupla do grupo metacrilato, que aparecem como singletos em 5,65 e 6,20 ppm.

O espectro de RMN de ^1H do PEG funcionalizado também apresentou os sinais correspondentes aos hidrogênios do grupo metacrilato.

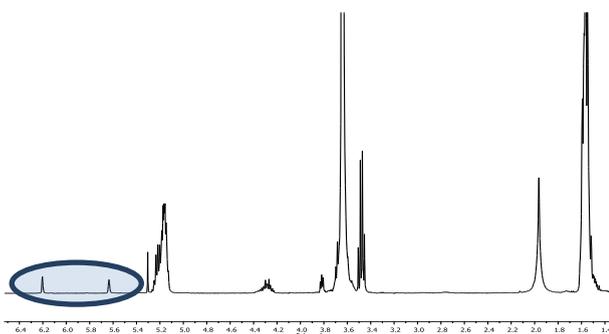


Figura 1. Espectro de RMN de ^1H do copolímero PLA-PEG-PLA funcionalizado com anidrido metacrílico. (CDCl_3 , 400 MHz).

Caracterização dos hidrogéis

Os hidrogéis foram preparados a partir da fotopolimerização dos polímeros funcionalizados e caracterizados, primeiramente, pelo grau de intumescimento

(Q), o qual determina a absorção máxima de água que o hidrogel pode comportar. Na Figura 2 é mostrado um hidrogel após o intumescimento (a) e um hidrogel seco (b).

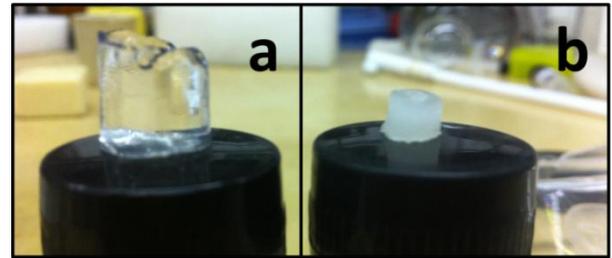


Figura 2. Foto do hidrogel após a análise do grau de intumescimento (a) e do hidrogel seco (b).

O grau de intumescimento foi realizado até 540 minutos para os hidrogéis de PEG, de PLA-PEG-PLA de proporção 0,8:1 e de PLA-PEG-PLA contendo 1% de gelatina. A partir deste teste foi possível observar que o copolímero de PLA-PEG-PLA possui maior inchamento, mas as pequenas diferenças entre os valores de Q levam a inferir que a hidrofobicidade da cadeia do PLA não interferiu expressivamente no grau de intumescimento dos hidrogéis. Entretanto, destaca-se a grande capacidade de absorção da solução de PBS para todos os hidrogéis preparados, a qual alcançou quase 500 %, como pode ser observado no gráfico da Figura 3. Este resultado está de acordo com o observado em outros trabalhos na literatura para o intumescimento de hidrogéis.⁹

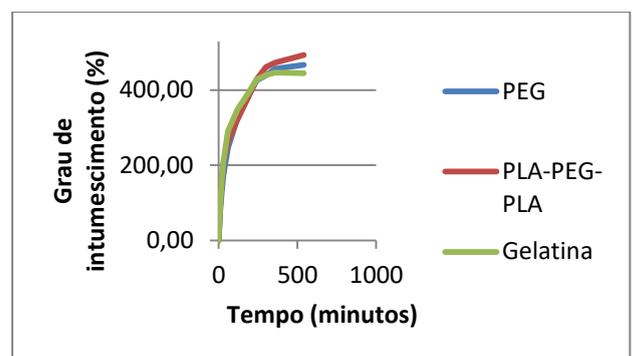


Figura 3. Gráfico relacionando o grau de intumescimento (%) com o tempo para os hidrogéis de PEG, PLA-PEG-PLA e PLA-PEG-PLA com 1% de gelatina.

Os valores para os módulos de elasticidade, tensão máxima na ruptura e deformação máxima dos hidrogéis obtidos através da análise de compressão, apresentados na Tabela 1, corroboram o comportamento observado nas curvas de tensão x deformação, ou seja, para as amostras de PEG o módulo de elasticidade é maior, indicando um material com maior resistência à deformação, enquanto que o copolímero PLA-

PEG-PLA apresenta um módulo de elasticidade cerca de 60 % menor. Para o hidrogel do copolímero contendo gelatina, houve uma expressiva diminuição do módulo, o qual pode ter sido ocasionado tanto pela degradação das cadeias do PLA em função da presença de ácido acético, quanto pela incompleta reticulação das cadeias do copolímero pela presença da gelatina. Entretanto, o hidrogel contendo gelatina apresentou uma maior capacidade de deformação quando comparado com os hidrogéis de PEG e do copolímero PLA-PEG-PLA.

Tabela 1. Dados de módulo de elasticidade, tensão máxima na ruptura e deformação máxima dos hidrogéis para o PEG, PLA-PEG-PLA e PLA-PEG-PLA com gelatina (Cop-gel).

Amostra	Módulo de elasticidade (kPa)	Tensão máxima (kPa)	Deformação (%)
PEG	54,5	114	40,3
PLA-PEG-PLA	36,5	20	47,6
Cop-gel	3	13	66,1

A partir dos resultados obtidos pela análise de compressão é possível determinar uma possível aplicação para o material. O valor obtido de módulo de elasticidade para o copolímero contendo 1% de gelatina (3 kPa) está dentro da faixa de módulo de elasticidade do núcleo pulposo, que é de 5.39 ± 2.56 kPa.¹⁰ O núcleo pulposo faz parte do disco intervertebral, ele é um gel que pode ser deformado sob pressão, sem redução em seu volume. Esta característica permite que ele se acomode ao movimento e transmita a carga compressiva de uma vértebra para outra.

Conclusões:

Neste trabalho mostrou-se que foi possível preparar copolímeros PLA-PEG-PLA através da polimerização por abertura de anel do lactídeo usando PEG como macroiniciador. A funcionalização destes copolímeros com anidrido metacrílico, foi realizada com sucesso gerando copolímeros precursores para obtenção de hidrogéis do copolímero PLA-PEG-PLA via polimerização fotoquímica. Hidrogéis preparados com PLA-PEG-PLA mostraram grau de intumescimento muito semelhante, porém um pouco maior, do que os preparados com PEG, e apresentaram módulo de elasticidade inferior aos hidrogéis de PEG, mas com uma capacidade de deformação semelhante. Hidrogéis preparados na presença de gelatina apresentaram menor módulo de elasticidade, porém maior capacidade de deformação e mostram

características adequadas para aplicação como possível substituto para o núcleo pulposo.

Referências bibliográficas

1. S. M. Li; A. El Ghzaoui; E. Dewinck *Macromolecular Symposia*, 2005, 222, 23.
2. O. Wichterle; D. Lim *Nature*, 1960, 185, 117.
3. J. Zhu *Biomaterials*, 2010, 31, 4639.
4. J. L. Drury; D. J. Mooney *Biomaterials*, 2003, 24, 4337.
5. X. Wu; A. El Ghzaoui; S. Li *Journal of Colloid and Interface Science*, 2012, 374, 127.
6. Q. Wang, et al. *Journal of Macromolecular Science Part a-Pure and Applied Chemistry*, 2013, 50, 200.
7. S. Lin-Gibson, et al. *Biomacromolecules*, 2004, 5, 1280.
8. S. J. Bryant; K. S. Anseth, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2003, 64A, 70.
9. J. Q. Hao; H. Li; H. G. Woo *Journal of Applied Polymer Science*, 2009, 112, 2976.
10. S. B. G. Blanquer; D. W. Grijpma; A. A. Poot *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2015, 84, 172.