

Estudio de Degradación Hidrolítica en Función de la Relación en Masa del Composito Ácido Poliláctico (PLA)-Nanotubos de Carbono Multipared (MWCNT)

C. Chapa^{1*} y J. Díaz¹

¹ Instituto de Ingeniería y Tecnología. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

* christian.chapa@uacj.mx

Resumen

Los problemas derivados de la composición de los stents empleados en intervenciones cardiovasculares como reestenosis, inflamación crónica y trombosis, demanda la búsqueda de nuevos materiales que cumplan con propiedades mecánicas adecuadas y biocompatibilidad. Por ello, en el presente estudio se sintetizó el material compuesto de ácido poliláctico con adición de nanotubos de carbono de pared múltiple (PLA-MWCNT) al 0.1%, 0.5%, 1% y 5% con el propósito de perfilar a este material como un candidato para elaboración de stents de nueva generación y evaluar la degradación hidrolítica a temperatura fisiológica (37 °C) en función de la relación en masa de este. Para ello, se colocaron pastillas de los compositos en un buffer salino de fosfato (PBS 1X) con pH 7.4 y se determinó la degradación determinando la variación de masa en función del tiempo. Los compositos se caracterizaron antes y después de ser sometidos al experimento de hidrólisis, mediante análisis de morfología en microscopio electrónico de barrido (SEM), análisis de estabilidad térmica con estudios termogravimétricos (TGA-DSC) y estudio de bandas de grupos funcionales con Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). Los materiales de PLA-MWCNT con mayor concentración de NTC (5%) presentó una degradación más lenta, mientras que la pastilla únicamente conformada de PLA fue aquella que presentó una mayor rapidez en su degradación.

Palabras clave: Ácido poliláctico, Biomateriales, Degradación hidrolítica, Nanotubos de carbono

1. Introducción

La enfermedad arterial coronaria sigue siendo la principal causa de muerte en el mundo. La angioplastia coronaria y la colocación de stents ha sido la opción más utilizada como intervención en los últimos años. Sin embargo, siguen existiendo problemas derivados de la composición del stent. El surgimiento de los stents biorreabsorbibles anuncia un cambio en el paradigma del tratamiento y ofrece mejoras significativas en el resultado del paciente. Los stents son dispositivos desarrollados con el propósito de tratar la obstrucción de ciertos conductos anatómicos, como venas y arterias. La clasificación de este tipo de dispositivos médicos se agrupa en 3 tipos, los cuales son stents metálicos, stents liberadores de fármacos o farmacoactivos y stents bioabsorbibles [1].

El tratamiento de obstrucción de conductos comenzó en 1977 con la primera angioplastia con balón [2], la cual presentó complicaciones graves. Sin embargo, los esfuerzos por mejorar estos dispositivos médicos lograron que los stents se convirtieran en un componente primordial del procedimiento estándar para tratar este tipo de patologías. A partir de 1986 con el primer implante de stent metálico [3], que, aunque los metales fueron útiles por su resistencia a fuerzas mecánicas constrictivas, presentaron complicaciones como fallas tardías que causaron reestenosis, aumentos en las lesiones y el cierre temprano de los conductos por trombosis en el stent.

Las complicaciones anteriores llevaron al desarrollo de stents farmacoactivos de segunda generación, que consisten en stents metálicos con recubrimientos para la liberación de fármacos. Estos demostraron mejorar las propiedades de los stents al mostrar un menor nivel de cierre de los conductos y menor trombosis en comparación con los primeros stents. Sin embargo, los estudios patológicos demostraron casos de trombosis en menor nivel [4]. En la actualidad existe la propuesta de stents biodegradables o bioabsorbibles, los cuales pueden ser absorbidos por el cuerpo humano una vez que se completa la remodelación del conducto. Este tipo de stents fueron propuestos por su potencial para disminuir los riesgos de efectos secundarios a largo plazo, tales como la trombosis tardía y reestenosis [5]. Sin embargo, los polímeros biodegradables presentan una resistencia y rigidez más bajas que los metales [6]. Por esta razón, las propiedades mecánicas de los stents biodegradables son un tema que causa preocupación.

Durante los últimos años se ha investigado sobre la factibilidad del uso de polímeros biodegradables para el desarrollo de stents. En la actualidad, los poliésteres son los polímeros sintéticos biodegradables que tienen mayor aplicación en el campo médico, debido a que son degradados hidrolíticamente y metabolizados por el organismo [7]. Entre los poliésteres más utilizados para el desarrollo de estos dispositivos, se encuentra el ácido poliláctico (PLA), debido a su alta biocompatibilidad, capacidad de degradación y a que cuenta con el atractivo teórico de que al degradarse puede permitir la restauración de las funciones de la pared vascular, sin embargo, se conoce que sus características mecánicas podrían representar limitaciones para su utilización [8]. El PLA de alto peso molecular es un material fuerte y rígido, que puede variar sus propiedades dependiendo el método de su síntesis y procesamiento [6], además, se ha informado que los *stents* desarrollados con este material reducen los problemas presentados con otro tipo de *stents* [9]. Sin embargo, los *stents* desarrollados con PLA y PGA pueden colapsar o sufrir deformaciones cuando se someten a fuerzas de cargas mecánicas [10].

Por otro lado, los nanotubos de carbono (CNT) han surgido como un material para formar compositos con polímeros para otorgar propiedades con resistencia mecánica mejorada. Además, se conoce que los compuestos de un polímero biocompatible reforzado con estos nanotubos pueden ser utilizados como material de implante de nueva generación [11]. Los nanotubos de carbono cuentan con un módulo de Young que varía entre 1-1.8 TPa, también con una resistencia a la tracción de hasta 63 GPa, excelentes conductividades térmicas y eléctricas [12], [13]. Además, cuentan una gran área de superficie a una relación de masa y una alta reactividad [14]. Además, se conoce que los MWCNT tienen una capacidad de permanecer estables durante periodos prolongados de tiempo incluso a altas temperaturas [15]. Los CNT son muy resistentes, debido a que la dureza del plano grafeno les confiere esa capacidad; son capaces de deformarse notablemente y de mantenerse en un régimen elástico, incluso frente a esfuerzos de deformación intensos [16]. Para que los nanotubos de carbono logren mejorar las propiedades mecánicas de los polímeros, son necesarias muy bajas concentraciones de estos en los nanocompositos en comparación con el uso de otros aditivos que tienen el mismo fin [17]. Además, esas pequeñas cantidades de CNT también mejoran la capacidad de conductividad térmica de los nanocompuestos [18]. Sin embargo, la toxicidad de los nanotubos de carbono es un tema bajo intenso debate [13], por esa razón, es necesario realizar pruebas de compatibilidad con entornos biológicos [19].

En este trabajo, presentamos los estudios de la degradación hidrolítica a temperatura fisiológica (37°C) en función del tiempo de incubación de compositos de ácido poliláctico (PLA) y nanotubos de carbono multipared (MWCNT) con relaciones en masa de MWCNT con el objetivo de determinar la influencia de la concentración de MWCNT en el proceso de degradación hidrolítica. Adicionalmente, realizamos análisis termogravimétrico para conocer la estabilidad térmica antes y después de la degradación hidrolítica.

2. Metodología

2.1 Síntesis de PLA-MWCNT

Los compositos de PLA-MWCNT se realizaron con concentraciones de 0.1%, 0.5%, 1% y 5% de MWCNT en relación de masa con PLA, empleando cloroformo para disolver PLA y suspender los MWCNT. Para la síntesis de los compositos, las muestras se colocaron en vasos de precipitados de 100 mL en agitación magnética constante por un periodo de entre 40 y 50 min (hasta que los pellets de PLA estuvieran completamente disueltos) a una temperatura ambiente. Para evitar la pérdida del solvente se cubrió la boquilla de los vasos de precipitado con papel aluminio.

Posteriormente, una vez disueltos los pellets de PLA y teniendo una mezcla homogénea entre el PLA y los MWCNT, las muestras se tuvieron en reposo a temperatura ambiente por un periodo de 48 h para la evaporación del cloroformo. Una vez evaporado el cloroformo, se despegaron las pastillas del composito se utilizó un perforador para obtener muestras, se registró la masa inicial. Después, se colocaron pastillas del composito PLA-MWCNT y de PLA (blanco) en microplacas de 24 pozos, seguido de esto, se añadió solución amortiguadora de fosfatos (PBS) con un pH de 7.4, en relación 10 mg/ml. Las microplacas se mantuvieron en agitación a una temperatura de 37 °C y se monitoreó la masa de las pastillas de los compositos cada 24 h. Para el proceso de monitoreo de masa de las pastillas, las muestras se secaron con papel, seguido de esto se pesaron en una balanza de laboratorio y se obtuvo un promedio de los resultados obtenidos diariamente durante 58 días cambiando la solución PBS cada 7 días.

2.2 Caracterización

Se observó la morfología de los materiales, en un Microscopio Electrónico de Barrido (SEM), antes de los experimentos de degradación hidrolítica y a los 28 d de degradación. Las muestras que fueron sometidas al proceso de hidrólisis, al concluir el experimento fueron extraídas de la solución amortiguadora para después ser secadas. Las muestras se montaron en el porta muestras adheridas con cinta de carbono y enseguida se obtuvieron micrografías a 1.0 kV. Mientras que el análisis termogravimétrico (TGA) y la calorimetría diferencial de barrido (DSC), se realizó en el equipo SDT Q600; se utilizó una temperatura inicial de 30°C y final de 500°C, con una tasa de 10 °C/min. Los resultados obtenidos se utilizó el software *Universal Analysis* de TA.

3. Resultados y Discusión

3.1 Degradación hidrolítica

Los resultados de la degradación hidrolítica de los materiales PLA y PLA-MWCNT se obtuvieron registrando la masa de cada muestra para calcular el porcentaje de pérdida de masa respecto al tiempo de incubación durante 58 días. Cuando un biopolímero está en contacto con un medio acuoso, se produce un fenómeno conocido como hidrólisis o degradación hidrolítica, el cual consiste en el rompimiento de las cadenas largas de los polímeros, causado por las moléculas de agua, lo que provoca una reducción en el peso molecular y finalmente conduce a la pérdida de masa de los polímeros sólidos. Se menciona que la degradación ocurre cuando la velocidad a la que el agua se difunde en el biopolímero es más lenta que la velocidad de conversión del biopolímero en materiales solubles en agua [10]. El proceso de degradación se puede dividir en dos etapas: la primera incluye las regiones amorfas de la matriz polimérica, que son las primeras en ser degradadas, y la segunda incluye las áreas cristalinas del biopolímero [20]. La velocidad de degradación de los biopolímeros es dependiente directamente del peso molecular, la tasa de cristalinidad, la morfología del cristal, así como la microestructura del

material sometido a hidrólisis [21]. En la Fig. 1 se presenta el porcentaje de pérdida de masa frente al tiempo de incubación de las muestras. Puede notarse que el porcentaje de degradación de los compositos fue mayor al inicio de la experimentación; en el período posterior, el PLA puro y los compositos presentaron una degradación lenta. En el caso del PLA puro, se presentó una mayor pérdida de masa respecto a los compositos de PLA-MWCNT durante todo el proceso de hidrólisis. En la Figura 1 se presenta el porcentaje de pérdida de masa frente al tiempo de incubación de las muestras. Puede notarse que el porcentaje de degradación de los compositos fue mayor al inicio de la experimentación; en el período posterior, el PLA puro y los compositos presentaron una degradación lenta. En el caso del PLA puro, se presentó una mayor pérdida de masa respecto a los compositos de PLA-MWCNT durante todo el proceso de hidrólisis.

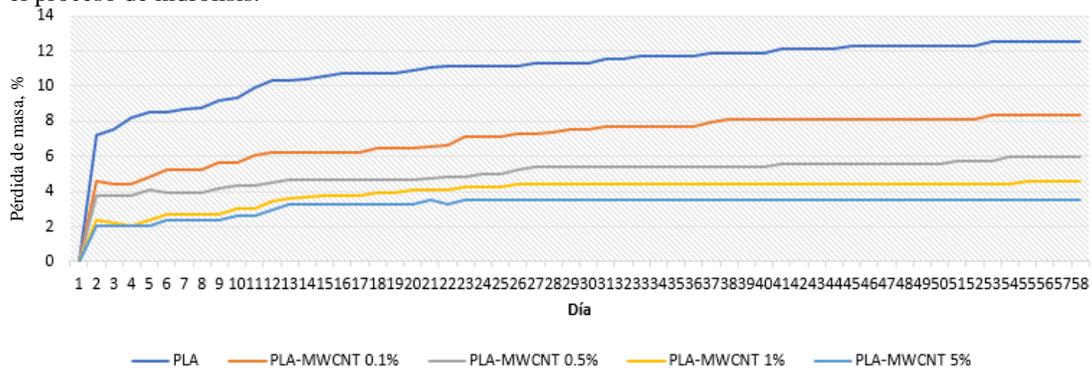


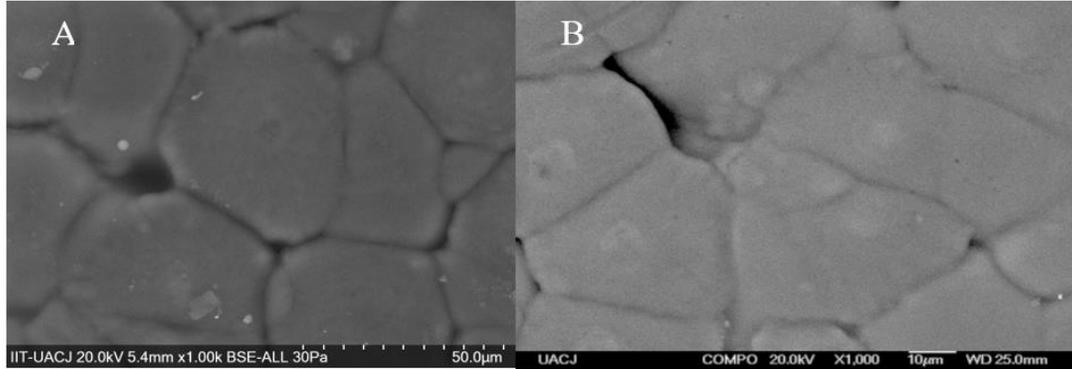
Fig. 1. Gráfico del porcentaje de pérdida de masa de los compositos de PLA-MWCNT y PLA frente al tiempo de incubación en PBS pH 7.4 a 37°C.

Los porcentajes de degradación presentados en las pastillas de PLA y los compositos presentaron variaciones dependientes del contenido de MWCNT, teniendo en el día 58 una pérdida de masa del 12.5% en la pastilla de PLA puro, un 8.34% en la pastilla con 0.1% de MWCNT, un 5.94% en la pastilla con 0.5%, un 4.59% en la pastilla con 1% de MWCNT y por último un 3.54% en la pastilla con 5.0% de MWCNT. Demostrando así que el período de degradación de los compositos de PLA-MWCNT puede llegar a ser mucho más largo que el del PLA puro, debido a la participación de los MWCNT, lo que indica que los CNT desempeñan un papel en el retraso de la degradación del PLA. Esto debido a que los CNT añadidos pueden aumentar el grado de cristalinidad, mejorar la resistencia mecánica del PLA [22], características que al aumentar ralentizan la degradación. Así mismo, se ha demostrado que los materiales con mayor grado de cristalinidad, luego de ser sometidos a procesos de degradación hidrolítica, retuvieron su ductilidad y la resistencia, y esto se atribuyó a que la orientación molecular de los materiales con mayor grado de cristalinidad reducían la capacidad del agua para difundirse en la matriz polimérica [23].

3.2 Morfología

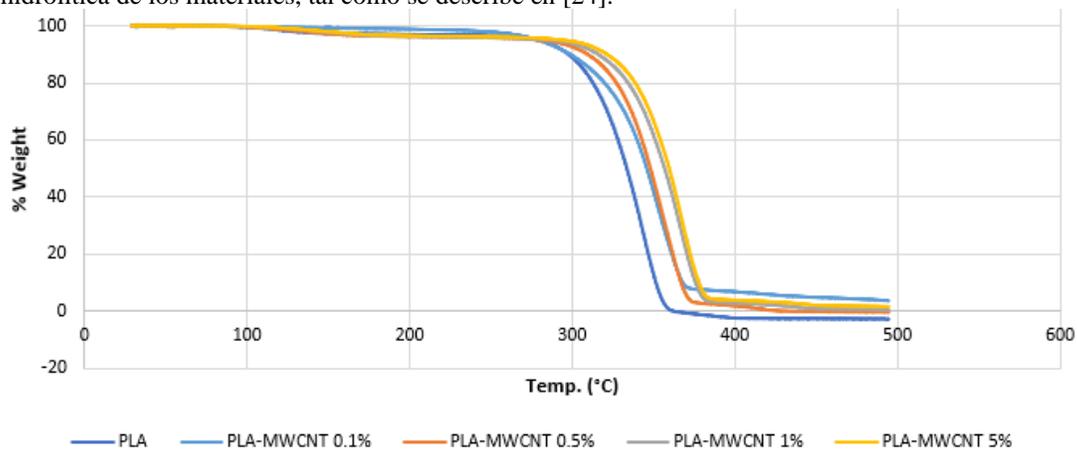
En la Fig. 2 se muestran las micrografías obtenidas con el SEM de la muestra al tiempo inicial y luego de que sometieron al proceso de degradación hidrolítica por 28 días (PLA-MWCNT 1%). Las figuras ilustran la estructura de la superficie de la muestra original (Figura 2A) en comparación con la muestra luego de 28 días sometida al proceso de hidrólisis (Figura 2B). Luego de dicho proceso, se presentan corrimientos y orificios en el caso de las muestras de PLA y PLA-MWCNT con menores cantidades de MWCNT (0.1%, 0.5% y 1%). Para las muestras con mayor contenido de MWCNT, material utilizado con el fin de mejorar la resistencia del polímero, lo cual implica un retardo en la degradación hidrolítica, casi no se observaron cambios propios de la degradación luego de 4 semanas de hidrólisis. Las imágenes SEM no revelaron cambios en la apariencia de las muestras de PLA-

MWCNT 5%. En cambio, se observó un cambio en la superficie de las muestras PLA-MWCNT 0.1%, 0.5% y 1% luego de las 4 semanas de hidrólisis, al presentar una mayor rugosidad. Por su parte, la muestra de PLA (blanco) mostró cambios en la superficie, así como la formación de poros.



3.3 Análisis termogravimétrico

Con el fin de investigar la estabilidad térmica presentada en los nanocompositos luego del proceso de degradación hidrolítica, se empleó TGA. La temperatura requerida para el inicio del proceso de la descomposición del material, antes de ser sometido al proceso de degradación hidrolítica aumentó a medida que la concentración de MWCNT en el material compuesto era mayor (Fig. 3). Además, se observó una disminución en las temperaturas T_{max} de todos los materiales analizados luego de ser sometidos al proceso de hidrólisis. En los TGA de todas las muestras analizadas, antes y después de ser sometidas a degradación hidrolítica solo se observó un paso de degradación. El PLA (blanco) presentó un paso de descomposición notoriamente menor luego de ser sometido 28 días al proceso de hidrólisis, siendo dicha reducción de 14.72°C. Así mismo, los materiales compositos presentaron una reducción en el paso de descomposición. Dichos desplazamientos en las temperaturas de descomposición se atribuyen al agua absorbida por el polímero, lo que indica que se llevó a cabo el proceso de degradación hidrolítica de los materiales, tal como se describe en [24].



4. Conclusiones

Se logró sintetizar nanocompuestos de ácido poliláctico y nanotubos de carbono multipared al 0.1%, 0.5%, 1% y 5% por medio de la técnica de vaciado en placa. Se encontró por medio de un experimento de hidrólisis durante 58 días que los compositos mostraron una mayor pérdida de masa respecto a la masa inicial durante los primeros 12 días de experimentación, así mismo, que los compositos con mayor cantidad de MWCNT presentaron una degradación menor en comparación con los que contaban con menores cantidades. De acuerdo con la caracterización por SEM, se encontró que la morfología del PLA sin dopar mostró diferencias a los compositos con MWCNT añadido, presentando una morfología de acomodo semi hexagonal en el caso del PLA y esférica en los compositos. La caracterización por SEM luego de que el material estuviera sometido a experimentos de degradación hidrolítica, mostró la presencia de erosión en las pastillas con menor cantidad de MWCNT. Se comprobó con el TGA que se presentó degradación en los materiales luego del experimento de hidrólisis, debido a las leves variaciones presentadas en las características térmicas de las pastillas luego de ser sometidas a la degradación. La adición de MWCNT en una matriz de PLA modificó sus propiedades morfológicas y térmicas. Los stents biodegradables o stents de tercera generación, surgen como una propuesta para evitar las desventajas a largo plazo de los stents metálicos. El diseño de los stents de nueva generación busca que su degradación ocurra de forma controlada y que los productos de la descomposición de los materiales con los que son fabricados sean biocompatibles. Es necesario continuar con estudios para evaluar otras propiedades relacionadas con la propuesta de aplicación en la elaboración de stents, entre ellas la biocompatibilidad y las propiedades mecánicas

Declaración de conflictos de interés

"Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés para este trabajo"

Agradecimientos

Los autores agradecen a los integrantes del grupo de investigación Nanomedicina-UACJ por la retroalimentación recibida durante todas las fases de desarrollo de este proyecto.

Referencias

- [1] B. Tomberli, A. Mattesini, G. I. Baldereschi, and C. Di Mario, "A Brief History of Coronary Artery Stents," *Rev. Esp. Cardiol.*, vol. 71, no. 5, pp. 312–319, 2018.
- [2] E. Langi *et al.*, "Characterisation of Additively Manufactured Metallic Stents," *Procedia Struct. Integr.*, vol. 15, pp. 41–45, 2019.
- [3] R. A. Byrne, M. Joner, and A. Kastrati, "Stent thrombosis and restenosis: What have we learned and where are we going? the Andreas Grüntzig Lecture ESC 2014," *Eur. Heart J.*, vol. 36, no. 47, pp. 3320–3331, 2015.
- [4] R. Kawakami *et al.*, "Initial pathological responses of second-generation everolimus-eluting stents implantation in Japanese coronary arteries: Comparison with first-generation sirolimus-eluting stents," *J. Cardiol.*, vol. 71, no. 5, pp. 452–457, 2018.
- [5] K. Peng and A. Qiao, "Structure Design and Mechanical Analysis of a Novel Biodegradable Zinc Alloy Stent," *Yiyong Shengwu Lixue/Journal Med. Biomech.*, vol. 34, no. 2, pp. 160–165,

- 2019.
- [6] R. G. Pauck and B. D. Reddy, "Computational analysis of the radial mechanical performance of PLLA coronary artery stents," *Med. Eng. Phys.*, vol. 37, no. 1, pp. 7–12, 2015.
- [7] G. Martínez García, N. Sánchez Torres, and A. Suárez Navarro, "Stents biodegradables en cardiología," *Rev. Cuba. Med. Mil.*, vol. 43, no. 1, pp. 113–121, 2014.
- [8] F. Alfonso, "New Drug-eluting Stents: Polymer-free, Biodegradable Polymers or Bioabsorbable Scaffolds?," *Rev Esp Cardiol*, vol. 66, no. 6, pp. 423–426, 2013.
- [9] T. Lämsä and J. Mikkonen, "Biocompatibility of a New Bioabsorbable Radiopaque Stent Material (BaSO 4 Containing Poly- L , D -Lactide) in the Rat Pancreas," *Pancreatology*, vol. 6, no. 4, pp. 301–305, 2006.
- [10] A. Muliana and K. R. Rajagopal, "Modeling the response of nonlinear viscoelastic biodegradable polymeric stents," *Int. J. Solids Struct.*, vol. 49, no. 7–8, pp. 989–1000, 2012.
- [11] D. Zhang, M. A. Kandadai, J. Cech, S. Roth, and S. A. Curran, "Poly(L-lactide) (PLLA)/multiwalled carbon nanotube (MWCNT) composite: Characterization and biocompatibility evaluation," *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 26, pp. 12910–12915, 2006.
- [12] M. M. Shokrieh, A. Saeedi, and M. Chitsazzadeh, "Mechanical properties of multi-walled carbon nanotube / polyester nanocomposites," *J. Nanostructure Chem.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–5, 2013.
- [13] P. González Seligra, M. Lamanna, and L. Famá, "Promising PLA-Functionalized MWCNT Composites to Use in Nanotechnology," Buenos Aires, Argentina Films, 2015.
- [14] M. Lamberti, P. Pedata, N. Sannolo, S. Porto, and A. De Rosa, "Carbon nanotubes: Properties, biomedical applications, advantages and risks in patients and occupationally-exposed workers," *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, vol. 28, no. 1, pp. 4–13, 2015.
- [15] B. Q. Wei, R. Vajtai, and P. M. Ajayan, "Reliability and current carrying capacity of carbon nanotubes," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 79, no. 8, pp. 1172–1174, 2001.
- [16] C. I. Santana, "Funcionalización de nanotubos de carbono para aplicaciones médicas," 2013.
- [17] K. I. Tserpes, A. Chanteli, and S. Pantelakis, "Mechanical and nanomechanical properties of MWCNT / PP nanocomposite," *Frat. ed Integrità Strutt.*, vol. 46, no. 1, pp. 73–83, 2018.
- [18] S. Y. Yang *et al.*, "Effect of functionalized carbon nanotubes on the thermal conductivity of epoxy composites," *Carbon N. Y.*, vol. 48, no. 3, pp. 592–603, 2010.
- [19] S. S. k., C. A.I., L. G.Q., and M. D.J., "The biocompatibility of carbon nanotubes," *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, vol. 25, no. 3, pp. 742–746, 2008.
- [20] G. Colmenares, L. Agudelo, Y. Quintero, and L. Hoyos, "Evolución de los stents coronarios liberadores de fármacos, de la primera a la cuarta generación," *Ces Med.*, vol. 31, no. 2, pp. 163–171, 2017.
- [21] Q. Luo *et al.*, "Degradation model of bioabsorbable cardiovascular stents," *PLoS One*, vol. 9, no. 11, pp. 1–9, 2014.
- [22] S. Q. Liu, G. H. Wu, Y. C. Xiao, H. X. Guo, and F. J. Shao, "Crystallization behavior and mechanical properties of poly(lactic acid) complex fiber toughened by carbon nanotube nanocapsules," *Text. Res. J.*, vol. 88, no. 14, pp. 1616–1627, 2018.
- [23] A. Finnis, S. Agarwal, and R. Gupta, "Retarding hydrolytic degradation of polylactic acid: Effect of induced crystallinity and graphene addition," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 133, no. 43, pp. 1–8, 2016.
- [24] I. Restrepo, C. Medina, V. Meruane, A. Akbari-Fakhrabadi, P. Flores, and S. Rodríguez-Llamazares, "The effect of molecular weight and hydrolysis degree of poly(vinyl alcohol)(PVA) on the thermal and mechanical properties of poly(lactic acid)/PVA blends," *Polímeros*, vol. 28, no. 2, pp. 169–177, 2018.