

Tesis Doctoral

SÍNTESIS, ESTRUCTURA Y APLICACIONES DE POLIÉSTERES
SECUENCIALES DERIVADOS DE ÁCIDO GLICÓLICO Y
 ω -HIDROXIÁCIDOS.

Meritxell Martínez Palau

Tesis Doctoral

SÍNTESIS, ESTRUCTURA Y APLICACIONES DE POLIÉSTERES
SECUENCIALES DERIVADOS DE ÁCIDO GLICÓLICO Y
 ω -HIDROXIÁCIDOS.

Memoria presentada por **Meritxell Martínez Palau** para optar al grado de doctor por la *Universitat Politècnica de Catalunya* con Mención Europea.

Trabajo realizado en el Departamento de Ingeniería Química de la *Universitat Politècnica de Catalunya*, dentro del programa de Doctorado “Polímeros y Biopolímeros”.

Director de la Tesis: **Prof. Jordi Puiggali Bellalta**.

Barcelona, Enero 2008.

Tot i que sembla mentida, ja han passat quatre anys des que vaig començar aquesta tesi amb moltíssima il·lusió. En aquestes línies, m'agradaria agrair el suport rebut al llarg d'aquest temps.

Una persona que mereix un especial agraïment és el Prof. Jordi Puiggalí per haver-me donat la possibilitat de realitzar aquest treball i pel gran interès que sempre ha mostrat per ajudar-me.

A tota la gent que forma aquest fantàstic grup, la Dra. Lourdes Franco per estar sempre que la necessitava i sense la qual la meva estada al laboratori no hagués estat igual, al Dr. Alfonso Rodríguez sempre disposat a donar un desenfadat i simpàtic cop de mà, la Dra. M.Teresa Casas per la seva amabilitat, la Dra. Lourdes Urpí per tot el que he après sobre monocristalls i per les converses tan agradables.

Al grup "veí", el Prof. Joan A. Subirana, la Dra. Lourdes Campos i la Dra. Núria Saperes per la seva acollida al laboratori i per estar sempre disposats a ajudar.

Al José Luis, el Luis i el Sergio pels consells i el suport rebut en diferents aspectes de la informàtica.

Al Dr. Antxon Martínez de Ilarduya per haver realitzat RMN i per estar sempre disposat a ajudar-me amb gran gentilesa en la seva interpretació.

A la Dra. Montse Marsal i al Dr. José M^a Manero per les micrografies de microscòpia electrònica d'escombrat. Al Dr. Lucho del Valle, al Dr. Antonio Gámez y al Dr. Francesc Sepulcre per realitzar els assaigs de biocompatibilitat. A la Dra. Mercè Font-Bardia per la recollida de dades de difracció de monocristalls, així com un record pel Prof. Xavier Solans. Al Dr. Xavier Ramis per les consultes d'anàlisi tèrmica.

I would like to express my gratitude to Prof. Goran Ungar from University of Sheffield, where I worked for three months. During that time he gave me the first lesson working on synchrotron experiments.

I wish to thank all my colleagues in the Department of Engineering Materials at University of Sheffield for their timely help and friendly atmosphere during my stay. Specially, I will be forever grateful to have worked with Dr. Max Shcherbina.

Also, I would like to show my gratitude to Dr. François Fauth and Dra. Ana Labrador of the BM16 station of ESRF for their help with the synchrotron experiments.

No podria oblidar-me de tots companys que he conegut durant aquest llarg camí, sense els quals la meva estada al laboratori no hagués estat tant agradable. A tots ells els he d'agrair alguna cosa en concret, especialment el tracte rebut per part de tots. Per raons d'espai només els podré anomenar. Començaré amb els meus companys de tesi, les ja doctores Montse i Núria, l'Emma, el Raül, el Sebes, la Daniela, l'Elena i la Laura. A la Cintia, que tot i no ser doctoranda del grup mereix una menció especial per tot el que hem compartit durant aquest temps. A tots els que han fet el projecte en el grup: el Manel, el Sergio, l'Ambròs, la Carolina, la Soraya, la Mireia R., la Guía, la Mireya C., la Silvia, la Mireia S. i el David. Finalment, a la Trini i el Pedro.

A tots el membres del departament, que encara que el seu nom no figuri de forma explícita en aquestes línies, d'una manera o una altra, han fet possible la realització d'aquesta tesi.

A tota la meva família. Especialment, als meus pares, la Montse i el Javier, per creure en mi i per totes les possibilitats que sempre m'han donat. Als meus germans, en Xavier i en Francesc, que tot i ser més petits, tenen una paciència infinita amb mi.

A en Jofre, a qui no només agraeixo tot el temps compartit, sinó també el que compartirem. I, sobretot, per entendre'm a la perfecció. Al Josep M^a i l'Elena per acollir-me amb els braços oberts i deixar que entrés a formar part de la seva família.

Sé que hem deixat a molta gent per mencionar, però això no vol dir que me n'hagi oblidat. Sempre guardaré els bons records que aquests anys m'han proporcionat i en els que tots hi sou presents.

Gràcies.

La realització d'aquesta tesi no hagués estat possible sense el finançament del "Ministerio de Ciencia y Tecnología" (Beca FPI: BES-2004-6663). El treball presentat s'emmarca dins els projectes MAT2003-01004 i MAT2006-02406 finançats per la "Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología".

Índice

Abreviaturas y acrónimos	ix
I. Introducción	1
1. Mecanismos de degradación	5
2. Biocompatibilidad y biofuncionalidad	6
2.1. Ensayos de biocompatibilidad <i>in vitro</i>	7
3. Breve historia de los biomateriales	8
4. Biomateriales poliméricos	9
4.1. Polímeros de origen natural	9
4.1.1. Colágeno	9
4.1.2. Ácido hialurónico	10
4.1.3. Alginato	11
4.1.4. Quitosán	12
4.1.5. Polihidroxialcanoatos (PHA)	13
4.2. Polímeros sintéticos	14
4.2.1. Poliésteres	14
4.2.1.1. Poli(ácido glicólico) (PGA)	15
4.2.1.2. Poli(ácido láctico) (PLA)	16
4.2.1.3. Copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico	18
4.2.1.4. Poli(ϵ -caprolactona) (PCL)	19
4.2.2. Polidioxanona (PDO)	20
4.2.3. Copolímeros de bloque de poli(óxido de etileno) y polibutilentereftalato	21
4.2.4. Poliortoésteres	22
4.2.5. Polianhídridos	23
4.2.6. Policarbonatos	23
4.2.7. Polifosfácenos	26
4.2.8. Poliuretanos	28
4.2.9. Polifumaratos	29
4.2.10. Polipirrol y derivados	29
4.2.11. Poliarilatos	30
4.2.12. Poli(éter éster amida)s	30
4.2.13. Poliaminoácidos	31
4.2.14. Poliesteramidas	32

5. Síntesis de polímeros mediante policondensación térmica	
de haluros metálicos.....	33
5.1. Síntesis de poliésteres	33
5.2. Síntesis de poliesteramidas	36
5.1.1. Poliesteramidas de secuencia [glicólico-diamina-glicólico-diácido].....	36
5.1.2. Poliesteramidas de secuencia [glicólico- ω -aminoácido].....	38
6. Aplicaciones biomédicas de los polímeros biodegradables.....	40
6.1. Barreras temporales.....	40
6.2. Dispositivos de liberación de fármacos.....	41
6.3. “ <i>Temporary scaffolds</i> ” (andamios temporales).....	42
7. Estructura supramolecular de polímeros.....	45
8. Determinación de la estructura cristalina.....	48
8.1. Compuestos Modelo.....	50
8.2. Análisis Conformacional.....	50
II. Objetivos.....	51
III. Materiales y métodos.....	55
1. INSTRUMENTACIÓN.....	57
2. DISOLVENTES Y REACTIVOS.....	61
3. MÉTODOS SINTÉTICOS.....	62
3.1. Síntesis de polímeros	62
3.2. Síntesis de compuestos modelo.....	64
4. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA.....	65
4.1. Espectroscopia de infrarrojo	66
4.2. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear	67
4.3. Espectroscopia ultravioleta visible.....	68
4.4. Cromatografía líquida de alta resolución	71
4.5. Medidas de puntos de fusión.....	73
4.6. Evaluación del peso molecular.....	74
4.6.1. Viscosimetría.....	76
4.6.2. Cromatografía de permeación en gel.....	79
4.7. Análisis térmico	80
4.7.1. Calorimetría diferencial de barrido	81

4.7.2. Análisis termogravimétrico	83
4.8. Estudios de solubilidad	84
4.9. Estudios de degradación.....	85
4.10. Determinación de la densidad por el método de flotación.....	86
5. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ESTRUCTURAL.....	86
5.1. Difracción de rayos X	87
5.1.1. Dispersión de rayos X a ángulos bajos (SAXS).....	93
5.1.2. Difracción de rayos X a ángulos altos (WAXD).....	96
5.2. Microscopia electrónica de transmisión.....	96
5.2.1. Morfología cristalina	99
5.2.2. Difracción de electrones	105
5.3. Microscopia electrónica de barrido.....	106
5.4. Estudio de oligómeros modelo.....	107
5.4.1. Obtención de monocristales	107
5.4.2. Recogida de datos.....	109
5.4.3. Resolución y refinamiento de la estructura	111
6. ESTUDIO CINÉTICO DE POLIMERIZACIÓN Y CRISTALIZACIÓN..	113
6.1. Cinética de polimerización.....	113
6.1.1. Cinética de polimerización isotérmica	114
6.1.2. Cinética de polimerización no isotérmica	116
6.2. Cinética de cristalización	118
6.2.1. Cristalización isotérmica y regímenes de cristalización.....	119
6.2.2. Cristalización no isotérmica	125
6.2.2.1. Modelos cinéticos para el análisis del comportamiento	
no isotérmico	125
6.2.2.1.1. Modelo de Avrami.....	125
6.2.2.1.2. Modelo de Ozawa	126
6.2.2.1.3. Modelo de Mo.....	126
6.2.2.1.4. Modelo de Cazé	127
6.2.2.2. Determinación de la energía de activación	127
6.2.2.2.1. Modelo de Kissinger.....	127
6.2.2.2.2. Modelo de Ozawa	129
6.2.2.2.3. Modelo de Friedman.....	129
6.2.2.2.4. Modelo de Vyazovkin.....	130

6.2.3. Picos múltiples de fusión en polímeros	132
6.2.3.1. Teoría del doble pico de fusión.....	132
6.2.3.2. Temperatura de fusión en el equilibrio	133
7. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS	135
7.1. Síntesis y caracterización de microesferas.....	135
7.2. Cinéticas de liberación	138
IV. Resultados.....	141
1. Resumen	143
1. Síntesis del poli[(ácido 4-hidroxi-butanoico)- <i>alt</i> -(ácido glicólico)]	146
2. Síntesis del poli [(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 6-hidroxi-hexanoico)].....	150
3. Cinética de cristalización isotérmica y morfología esferulítica del poli [(ácido 4-hidroxi-butírico)- <i>alt</i> -(ácido glicólico)]	156
4. Estudio de cristalización no isotérmica del poli [(ácido 4-hidroxi-butírico)- <i>alt</i> -(ácido glicólico)]	160
5. Estudio de la cristalización no isotérmica del poli[(ácido 4-hidroxi-butírico)- <i>alt</i> -(ácido glicólico)] mediante experimentos resueltos en el tiempo de SAXS/WAXD	164
6. Estudio de cristalización isotérmica del poli [(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 6-hidroxi-hexanoico)]	168
7. Biodegradabilidad y biocompatibilidad del poli [(ácido glicólico)- <i>alt</i> - (ácido 6-hidroxi-hexanoico)], poli [(ácido 4-hidroxi-butanoico)- <i>alt</i> - (ácido glicólico)] y poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 6-amino-hexanoico)]	173
8. Microesferas de poli[4Hb- <i>alt</i> -Glc] y de poli[Glc- <i>alt</i> -6HH] para la liberación controlada de fármacos.....	176
9. Estudio de compuestos modelo de poliésteres y poliesteramidas derivados del ácido glicólico.....	179
10. Estudio cristalográfico del compuesto Morfolino-2,5-diona	182
2. Poly[(4-hydroxybutyric acid)-<i>alt</i>-(glycolic acid)]: Synthesis by Thermal Polycondensation of Methal Salts of 4-Chlorobutyric Acid Carboxymethyl Ester.....	185
3. Polycondensation of Metal Salts of 6-(2-Chloroacetate)hexanoic Acid: A New Method to Synthesize Alternating Copolyesters Constituted by Glycolic Acid Units.....	201

4. Isothermal Crystallization Kinetics and Spherulitic Morphology of Poly[(4-hydroxybutyric acid)-alt-(glycolic acid)]	215
5. Nonisothermal Crystallization Studies on Poly[(4-hydroxybutyric acid)-alt-(glycolic acid)]	231
6. Estudio de la cristalización no isotérmica del poli[(ácido 4-hidroxibutírico)-alt-(ácido glicólico)] mediante experimentos resueltos en el tiempo de SAXS/WAXD. Modelo preliminar de la estructura	247
7. Isothermal crystallization of poly(glycolic acid-alt-6-hydroxyhexanoic acid) Studied by DSC and Real Time Synchrotron SAXS/WAXD	265
8. Biodegradability and Biocompatibility of Alternating Polyesters and Poly(ester amide)s Containing Glycolic Acid Units	279
9. Microspheres of New Alternating Copolyesters Derived from Glycolic Acid Units for Controlled Drug Release	327
10. Butane-1,4-diyl bis(chloroacetate)	367
11. Butane-1,4-diyl bis(bromoacetate)	373
12. N,N'-Butane-1,4-diyl bis(bromoacetamide)	379
13. Morpholine-2,5-dione	385
V. Conclusions	391
VI. Bibliografía	399

Abreviaturas y acrónimos

ATR	reflectancia total atenuada
BDI	1,4-diisocianato de butilo
CL	ϵ -caprolactona
DLLA	ácido D,L-láctico
DSC	calorimetría diferencial de barrido
FT-IR	espectroscopia de infrarrojo de transformada de Fourier
GlcA	ácido glucurónico
GlcNAc	<i>N</i> -acetilglucosamina
Gly	glicina
GPC	cromatografía de permeación en gel
HA	hidroxiapatita
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
N-VP	<i>N</i> -vinilpirrolidona
PBT	polibutilentereftalato
PCPP	poli(bis(<i>p</i> -carboxifenoxi)propano)
PCL	poli(ϵ -caprolactona)
PDO	polidioxanona
PEEAs	poli(eter éster amida)s
PEC	polietilencarbonato
PEG	polietilenglicol
PEO	poli(óxido de etileno)
PEUU	poli(éster uretano urea)
PDO	polidioxanona
PGA	poli(ácido glicólico)
PHA	polihidroxialcanoatos
PHB	polihidroxibutirato
PHBHHx	copolímeros de de 3-hidroxibutirato y 3-hidroxihexanoato
PHBV	copolímeros de 3-hidroxibutirato y 3-hidroxivalerato
PHO	poli(3-hidroxi octanoato)
PLA	poli(ácido láctico)
PLAGA o PLGA	copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico
poli[4Hb- <i>alt</i> -Glc]	poli[(ácido 4-hidroxibutírico)- <i>alt</i> -(ácido glicólico)]
poli[Glc- <i>alt</i> -6HH]	poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 6-hidroxihexanoico)]
poli[Glc- <i>alt</i> -amh]	poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 6-aminohexanoico)]

poli(Glc-ala)	poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(β-alanina)]
poli(Glc-amb)	poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 4-aminobutanoico)]
poli(Glc-amh)	poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 6-aminohexanoico)]
poli(Glc-amu)	poli[(ácido glicólico)- <i>alt</i> -(ácido 11-aminoundecanoico)]
PMMA	polimetilmetacrilato
PPF	poli(propilen fumarato)
PPHOS	poli[(50 % etilglicinato)(50 % <i>p</i> -metilfenoxi fosfaceno)]
PPy	polipirrol
PSS	poliestirensulfonato
PTMC	politrimetilencarbonato
PVA	alcohol polivinílico
RMN	Resonancia magnética nuclear
SA	anhídrido sebácico
SAXS	dispersión de rayos X a bajo ángulo
SEM	microscopia electrónica de barrido
TEM	microscopia electrónica de transmisión
TGA	análisis termogravimétrico
TMC	trimetilencarbonato
UV-Vis	ultravioleta visible
WAXD	difracción de rayos X a ángulos altos