

Síntesis y evaluación de la degradabilidad *in vitro* de materiales híbridos base sílice, modificados con titanía y calcio para su uso como sustituto óseo.

R.I. Gutiérrez-Ventura¹, L. Téllez-Jurado¹, B.E. García-Pérez²

¹Departamento de Ingeniería en Metalúrgica y Materiales, ESIQIE, Instituto Politécnico Nacional, CD-MX, México.

²Departamento de Microbiología General, ENCB, Instituto Politécnico Nacional, CD-MX, México

Resumen— En este trabajo se sintetizaron mediante el proceso sol-gel materiales híbridos base sílice pertenecientes al sistema TEOS-PDMS modificados con titanía y calcio, para su uso como sustituto de tejido óseo. Se evaluó la degradabilidad de los materiales mediante su inmersión en una solución buffer de fosfatos (PBS), donde se registró el cambio tanto en peso como en el pH. Los materiales fueron caracterizados antes y después de su inmersión en PBS mediante difracción de rayos X (DR-X), microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). Los resultados indicaron que la incorporación del ión calcio cambió la morfología superficial, así como la degradabilidad del material. La composición base se mantuvo estable durante el período evaluado haciendo evidente su gran resistencia a la degradación hidrolítica.

Palabras clave— Degradabilidad, Híbridos, Ormosil, PBS, Sol-Gel, TEOS-PDMS, Titanía.

I. INTRODUCCIÓN

La medicina es un campo que se encuentra en constante desarrollo, ya sea por la exploración hacia nuevos enfoques o simplemente por el desarrollo del conocimiento, lo que resulta en procedimientos cada vez más osados para los cuales se requieren nuevos materiales que trabajen en condiciones fisiológicas, es por esto que el desarrollo de nuevos biomateriales es un fuerte campo de estudio [1].

Hoy en día la investigación en biomateriales se enfoca en desarrollar nuevas alternativas que presenten una mejora en la bioactividad y degradabilidad [2], para el caso de los materiales óseos se busca que éstos enlacen con el tejido anfitrión mediante la formación de una capa de hidroxiapatita carbonatada (CHA), que ayude a la integración del implante dada su gran similitud con la parte mineral de hueso [3].

De entre los tipos de biomateriales que existen los híbridos son uno de los ejemplos más notables, éstos se forman por la unión a nivel molecular de 2 o más materiales, donde el tamaño medio de las fases puede llegar al orden nanométrico [2], haciendo que los componentes resulten indistinguibles por encima de esta escala [3]. La importancia de los híbridos radica en su capacidad de promover fenómenos biológicos relacionados con la regeneración ósea [3], así como presentar una gran gama de propiedades dependiendo de la composición y procesamiento que se les dé [4]. El método más común para la obtención de los materiales híbridos es el proceso sol-gel, éste consiste en la hidrólisis de especies metalorgánicas en solución alcohólica, que

conducen a la formación de un gel por reacciones de condensación [2].

Entre los materiales híbridos más relevantes se encuentra el sistema TEOS-PDMS, debido a sus propiedades, homogeneidad química y facilidad de síntesis [1]. Éste sistema corresponde a un Silicato MODificado ORgánicamenteu (ORMOSIL, por sus siglas en inglés), los cuales han tenido un notable auge en los últimos años ya que presentan buenas propiedades tanto mecánicas como bioactivas, que incluso llegan a ser superiores a las de muchos biocerámicos [3], y que además su velocidad de degradación es fácil de controlar [5].

La inclusión de TiO₂ en el sistema TEOS-PDMS, utilizando el método sol-gel, ya sea por vía básica [6] o ácida [7], permite la obtención de materiales monolíticos con propiedades bioactivas y mejores propiedades mecánicas. Así mismo, en investigaciones del sistema TEOS-PDMS-TiO₂-CaO se ha estudiado el efecto de la composición del material en las propiedades superficiales y bioactivas [8, 9] así como el efecto del ión Ca⁺⁺ en la estructura final del material híbrido [8] sin embargo, no se han realizado estudios del efecto del ión calcio en la degradabilidad de híbridos base TEOS-PDMS-TiO₂, por lo que en el presente trabajo se evalúa la presencia del ión calcio en la degradabilidad de estos materiales, así como la habilidad de formar hidroxiapatita en su superficie que les permita su osteointegración.

II. METODOLOGÍA

La síntesis de los ormosiles se llevó a cabo usando el método sol-gel, para lo cual se empleó tetraetilortosilicato (TEOS, Aldrich) e isopropóxido de titanio IV (IPrTi, Aldrich) como precursores del componente inorgánico, mientras que como parte orgánica se empleó polidimetilsiloxano (PDMS, Aldrich) con un peso molecular de 550 grmol⁻¹. Adicionalmente se utilizó ácido clorhídrico (HCl, Fermont) como catalizador, como disolvente isopropanol (ISOH, JTBaker), como agente hidrolizante agua (H₂O, JTBaker) y nitrato de calcio tetrahidratado (Ca(NO₃)₂·4H₂O, Aldrich) como fuente de calcio.

Las relaciones empleadas para el material sin calcio (MT) fueron: TEOS/IPrTi/PDMS=45/20/35 (% en peso) y TEOS/HCl/ISOH/H₂O=1/0.3/4.5/3 (relación molar). Para el material con calcio (MTC) se utilizaron las mismas relaciones, pero se adicionó 5% en volumen de Ca(NO₃)₂·4H₂O. La reacción se llevó a cabo a 80°C durante 30 minutos.

El procedimiento que se siguió para la obtención del material sin calcio (MT) consistió en la preparación de tres soluciones, la primera de estas formada por el PDMS y el TEOS, la segunda por el HCl y el H₂O y la última por el IPrTi, cada una de ellas con una tercera parte del volumen total del ISOH, estas soluciones se dejaron durante 10 minutos en agitación a temperatura ambiente, una vez que se han homogeneizado completamente se adicionó la primera solución en un reactor de vidrio colocado en un baño isotérmico a 80°C y 600 r.p.m. Una vez que el sistema alcanza las condiciones requeridas se vierte la solución 2 y 3 al reactor de manera alternada durante los 30 minutos de reacción. Transcurrido este tiempo, se dejó el sistema 10 minutos adicionales a la misma agitación y temperatura.

Para la síntesis del material con calcio (MTC) se utilizaron las mismas tres soluciones base, pero se preparó una extra que contiene al Ca(NO₃)₂·4H₂O, además, el solvente se dividió en 4 partes iguales, al igual que para la síntesis del MT se adicionó la primera solución al reactor de vidrio, pero en este caso fueron 3 soluciones las que se alternaron durante el tiempo de reacción.

Evaluación de la degradabilidad en PBS

Para la evaluación de la degradabilidad de los híbridos se tomaron fragmentos monolíticos de ambos materiales, los cuales fueron inmersos en solución buffer de fosfatos, manteniendo este sistema a 36.5°C durante diferentes períodos de tiempo, y se monitoreó tanto el cambio en el peso como en el pH de la PBS.

Las muestras fueron secadas por 24 horas a 120°C y se analizaron por difracción de rayos X (DR-X) en un difractómetro D8 FOCUS marca Bruker, microscopia electrónica de barrido (MEB) en un microscopio JSM-6701F marca Jeol y espectroscopia infrarroja (FT-IR) en un espectrómetro FRONTIER marca Perkin Elmer.

III. RESULTADOS

Caracterización inicial

La Fig. 1 muestra los difractogramas de los híbridos antes de ser inmersos en PBS. En el material MT se distinguen picos (identificado mediante ♦) que pertenecen a la fase del óxido de titanio conocida como rutilo (carta ICSD 98-003-6413). En el material MTC predomina el carácter vítreo, y el difractograma corresponde al característico de la sílice vítreo.

El análisis por FT-IR permite corroborar la formación de la estructura híbrida (enlace TEOS-Si-O-Ti-O-Si-PDMS); la Fig. 2 muestra los espectros FT-IR de los materiales antes de ser evaluados en PBS. En el híbrido MTC se observa la presencia de una banda intensa en 3300 cm⁻¹ y otra de menor intensidad en 1640 cm⁻¹, ambas se asocian al enlace O-H [10] del agua, para el material MT, estas señales son poco apreciables.

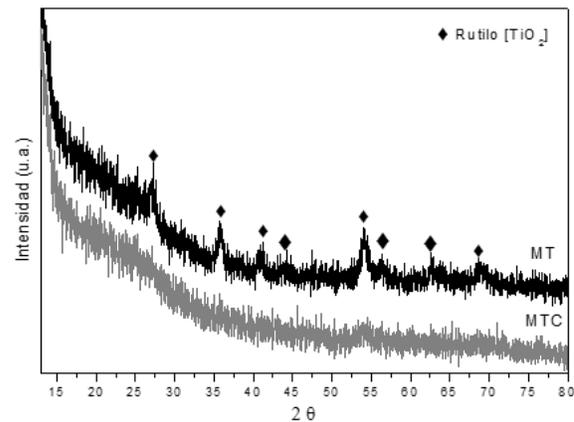


Fig. 1. Difractogramas de los materiales antes de la evaluación en PBS.

Las bandas en 2964 cm⁻¹ y en 2905 cm⁻¹ pertenecen a la tensión simétrica y asimétrica del C-H en el CH₃, respectivamente [6], en 1424 cm⁻¹ y 1340 cm⁻¹ se observan las bandas correspondientes a los nitratos [9], los cuales solo son visibles en el material MTC.

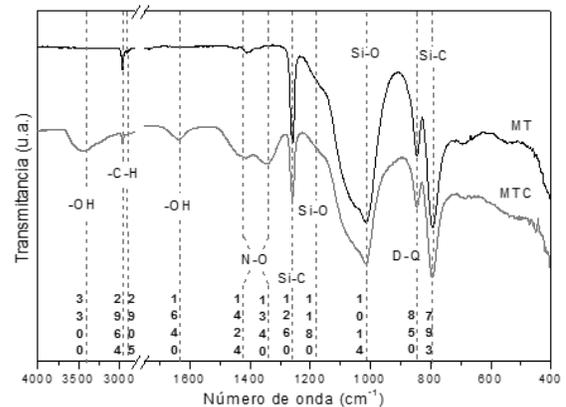


Fig. 2. Espectro FT-IR de los materiales antes de la evaluación en PBS.

En 1340 cm⁻¹ se encuentra la vibración de los grupos metilo de la cadena del solvente [1], éstos no son visibles en el material MTC ya que la señal se solapa con los nitratos. A 1260 cm⁻¹ y 793 cm⁻¹ se encuentran vibraciones del enlace Si-C del Si(CH₃)₂ perteneciente al PDMS, en 1180 cm⁻¹ se observa la vibración del enlace Si-O-Si [10], en 1014 cm⁻¹ la tensión del Si-O en Si-O-Si y Si-O-C [6], por último, en 850 cm⁻¹ se observa la copolimerización de unidades D-Q (unidad D del PDMS y unidad Q de la sílice proveniente del TEOS) en la estructura híbrida [10].

Evaluación de la degradabilidad

La Fig. 3a muestra el cambio en peso de cada material a lo largo del tiempo. El material MT presenta una pérdida de peso prácticamente nula durante los días estudiados, mientras que en el material MTC se observa como la adición del ión Ca²⁺ generó una pérdida de peso durante el primer día de

~9%, la cual se mantiene constante hasta el día 21 y a 28 días se observa un incremento en la pérdida de peso hasta ~14%.

La Fig. 3b muestra el cambio en el pH con respecto al tiempo, se observa que existe poca variación entre ambos materiales a lo largo de los días evaluados, aunque, el MTC tiende a valores ligeramente más bajos ($\text{pH} \approx 7.26$).

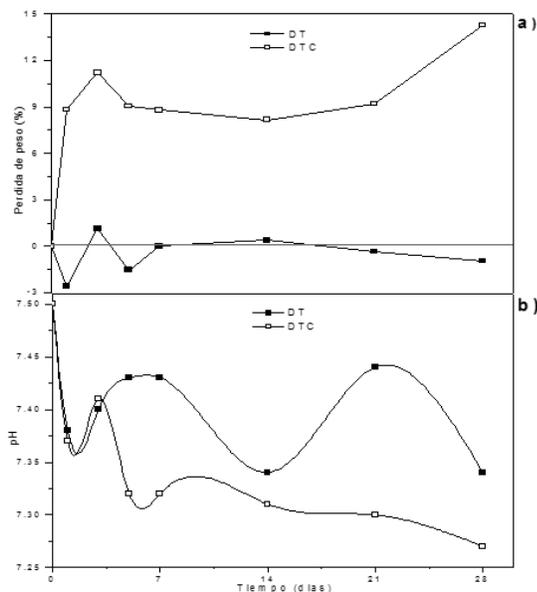


Fig. 3. Cambio en el peso (a) y el pH (b) en función del tiempo [PBS].

Los difractogramas de los materiales MT y MTC sometidos a la prueba de degradación se muestran en la Fig. 4a y 4b, respectivamente. En los difractogramas del material MT (Fig. 4a) se observa la presencia de la fase rutilo (ya descrito anteriormente, Fig. 1) durante todos los días del estudio, aunque no es posible apreciar ninguna otra fase. En el difractograma del material MTC (Fig. 4b) se observa la presencia de dos picos (32° y 45° en 2θ , indicados mediante \square), que corresponden a la fase halita del cloruro de sodio de acuerdo con la carta ICSD 98-024-0598.

En la Fig. 5a se muestran los espectros infrarrojos de los materiales MT, en estos no es posible observar cambios en las bandas con respecto al espectro original. Por otro lado, en la Fig. 5b se presentan los espectros del material MTC a diferentes tiempos de inmersión, las bandas son similares al espectro del material original (descrito en la Fig. 2), pero con la aparición de dos señales nuevas, ubicadas en 560 cm^{-1} y en 600 cm^{-1} , las cuales corresponden al modo ν_4 de flexión de los fosfatos [1].

Las micrografías de la Fig. 5a muestran que la superficie del material MT presenta una degradación mínima, así como la desaparición de las partículas esféricas, mientras que en el material MTC se observan precipitados que corresponden a una nueva fase con morfología plaquetaria [11] en la superficie conforme avanza el tiempo.

IV. DISCUSIÓN

Se observa la formación de la fase rutilo en el material MT lo cual no es común para el proceso sol-gel [12], aunque, aún es posible apreciar el carácter vítreo característico de la sílice vítrea en los espectros por DR-X (Fig. 1), prueba de esto es lo homogénea y lisa que es su superficie, solo observándose pequeñas esferas características del proceso de sinéresis de los geles (Fig. 6).

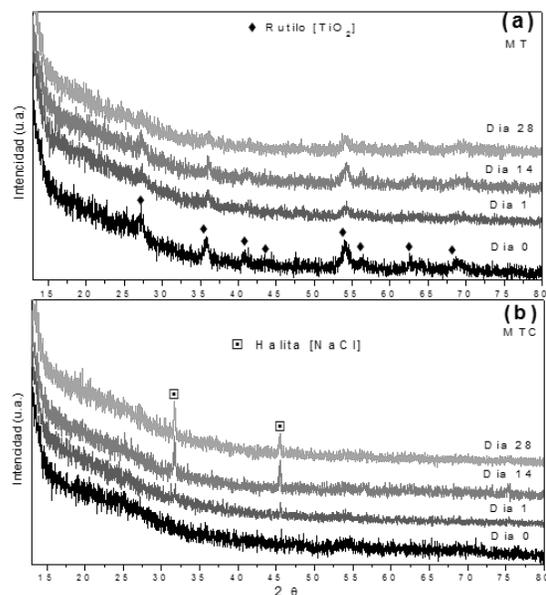


Fig. 4. Difractogramas de los materiales MT(a) y MTC (b) [PBS].

Por otro lado, la incorporación del ión Ca^{2+} en el material MTC rompió la estructura del MT [1], provocando que la condensación fuera menor dando lugar a un cuerpo con alta superficie específica (Fig. 6) donde no aparece ningún indicio por DR-X de la formación de fases cristalinas.

Aunque el calcio modificó tanto las reacciones de hidrólisis-condensación como la morfología, no impidió la formación de la red híbrida, ya que en los espectros de la Fig. 2, se observan las vibraciones en 1260 cm^{-1} y 793 cm^{-1} del PDMS, así como la banda en 850 cm^{-1} indicando la formación la estructura híbrida mediante la copolimerización de unidades D-Q. Igualmente, en la figura 2 es posible notar que los espectros MT y MTC son similares, diferenciándose únicamente por la presencia de las bandas asociadas a dos especies adicionales, correspondientes a los hidroxilos y los nitratos, lo cual indica que no todo el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ fue incorporado a la red vítrea generando zonas de sal remanente.

La eliminación de la sal residual explica la pérdida de peso inicial que presenta el MTC, lo anterior concuerda con el cambio en el pH del PBS durante el primer día, ya que tanto la disolución del nitrato, como de las esferas de sílice condensadas en el MT acidifican ligeramente el medio.

Los espectros por DR-X y FT-IR del material MT no muestran cambios, lo que concuerda con las micrografías

obtenidas por MEB donde la superficie se mantiene lisa durante todo el estudio. Mientras que para el material MTC aparecieron picos que corresponden a una fase del NaCl, sumado a las bandas de fosfatos observadas por FT-IR sugiere que se llevó a cabo precipitación de fosfato cálcico y cloruro de sodio en la superficie, formando la capa que se observan por MEB.

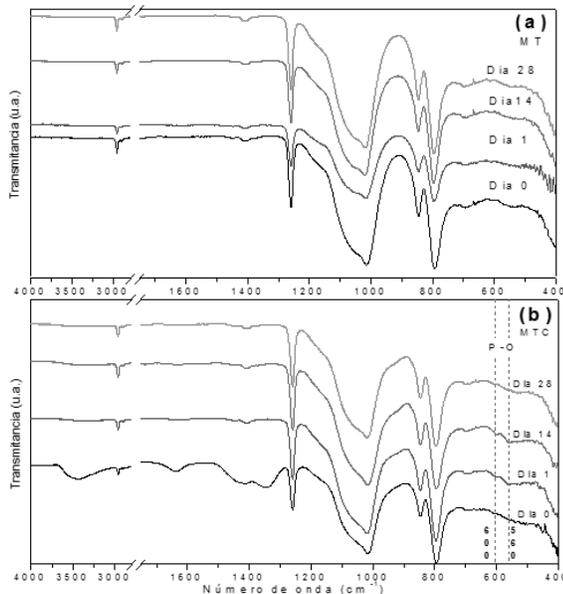


Fig. 5. Espectros infrarrojos de los materiales MT(a) y MTC (b) [PBS].

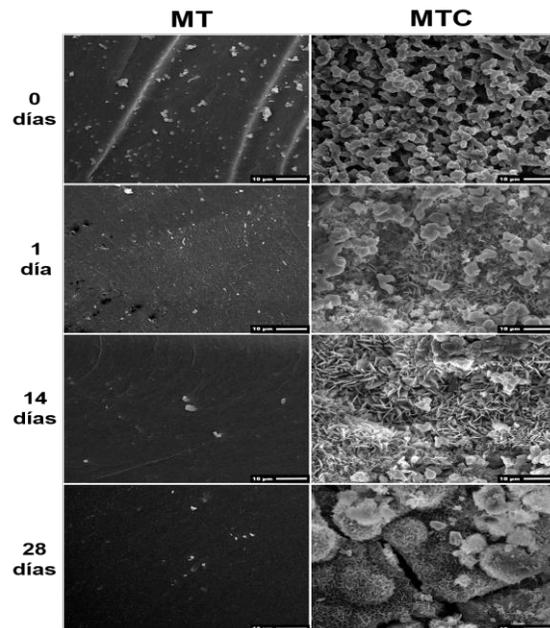


Fig. 6. Micrografías obtenidas por MEB de los materiales MT y MTC a 1,500X. [PBS].

Todo lo anterior, en conjunto con las gráficas de la Fig. 3 indican que el material MT prácticamente no presentó degradación, mientras que el MTC si se degradó, pero al mismo tiempo diferentes fases precipitaron en su superficie

compensando parte del peso perdido, aunque para el día 28 el material tiende más a la disolución que a la precipitación.

V. CONCLUSIÓN

El método sol-gel permite la formación de materiales híbridos bajo las composiciones estudiadas, independientemente de la adición de calcio.

La incorporación de calcio aumenta la superficie específica.

La degradabilidad del MT durante el período evaluado es prácticamente nula, sin llegar a alterar su estructura.

El ensayo en PBS no es un método adecuado para determinar la degradabilidad que sufren los materiales con calcio, ya que presenta fenómenos de disolución-precipitación que impiden observar la superficie y la pérdida de peso real, aunque los valores de peso y pH indican que existió degradación.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] R. I. Gutiérrez, "Efecto del tipo de óxido metálico sobre la bioactividad y degradabilidad en materiales híbridos," tesis licenciatura, Ingeniería en Metalurgia y materiales, ESQIE, IPN, CD-MX, México, 2016.
- [2] E. G. Álvarez and A. Martínez. (2011, diciembre). Biomateriales Híbridos Mediante el proceso Sol-Gel. *CIENCIACIERTA* [En línea]. Volumen (no. 28), Disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC28/1.html>.
- [3] J. R. Jones, "Review of bioactive glass: From Hench to hybrids," *Acta Biomaterialia*, no. 9, pp. 4457-4486, 2013.
- [4] B. B. Nissan, *Advances in Calcium Phosphate Biomaterials*, Springer, 2014, pp. 150-153.
- [5] D. A. Sánchez, L. Téllez and J. F. Chávez, "Bioactivity and degradability of hybrids nano-composites materials with great application as bone tissue substitutes," *Journal of Alloys and Compounds*, n° 615, pp. 5670-5675, 2014.
- [6] C. Almeida, H. Vaz Fernandes, A. Castro and I. M. Salvado, "A new approach to the preparation of PDMS-SiO₂ based hybrids - A structural study," *Materials Letters*, no. 128, p.p. 105-109, 2014.
- [7] J. C. Almeida, A. G. Castro, J. H. Lancastre, I. M. Miranda, F. M. Margaça, M. H. Fernandes, "Structural characterization of PDMS-TEOS-CaO-TiO₂ hybrid materials obtained by sol-gel," *Materials Chemistry and Physics*, n° 143, pp. 557-563, 2014.
- [8] J. C. Almeida, A. Wacha, P. S. Gomes, M. H. Fernandes, M. H. Vaz, and I. M. Miranda, "PDMS-SiO₂-TiO₂-CaO hybrid materials - Cytocompatibility and nanoscale surface features," *Materials Science and Engineering*, no. 64, pp. 74-86, 2016.
- [9] A. Tamayo, L. Téllez, M. Rodríguez, M. A. Mazo, F. Rubio and J. Rubio, "Surface properties of bioactive TEOS-PDMS-TiO₂-CaO ormosils," *Journal of Materials Science Letters*, no. 49, p.p. 4656-4669, 2014.
- [10] M. J. Velasco, J. Rubio and J. L. Oteo, "Estudio por espectroscopía infrarroja de la reacción de hidrólisis y policondensación del IEOS en presencia de PDMS," *Boletín de la sociedad española de Cerámica y Vidrio*, no. 40, p.p. 37-42, 2001.
- [11] M. Sada-Shojai, M. Taghi, E. Dinpanah and A. Jamshidi, "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures," *Acta Biomaterialia*, no. 9, p.p. 7591-7621, 2013.
- [12] K. Terabe, K. Kato, H. Miyazaki, S. Yamaguchi, A. Imai and Y. Iguchi. "Microstructure and crystallization behaviour of TiO₂ precursor prepared by the sol-gel method using metal alkoxide," *Journal of materials science*, no. 29, p.p. 1617-1622, 1994.