

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE COPOLÍMEROS PEBD-e-PHEMA

Lorenzetti, S. G.¹, Queiroz, A.A.A.² e Higa, O. Z.¹

sgloren@ipen.br

¹Centro de Biologia Molecular, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN, Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, Cidade Universitária, São Paulo-SP, Brasil, CEP: 05508-000

²Escola Federal de Engenharia de Itajubá, Itajubá, MG, Brasil

RESUMO

Na área de biomateriais destacam-se os materiais poliméricos os quais, por suas propriedades peculiares, permitem uma adequação às mais variadas utilizações na área médica. O hidrogel é o polímero mais comum entre os similares biocompatíveis destacando-se o PHEMA poli(metacrilato de 2-hidroxietila). Este, na sua forma monomérica, foi enxertado sobre uma membrana de PEBD (polietileno de baixa densidade), por meio de irradiação simultânea em fonte de ⁶⁰Co para produzir o copolímero hidrofílico PEBD-e-PHEMA. O propósito do trabalho foi obter uma superfície biocompatível adequada para posterior imobilização de compostos protéicos. A síntese de copolímeros utilizando a radiação ionizante apresenta vantagens sobre a metodologia convencional devido a formação de radicais livres e a não necessidade de aquecimento da reação e da adição e posterior remoção de catalisadores. A irradiação foi efetivada com taxas de dose que variaram de 0,029 a 0,041kGy/h e doses de irradiação de 0,5 a 2kGy. Com estes parâmetros obteve-se copolímeros com diferentes graus de enxertia no intervalo de 2 a 41%. Estes copolímeros foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e micrografias no MEV que demonstraram a efetividade da enxertia. A hidrofiliabilidade foi evidenciada pela sorção de água que, dependendo do grau de enxerto, variou entre 1,8 a 27,5%. As ramificações de COOH do hidrogel, presentes na superfície do PEBD-e-PHEMA, serão posteriormente ativadas para a imobilização de enzimas.

Palavras-chave: polietileno, hidrogel, enxertia, radiação.

INTRODUÇÃO

Atualmente a ciência de materiais é responsável pela maioria das inovações presentes principalmente nas áreas médicas e biotecnológica. O termo biomaterial reúne um grande número de diferentes produtos que, todos por definição, têm como objetivo o uso em contato com organismos vivos ou seus fluidos.

Pode-se citar como exemplo de biomaterial os polímeros, os quais possuem propriedades físico-químicas que permitem aplicações biomédicas variadas, tais como próteses (faciais, condutos biliares, ureter, quadril ou tendões), suturas biodegradáveis, vasos sanguíneos, sistemas de liberação controlada de fármacos, órgãos híbridos para transplante, cateteres, tubos, suturas, etc.^[5]

Já é bem conhecido o fato de que aplicações médicas poliméricas são usadas restritamente devido a formação de trombos na superfície dos mesmos. Com o intuito de acentuar a tromboresistência há inúmeros pesquisadores que estão immobilizando heparina e outros agentes anticoagulantes sobre materiais poliméricos^[1,3-4].

A síntese de polímeros utilizando a radiação ionizante, apresenta algumas vantagens sobre as metodologias convencionais devido estar envolvido na formação de radicais livres ou reações iônicas, não havendo a necessidade de aquecimento do sistema reacional nem da adição catalisadores. Dentre as várias aplicações desta técnica destaca-se a síntese de copolímeros de enxerto para a preparação de membranas trocadoras de íons e polímeros especiais utilizados na medicina e biotecnologia^[2].

A técnica de enxertia por irradiação gama de monômeros hidrofílicos sobre superfícies de materiais poliméricos destaca-se dentre outros métodos, pois a extensão e a deposição do enxerto, a composição e o conteúdo de água desses copolímeros enxertados podem ser variados facilmente. A idéia de enxertia de monômeros hidrofílicos sobre superfícies hidrofóbicas deve-se aos trabalhos de Witcherle e Lim^[7] que constataram a biocompatibilidade dos polímeros hidrofílicos^[5].

O objetivo deste trabalho foi de obter uma superfície hemocompatível. Para tal finalidade obtivemos um copolímero utilizando, como polímero base, o polietileno de baixa densidade (PEBD) e o monômero hidrofílico HEMA (metacrilato de 2-hidroxietila). Dessa forma a superfície de PEBD tornou-se hemocompatível. A enxertia foi efetuada via irradiação simultânea em fonte de ⁶⁰Co. Posteriormente, para acentuar a hemocompatibilidade (tromboresistência), será efetuado a imobilização de compostos protéicos com atividade anticoagulante sobre o copolímero obtido.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de copolímeros de enxerto.

As amostras de membranas de PEBD foram previamente lavadas em solução aquosa de detergente (15% v/v) em tanque ultrassom durante 5 minutos. Em seguida foram enxaguadas, em água destilada, e secas sob vácuo em dessecador durante 48 horas.

Os copolímeros de enxerto foram obtidos pela utilização da irradiação simultânea com fonte de ⁶⁰Co. Essa técnica envolve a exposição da superfície a raios gama em presença de monômero e solvente.

O método de enxertia foi efetuado na ausência de oxigênio, para um maior rendimento da copolimerização^[6]. As amostras secas de PEBD foram colocadas em contato com HEMA e solvente em ampolas de vidro. O monômero foi utilizado em duas concentrações, diluído a 15 e 30% v/v em solução de etanol em água (10% v/v). As ampolas foram colocadas em uma linha de alto vácuo e desgaseificadas de 3 a 4 vezes pela técnica de congelamento e descongelamento alternados. Cada ampola foi fechada sob vácuo de aproximadamente 10⁻⁴ mmHg e levada à irradiação. A taxa de dose variou entre 0,0291 e 0,0979 kGy/h e as doses foram de 0,5, 1 e 2 kGy, como descrito na tabela 1.

Tabela 1. Condições da enxertia para obtenção dos copolímeros PEBD-e-PHEMA

Ensaio	Amostra	HEMA (%)	Taxa de dose (kGy/h)	Dose (kGy)
1	1 e 2	30	0,097	2
	3 e 4	30	0,061	2
	5 e 6	30	0,041	2
	7 e 8	30	0,030	2
2	9	30	0,060	0,5
	10	30	0,040	0,5
	11	30	0,060	1
	12	30	0,040	1
	13	30	0,030	1
	14	15	0,060	1
	15	15	0,040	1
	16	15	0,030	1
3	17	30	0,058	0,5
	18	30	0,039	0,5
	19	30	0,058	1
	20	30	0,039	1
	21	30	0,029	1
	22	15	0,058	1
	23	15	0,039	1
	24	15	0,029	1

Durante a irradiação o monômero sofreu polimerização pelos raios gama originando o homopolímero PHEMA e o copolímero PEBD-e-PHEMA. Após a irradiação os copolímeros foram submetidos a um processo de lavagem com a finalidade de retirar totalmente o homopolímero PHEMA formado junto com a membrana de PEBD copolimerizada.

Nos três ensaios realizados a limpeza das amostras foi efetuada inicialmente com água destilada e etanol p.a. para facilitar a retirada dos copolímeros da ampola, e posteriormente as membranas foram submetidas a extração com Soxhlet usando álcool metílico p.a..

O rendimento de enxertia foi calculado por meio da equação 1.

$$\text{Grau de enxertia (\%)} = \frac{(W_c - W_i)}{W_i} \times 100 \quad (1)$$

Onde W_i e W_c representam os pesos do filme inicial e do copolímero de enxerto, respectivamente.

Teste de hidrofiliidade.

Neste ensaio as amostras de PEBD-e-PHEMA, previamente pesadas, foram deixadas imersas em água destilada durante 24 horas. Após esse processo, foram secas e pesadas. A diferença dos pesos final e inicial, deste teste, determinou a hidrofiliidade da superfície em estudo conforme a equação 2.

$$S (\%) = \frac{(W - W_s)}{W_s} \times 100 \quad (2)$$

Onde W_s é o peso inicial do polímero e W é o peso do polímero intumescido.

Espectroscopia de infravermelho (IV).

As cadeias enxertadas, nas matrizes poliméricas, foram caracterizadas por espectroscopia IV, utilizando o espectrofotômetro *BOMEM*.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Amostras circulares dos copolímeros de PEBD-e-PHEMA obtidos, com diâmetro de 5mm, foram fixadas em suporte metálico e analisadas por microscópio eletrônico de varredura *Philips modelo XL30*, com analisador de energia por raios X dispersivos (EDAX).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os copolímeros de enxerto foram obtidos em diversas condições: diferentes concentrações de monômero, taxas de dose e doses de radiação, como pode ser visto na tabela 1. Após a enxertia os copolímeros foram retirados das ampolas e algumas dessas superfícies foram perdidas devido a excessiva homopolimerização do HEMA sobre as mesmas.

Os filmes copolimerizados limpos e secos foram posteriormente avaliados quanto ao grau de enxertia. Nos três ensaios de enxertia realizados, nas diferentes condições descritas na tabela 1, obteve-se copolímeros com diversos graus de enxertia que variaram de 2 a 50%, conforme a tabela 2.

Tabela 2. Grau de enxertia dos copolímeros PEBD-e-PHEMA sob várias condições de enxertia

Ensaio	Amostra	HEMA (%)	Taxa de dose (kGy/h)	Dose (kGy)	Grau de enxertia (%)
1	3	30	0,061	2	32
	4	30	0,061	2	50
	5	30	0,041	2	41
	6	30	0,041	2	34
	7	30	0,030	2	29
	8	30	0,030	2	32
2	13	30	0,030	1	23
	14	15	0,060	1	1,8
	15	15	0,040	1	2,2
	16	15	0,030	1	2,5
3	18	30	0,039	0,5	25
	20	30	0,039	1	25
	21	30	0,029	1	21
	23	15	0,039	1	2
	24	15	0,029	1	2,1

Com a enxertia houve mudanças significativas nas propriedades físico-químicas do polímero PEBD virgem. Uma delas foi verificada no teste de hidrofiliabilidade no qual pode-se constatar

o aumento dessa propriedade no copolímero PEBD-e-PHEMA. A tabela 3 mostra a sorção de água dos copolímeros obtidos em diferentes graus de enxertia comparados com o polímero base. De acordo com os resultados deste teste pode-se afirmar que o aumento da hidrofiliicidade está baseado na presença do polímero PHEMA no filme de PEBD.

Tabela 3. Hidrofiliicidade das amostras de PEBD-e-PHEMA analisadas

Amostra	Grau de Enxertia (%)	Hidrofiliicidade (%)
PEBD (virgem)	xxx	1,89
Copolímero 23	2	5,80
Copolímero 21	21	3,96
Copolímero 18	25	11,82
Copolímero 08	32	18,38
Copolímero 05	41	27,49

As alterações estruturais no PEBD, após a copolimerização, foram visualizadas por espectroscopia no infravermelho. Na figura 2 está ilustrado o espectro FTIR do PHEMA. As bandas presentes nas regiões de 3433cm^{-1} e 1727cm^{-1} são atribuídas, respectivamente, aos grupos $-\text{OH}$ e $\text{C}=\text{O}$ do homopolímero PHEMA.

No espectro FTIR do PEBD-e-PHEMA da figura 3 verifica-se também a banda 3400cm^{-1} característica do grupo OH e 1730cm^{-1} da banda da carbonila $\text{C}=\text{O}$ que aumenta com o porcentual de enxertia de matriz de PEBD. As bandas citadas por sua vez estão ausentes no espectro FTIR do filme de PEBD.

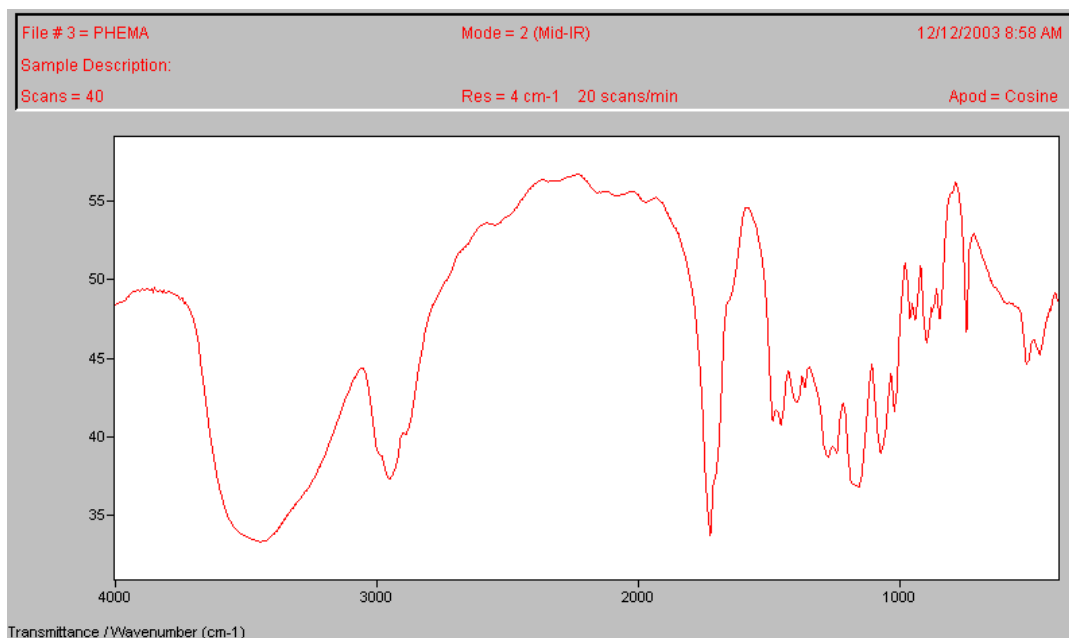


Figura 2. Espectro FTIR do PHEMA

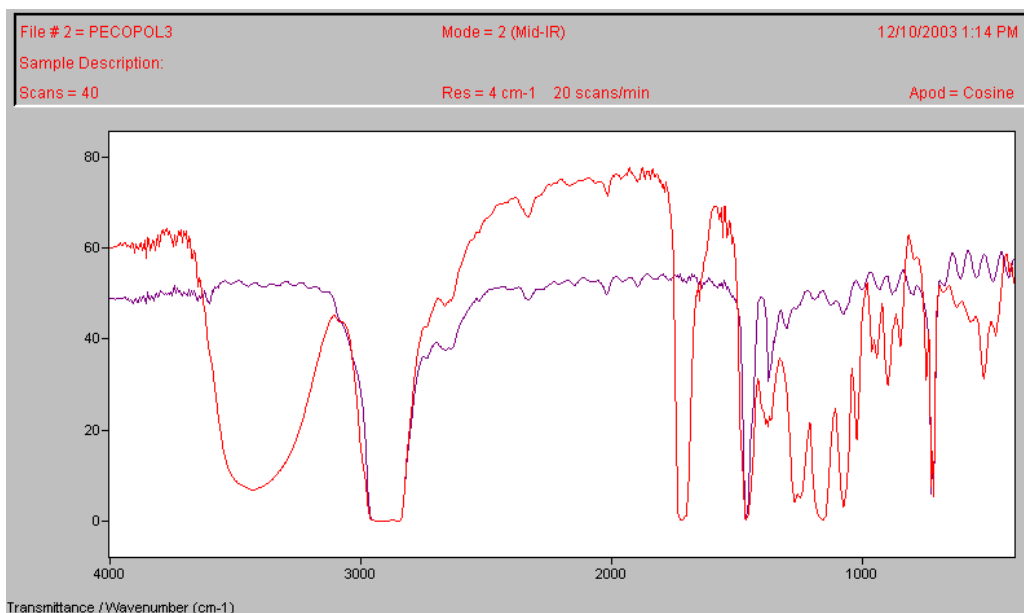


Figura 3. Espectro FTIR do PEBD não modificado e do copolímero de enxerto PEBD-e-PHEMA com 32% de enxertia

Outra caracterização dos copolímeros foi alcançada por MEV. As micrografias do PEBD (foto A) e PEBD-e-PHEMA (foto B) podem ser vistas na figura 4. O copolímero analisado foi o que apresentou 32% de enxertia. Observou-se nesta amostra uma superfície rugosa enquanto que no polímero base pode-se verificar a sua superfície lisa. Esta característica do copolímero é devido a presença de PHEMA, o qual causou significativas mudanças superficiais.

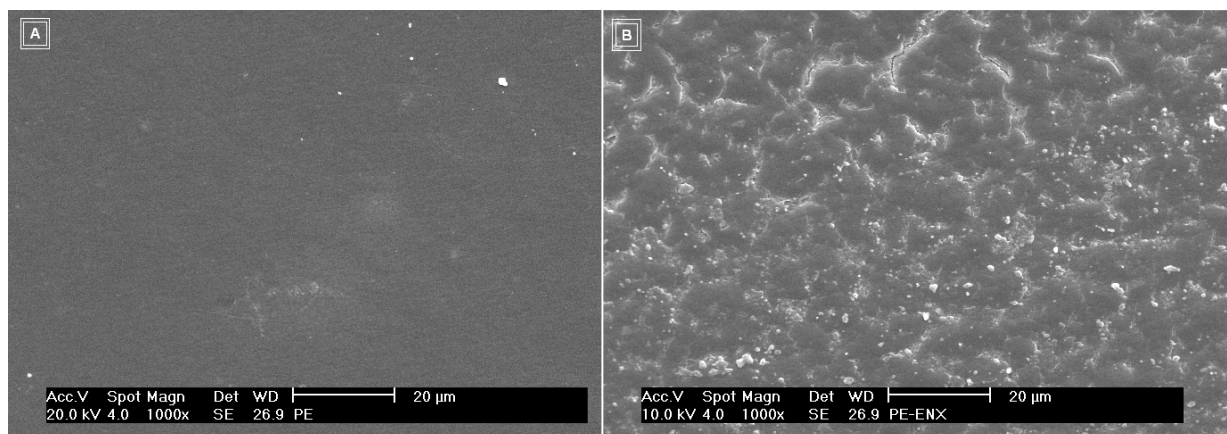


Figura 4. Micrografias em MEV com aumento de 1000x. Foto A: PEBD e foto B: PEBD-e-PHEMA

CONCLUSÕES

Pode-se verificar que o grau de enxertia foi influenciado pela concentração do monômero utilizado e condições de radiação. Os altos graus de enxertia de PHEMA na superfície de PEBD-e-PHEMA deverão disponibilizar um grande número de grupamentos que serão responsáveis pelo futuro acoplamento dos componentes protéicos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de mestrado e ao técnico Eduardo Moura pela ajuda nos ensaios do Infra-vermelho.

REFERÊNCIAS

- [1] Bruck, S.D., **Med. Prog. Technol.**, v. 9, p. 1-16, 1982.
- [2] Garnett, J.L.; Jankiewicz, S.V.; Levot, R.; Sangster, D.F., Insolubilization of biologically active materials with novel radiation graft copolymers, **Radiat. Phys. Chem.**, v. 25 (4-6), p. 509-516, 1985.
- [3] Heyman, P.W., Cho, C.S., McRea, J.C., **J. Biomed. Mat. Res.**, v. 19, p. 419-436, 1985.
- [4] Lin, S.C., Jacobs, H.A., Kim, S.W., **J. Biomed. Mat. Res.**, v. 25, p. 791-795, 1991.
- [5] Rosiak, J.M.; Ulanski, P.; Pajewski, L.A.; Yoshii, F.; Makuuchi, K., Radiation formation of hydrogels for biomedical purposes. Some remarks and comments, **Radiat. Phys. Chem.**, v. 46 (2), p. 161-168, 1995.
- [6] Stannet, V.T., Section 2.2. Co-polymerization and grafting. Radiation grafting – States-of-the-art, **Radiat. Phys. Chem.**, v. 35 (1-3), p. 82-87, 1990.
- [7] Witcherle, O.; Lim, D., Hydrophilic gels for biological use, **Nature**, v. 9, p. 117-147, 1960.

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF PHEMA-g-PEBD COPOLYMERS

ABSTRACT

In the biomaterials area stand out the polymeric materials due their special properties suitable for several medical use. The hydrogel is the polymer more commum among biocompatibles similars stand out the PHEMA (poly(2-hydroxiethyl methacrylate)). This, as monomer, was grafted onto a PEBD (low density polyethylene) membrane, in simultaneous irradiation method in a ^{60}Co source to produce a PHEMA-g-PEBD hydrophylic copolymer.

The aim of this work was to obtain a biocompatible surface for following immobilization of protein compounds. The copolymers synthesis with ionizing radiation shows more advantages than traditional methodology due the formation of free radicals, without the necessity of heating reaction and addition and removal of catalytics. The irradiation was achieved with dose rate from 0,029 to 0,041kGy/h and irradiation dose from 0,5 to 2kGy. Using these parameters were obtained copolymers with different grafting degrees ranging from 2 to 41%. The copolymers were characterizated in infra-red espectroscopy and micrographies on MEV which showed the effectiveness of grafting procedure. The hydrophylicity was evidenced by water adsorption, which depending the grafting degree, varied

from 1,8 to 27,5%. The COOH ramifications present in the PHEMA-g-PEBD surface will be activated for posterior enzymes immobilization.

Key-words: polyethylene, hydrogel, grafting, radiation.