

HIDROGELES SUPRAMOLECULARES TERMO-REVERSIBLES BASADOS EN ALCOHOL POLIVINÍLICO Y COMPUESTOS FENÓLICOS

Autores: Eliana Huanca¹, Sofía Cabrera¹

Tutores: Aldana A. Chesta², Rubén Baccifava², Matías L. Picchio^{2,3}

¹ UTN FRVM, estudiante Ing. Química, Av. Universidad 450, Villa María, Córdoba, Argentina.

² GIDAIQ, UTN FRVM, Av. Universidad 450, Villa María, Córdoba, Argentina.

³ IPQA, UNC-CONICET. Haya de la Torre y Medina Allende, Córdoba, Córdoba, Argentina.

E-mail: eliana_huanca@hotmail.com

Resumen

Los hidrogeles supramoleculares tienen aplicaciones prometedoras en una amplia variedad de campos, entre ellos, bioimpresión 3D, biomedicina e industria farmacéutica. Los enlaces múltiples de hidrógeno son interacciones no covalentes reversibles ideales para preparar redes supramoleculares de alta resistencia y excelente reversibilidad. Se utiliza como matriz alcohol polivinílico (PVA) para preparar hidrogeles y se introducen múltiples interacciones de enlaces de hidrógeno con compuestos fenólicos (CF). La estructura y tipo de grupo funcional del CF permite preparar hidrogeles con propiedades viscoelásticas a medida, baja temperatura de transición de fase e hinchamiento dependiente del pH.

El objetivo fue diseñar redes supramoleculares termorreversibles. Se exploraron CF con baja densidad funcional para el autoensamblaje de PVA. Se sintetizaron y caracterizaron cuatro hidrogeles que se autoensamblaron mediante interacciones de enlace de hidrógeno entre PVA y ácido gálico, galato de metilo, ácido pirogálico y pirocatecol (reticulantes físicos). Los hidrogeles obtenidos fueron caracterizados, luego se estudió morfología, comportamiento térmico, reológico y dependencia con pH. Se demostró que las moléculas fenólicas pequeñas pueden unirse a las cadenas de PVA a través de puente hidrógeno, formando hidrogeles supramoleculares termo reversibles de bajo costo con alta resistencia, sensibles al pH y con propiedades que resultan prometedoras para diversas aplicaciones.

Palabras clave: Hidrogeles supramoleculares, alcohol polivinílico, compuestos fenólicos, biomedicina.

Introducción

Los hidrogeles supramoleculares tienen aplicaciones prometedoras en una amplia variedad de campos, entre ellos, bioimpresión 3D, sensores y actuadores, biomedicina e industria farmacéutica. debido a sus características especiales, como la autocuración, la memoria de formas y las propiedades sensibles a los estímulos, entre otros (Mann y Yu, 2018; Yan *et al.*, 2012; Campanella *et al.*, 2018; Ciferri, 2002; Wang y Heilshorn, 2015; Yasin *et al.*, 2015; Dong *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2017). Los enlaces múltiples de hidrógeno son interacciones no covalentes reversibles ideales para preparar redes supramoleculares que combinan alta resistencia y excelente reversibilidad (Takasawa *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2018; Yue, 2017; Fink y Zha, 2018; Lin *et al.*, 2014; Dai *et al.*, 2015; Mendez *et al.*, 2018).

Los primeros hidrogeles supramoleculares de alcohol polivinílico (PVA) conocidos fueron preparados mediante el método de congelación y descongelación (Hassan y Peppas, 2000). Tal estrategia requiere mucho tiempo y los materiales obtenidos carecen de reversibilidad térmica, lo que limita su aplicación en muchos campos. Por tal motivo, se deben explorar nuevas formas de introducir múltiples interacciones de enlaces de hidrógeno en la matriz de PVA para el desarrollo de sistemas a medida (Meng *et al.*, 2015; Mu y Wan, 2016). En tal sentido, los compuestos fenólicos (CF) tienen un gran potencial debido a su capacidad para formar interacciones hidrófobas, de enlaces de hidrógeno y de reforzamiento. De hecho, el ácido tánico (AT), polifenol de origen natural, se ha utilizado como reticulador físico en la formación de redes supramoleculares (Erel-Unal y

Sukhishvili, 2008; Kozlovskaya *et al.*, 2010; Wang y Sukhishvili, 2017; Kozlovskaya *et al.*, 2015). En 2008 Erel-Unal y Sukhishvili reportaron la síntesis de películas supramoleculares sensibles al pH basadas en polímeros neutros e interacciones AT. Fan *et al.* prepararon un hidrogel supramolecular a partir de AT y polímeros solubles en agua y en presencia de iones Fe (III). En 2018 López y Pich diseñaron geles sensibles a estímulos reticulados por AT. No hubo informes del uso de CF en el diseño de materiales de PVA hasta 2016 por Chen *et al.*

El PVA y los CF forman una solución clara cuando se mezclan en agua a alta temperatura, pero se produce una rápida gelificación a temperatura ambiente por las fuertes interacciones múltiples de uniones de hidrógeno. Se espera que la estructura y el tipo de grupos funcionales de diferentes moléculas fenólicas permita preparar hidrogeles con propiedades viscoelásticas a medida, baja temperatura de transición de fase y comportamiento de hinchamiento dependiente del pH. Todos estos factores combinados hacen que estas redes supramoleculares termosensibles que pueden formarse de manera reversible ofrezcan versatilidad única para varias aplicaciones en el campo biomédico (Wang y Weiss, 2018; Zheng *et al.*, 2018).

En base a los reportes anteriormente mencionados se sintetizaron y caracterizaron diferentes hidrogeles supramoleculares basados en un polímero soluble en agua y varios CF con baja densidad funcional para ayudar al autoensamblaje. Estos materiales se autoensamblaron mediante interacciones de enlace de hidrógeno entre un PVA de alto peso molecular y cuatro derivados de las plantas, como ácido gálico, galato de metilo, ácido pirogálico y pirocatecol, como nuevos reticulantes físicos. Estas sustancias demostraron propiedades notables como antioxidantes, antibacterianos, antimutagénicos y antitumorales (Karker *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2011). Se investigó la morfología, comportamiento térmico, reológico y dependencia con pH de los hidrogeles obtenidos ya caracterizados.

Materiales

Se utilizó alcohol polivinílico (PVA, Merck, grado de hidrólisis: $\geq 98.0\%$), ácido gálico (GA, Merck, $\geq 99.0\%$), galato de metilo, (MG, Sigma-Aldrich, 98.0%), ácido pirogálico (PGA, Carlo Erba, ACS reagent) y pirocatecol (PCT, Sigma-Aldrich, $\geq 99.0\%$) y agua deionizada.

Métodos

Síntesis de hidrogeles moleculares de PVA/CF

Se agregaron simultáneamente en un erlenmeyer el PVA y cada CF bajo agitación vigorosa con agua a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se utilizó en todos los casos una relación molar de grupos funcionales CF/hidroxilo de PVA de 0,5 y una concentración de PVA de 10% p/p. La mezcla se mantuvo 60 min a esta temperatura. Luego se vertió en un molde de silicona (4 cm x 4 cm) y se dejó gelificar a temperatura ambiente.

Caracterización de los hidrogeles

Los espectros de los hidrogeles fueron registrados en un microscopio infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) en rango de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. Se realizaron 30 exploraciones con resolución de 4 cm^{-1} .

Estudio de la morfología de los hidrogeles mediante técnicas de microscopía

La morfología interna de los films hinchados se examinó con microscopio electrónico de barrido (SEM, Zeiss Sigma). Los hidrogeles se hincharon en agua por 24 horas, se congelaron en nitrógeno líquido y rápidamente liofilizados. Las muestras secas pasaron por una máquina de recubrimiento por pulverización catódica y se observaron bajo un voltaje de 2.0 kV .

Análisis reológico

Los estudios reológicos se realizaron en un reómetro Anton Paar Physica MCR 301. La temperatura de transición gel-sol de los materiales supramoleculares se investigó mediante análisis térmico dinámico mecánico (DMTA) utilizando geometría de placa paralela (25 mm de diámetro). La temperatura se incrementó de 20 a 90 °C con una velocidad de 2 °C/min. Los experimentos se realizarán a 1 Hz y 0,1% de deformación. Las muestras se hincharon en agua durante 24 hs y se cortaron discos de 8 mm para analizar propiedades viscoelásticas. La frecuencia se varió de 0,1 a 100 rad/s con una deformación de 0,5% a 20 °C.

Estudio térmico

El análisis de calorimetría diferencial de barrido se realizó utilizando ciclos de calor/frío/calor con una velocidad de 10 °C/min de -25 a 180 °C empleando un DSC Q2000 con sistema de enfriamiento RSC90 (TA instruments). Se pesaron muestras de 8-10 mg y colocaron en un recipiente hermético de aluminio (TZero Technology). La temperatura de transición vítrea (T_g) se determinó utilizando el software TA Universal Analysis. La estabilidad térmica se estudió por análisis termogravimétrico (TGA) en una termobalanza TGA Q500 (TA Instruments). Las muestras (3 mg) se calentaron de 25 a 600 °C con una velocidad de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno (100 mL/min).

Comportamiento dependiente del pH

Para estudiar la respuesta de hinchamiento de los hidrogeles a los cambios de pH, se sumergieron discos secos de 8 mm de diámetro en vasos de precipitado con 50 ml de buffer pH 1,2, 6, 8 y 10 a 25 °C. Los discos se hincharon durante 24 hs en cada medio, se extrajeron, se secaron superficialmente con tissue, se pesaron y luego se devolvieron al contenedor con buffer. Este procedimiento se repitió hasta peso constante. Luego, se determinó el grado de hinchamiento en el equilibrio (DSe) de acuerdo a: $DSe = (W_s - W_d) / W_d \times 100$ donde W_s : peso muestra hinchada; W_d : peso muestra seca.

Resultados y discusión

Fueron preparados cuatro hidrogeles supramoleculares al inducir la formación de múltiples enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del PVA y los grupos funcionales de los CF. En la Figura 1 a. se ilustra la formación del hidrogel de GA. Se observó una rápida gelificación por simple enfriamiento de la solución caliente de PVA/CF hasta temperatura ambiente, obteniendo redes supramoleculares con propiedades viscoelásticas y de transición de fase a medida. Los productos obtenidos varían desde sólidos blandos blancos a marrones. Fueron caracterizados por espectroscopía FTIR. Se muestra en la Figura 1 b. el espectro de PVA y de PVA/GA. El espectro infrarrojo de los hidrogeles supramoleculares reveló el desplazamiento de las bandas de PVA asociadas a estiramiento C–OH (1095 a 1091 cm^{-1}) y deformación en el plano –OH (1424 a 1449 cm^{-1}). Este desplazamiento se considera prueba directa de las interacciones de enlace hidrógeno entre PVA y GA. Resultados similares se observan para los hidrogeles de MG, PGA y PCT. (Figura 2).

Se midió el comportamiento reológico vs la temperatura para evaluar la transición gel-sol de los materiales. En la Figura 3 se observa la red viscoelástica caracterizada por módulo elástico (G') > módulo viscoso (G'') a baja temperatura. Al incrementar la temperatura existe una transición desde una red elástica, a un líquido viscoelástico, $G'' > G'$. La temperatura de transición de la red a estado líquido, $T_{gel-sol}$, se define como la temperatura a la que $G' = G''$. Los valores de $T_{gel-sol}$ resultaron 69,5 °C, 54,0°C, 61,3 °C y 51,0 °C para PVA/GA, MG, PGA y PCT respectivamente. Se observa un claro efecto en la $T_{gel-sol}$ de la estructura química del CF utilizado. Esto se incrementó en el orden PVA/GA > PGA > MG > PCT, en un rango 50 a 70 °C. El valor más alto de PVA/GA, respecto a PVA/PCT puede deberse al grupo fenol y ácido carboxílico adicional que produce una cantidad mayor de interacciones de enlace hidrógeno. La sustitución del grupo de ácido carboxílico por un

grupo metilo hidrofóbico en MG afectó considerablemente las características de la red, en consecuencia, Tgel-sol se reduce a 54 °C. En general se observó que cuanto mayor es Tgel-sol de la red, mayor es su G' a baja temperatura, excepto en el caso de PVA/PCT. Por lo tanto, se demuestra que el módulo dinámico de la red supramolecular de PVA puede ser controlada a diferentes temperaturas cambiando la naturaleza del CF.

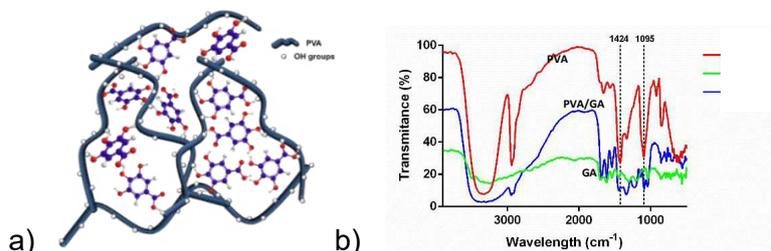


Fig. 1. (a) Esquema de formación del hidrogel por interacciones de múltiples enlaces de hidrógeno de PVA y GA. (b) Espectro FTIR de PVA, GA y de hidrogel de PVA/GA.

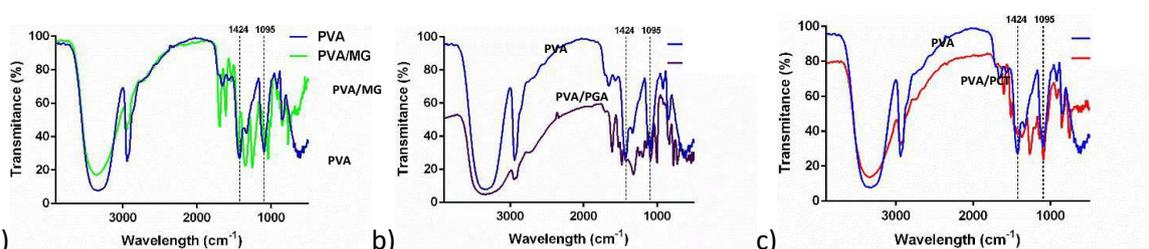


Fig. 2. Espectro FTIR de redes supramoleculares basadas en PVA y GM (a), PGA (b) y PCT (c).

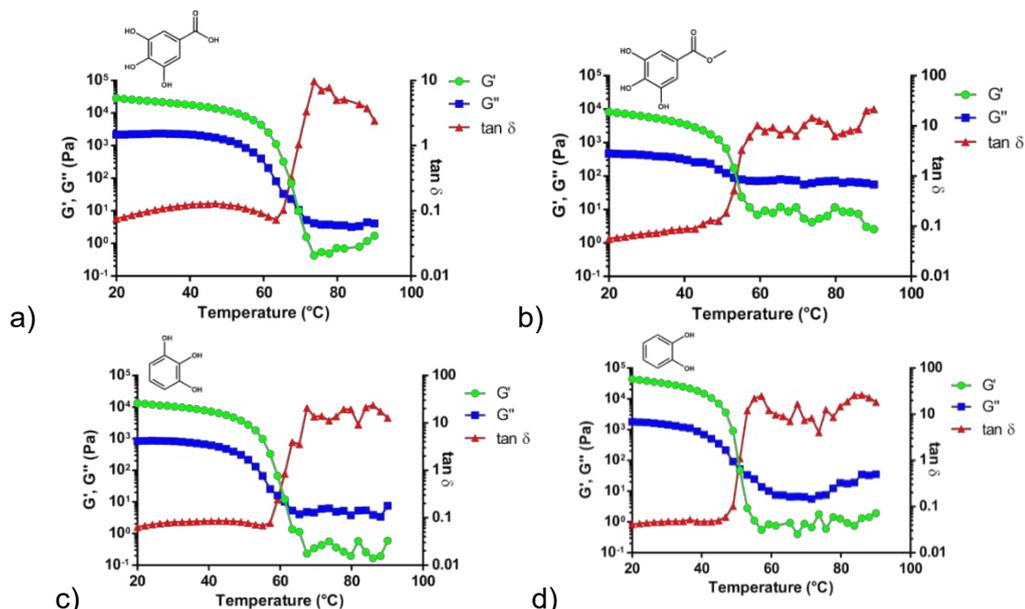


Fig. 3. Dependencia con la temperatura del módulo elástico (G'), módulo viscoso (G'') y factor de amortiguamiento ($\tan \delta$) para los hidrogeles de GA (a), MG (b), PGA (c), y PCT (d).

Respecto a las propiedades térmicas de las redes sintetizadas, los resultados del análisis termogravimétrico se muestran en la Figura 4. Se observa el perfil de degradación y una buena estabilidad térmica de todas las muestras. Para el caso de la red basada en MG la degradación térmica comienza a 53 °C y alrededor de 130 °C para los otros CF, lo que podría atribuirse a la eliminación de agua absorbida. El valor de la temperatura a la cual la muestra ha perdido el 50% del peso (Tdec) varió desde 292.8 a 326.5 °C y se incrementa PVA/MG > PGA > PCT > GA.

Además, la calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó sobre los materiales totalmente secos a temperatura ambiente (Figura 5 a). Mientras el PVA puro utilizado presentó una temperatura de transición vítrea (T_g) cercana a 20°C (Figura 5 b y c); las fuertes interacciones entre los CF y la matriz del polímero limitan la movilidad, se incrementa notablemente T_g alrededor de 47°C . La estructura química de los CF no afecta tal transición de fase, fue similares para todas las muestras (Figura 5).

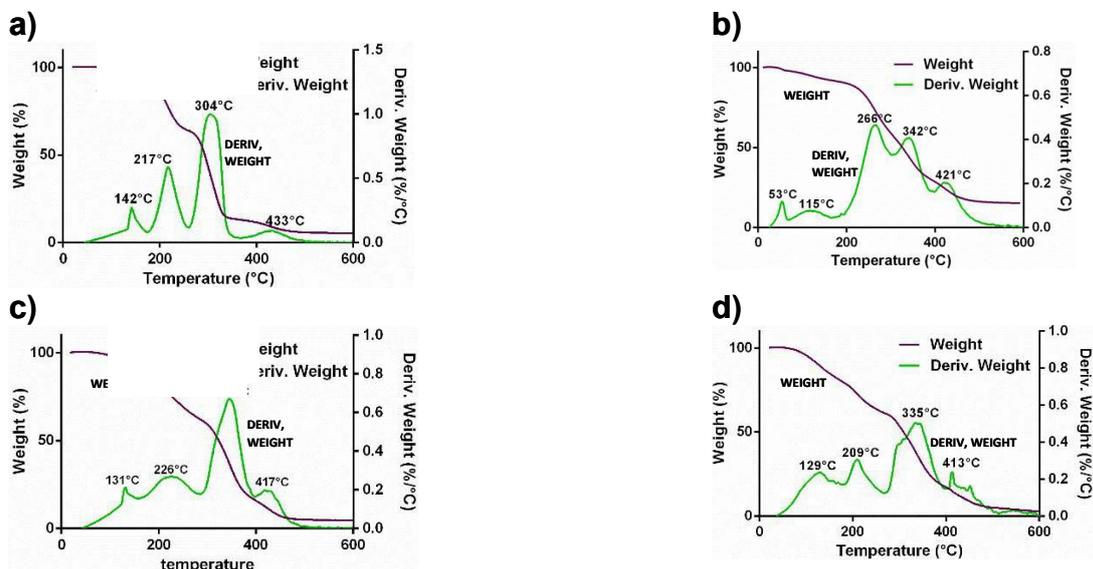


Fig. 4. Análisis termogravimétrico de los geles supramoleculares basados en PVA y ácido gálico (a), galato de metilo (b), ácido pirogálico (c) y pirocatecol (d).

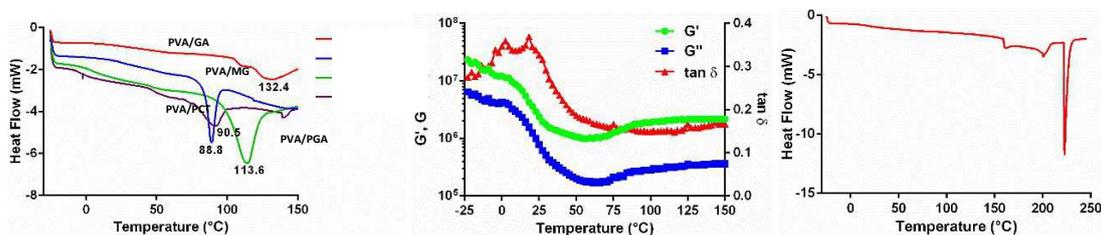


Fig. 5 a) DSC scan de geles basados en PVA y CF b) Análisis DMTA y DSC scan (c) de PVA puro.

Todos los sistemas muestran estructuras isotrópicas (Figura 6) que sugieren fuertes interacciones intermoleculares entre PVA y los CF, Además, los CF explorados alteran notablemente la microestructura del polímero, en comparación con el hidrogel de PVA puro que presenta una morfología suave y compacta (Figura 6 e). La estructura química de los CF es clave en la morfología del hidrogel, el cual varía de tipo globular a fibra. Las redes supramoleculares mostraron comportamiento de hinchamiento sensible al pH como consecuencia de la ionización de los grupos funcionales de los CF (Figura 7). A pH ácido, PVA/GA presentó la menor capacidad de hinchamiento. A pH 6,8 produjo un notable aumento en el hinchamiento de la red. Disminuyó la capacidad de hinchamiento de las otras redes a pH 6.8. Los hidrogeles se disgregaron parcialmente a pH 12 y la pérdida de peso a ese pH resultó 52, 51, 50, y 59% para PVA/GA, PVA/MG, PVA/PGA and PVA/PCT, respectivamente.

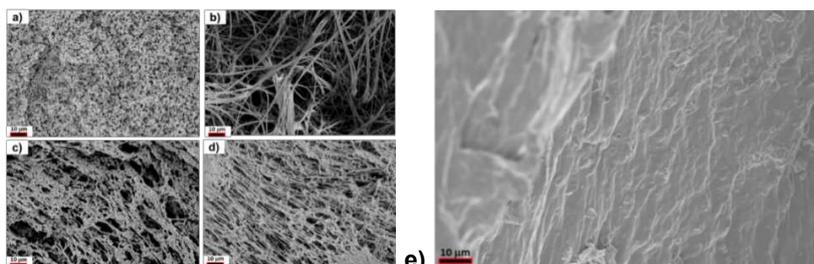


Fig. 6. Estructura interna de redes liofilizadas de GA (a), MG (b), PGA (c), PCT (d) y PVA puro (e).

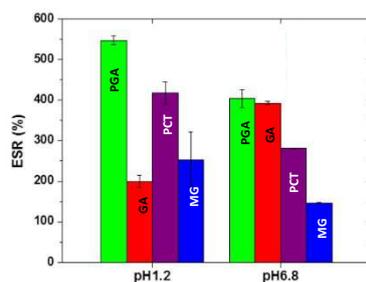


Fig. 7. Grado de hinchamiento en función de pH para los hidrogeles supramoleculares.

Conclusiones

Los cuatro hidrogeles supramoleculares sintetizados y caracterizados se autoensamblaron mediante interacciones de enlace de hidrógeno entre PVA de alto peso molecular y sustancias derivadas de las plantas, con propiedades antioxidantes, antibacterianas y antitumorales, como ácido gálico, galato de metilo, ácido pirogálico y pirocatecol, como nuevos reticulantes físicos. Tienen gran potencial como cicatrizantes de heridas en la piel, aplicaciones en ingeniería de tejidos. Todas las muestras presentaron un comportamiento elástico a bajas temperaturas con valores de módulo elástico que varían entre 8,3 a 43,3 kPa.

El análisis por DSC mostró que las redes supramoleculares se reordenan al secarse dando lugar a nuevos dominios semicristalinos que afectan la estructura de la red y las propiedades viscoelásticas. La estructura química de los CF afecta de manera importante la morfología interna de los materiales supramoleculares, el cual varía de microestructura globular a fibra o tipo hebra.

Referencias

- Campanella A., Döhler D., Binder W. H., *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, 39, 1.
- Ciferri A., *Macromol. Rapid Commun.* **2002**, doi:10.1002/1521-3927(20020601)23:9<511.
- Chen Y. N., et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, doi:10.1021/acsami.6b08374.
- Dai X., et al., *Adv. Mater.* **2015**, doi:10.1002/adma.201500534.
- Dong R., Pang Y., Su Y., Zhu X., *Biomater. Sci.* **2015**, 3, 937.
- Erel-Unal I., Sukhishvili S. A., *Macromolecules* **2008**, doi:10.1021/ma800186q.
- Fan H., et al., *Macromolecules* **2017**, doi:10.1021/acs.macromol.6b02106.
- Fink T. D., Zha R. H., *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, 39, 1.
- Karker M., et al., *EXCLI J.* **2016**, doi:10.17179/excli2016-187.
- Kozlovskaya V., Kharlampieva E., Drachuk I., Cheng D., Tsukruk V. V., *Soft Matter* **2010**, doi:10.1039/b927369g.
- Kozlovskaya V., et al., *Adv. Healthc. Mater.* **2015**, doi:10.1002/adhm.201400657.
- Hassan C. M., Peppas N. A., *Macromolecules* **2000**, 33, 2472.
- Huang Z., et al., *Macromol. Rapid Commun.* **2017**, doi:10.1002/marc.201700312.
- Lin J. Y., et al., *Macromol. Rapid Commun.* **2014**, doi:10.1002/marc.201300831.
- Liu L., Yan S., Zhang L., *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, doi:10.1002/marc.201800349.
- López C. M., Pich A., *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, doi:10.1002/marc.201700808.
- Mann J. L., Yu A. C., Appel E. A., **2018**, 10, doi:10.1039/c7bm00780a.
- Mendez I. J. L., Wang H.-B., Yuan Y.-X., Wisner J. A., *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, 39, 1700619.
- Meng H., et al., *Macromol. Rapid Commun.* **2015**, doi:10.1002/marc.201400648.
- Mu Y., Wan X., *Macromol. Rapid Commun.* **2016**, doi:10.1002/marc.201500723.
- Takasawa R., Murota K., Yoshikawa I., Araki K., *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, doi:10.1002/marc.200390052.
- Wang H., Heilshorn S. C., *Adv. Mater.* **2015**, doi:10.1002/adma.201501558.
- Wang Y., Sukhishvili S. A., *Macromol. Rapid Commun.* **2017**, doi:10.1002/marc.201700242.
- Wang F., Weiss R. A., *Macromolecules* **2018**, doi:10.1021/acs.macromol.8b00490.
- Yan X., Wang F., Zheng B., Huang F., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 6042.
- Yasin A., et al., *Macromol. Rapid Commun.* **2015**, doi:10.1002/marc.201400698.
- Yue Y., *Macromol. Rapid Commun.* **2017**, doi:10.1002/marc.201600762.
- Zhang L., et al., *J. Agric. Food Chem.* **2011**, doi:10.1021/jf203146e.
- Zheng Y., et al., *Macromol. Rapid Commun.* **2018**, 39, 1800282.