

Preparación y caracterización de hidrogeles de alcohol polivinílico-*Aloe vera* por radiación gamma

Kety León¹, Julio Santiago^{1,2,*}

¹ Dirección de Investigación y Desarrollo, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

² Facultad de Química e Ing. Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Venezuela S/N, Lima 1, Perú

Resumen

Se ha logrado preparar hidrogeles de alcohol polivinílico con gel de *Aloe vera* utilizando diferentes dosis de radiación gamma, los que fueron caracterizadas por FT-IR y por su grado de hinchamiento. Se han obtenido películas con buenas propiedades mecánicas a partir de 11 kGy. El grado de hinchamiento de estas películas disminuye de 2500 a 1000 % conforme se incrementa la dosis de radiación, pero a partir de 18 kGy ya no varía mucho. La película obtenida a 15 kGy presenta una mayor capacidad absorbente a pH básicos. Estas películas no presentan actividad antimicrobiana pero sí actúan como una barrera eficaz contra microorganismos por lo que tienen potencial para ser utilizados como apósitos para el tratamiento de heridas y quemaduras.

Abstract

Hydrogels of polyvinyl alcohol with *Aloe vera* gel have been prepared using gamma radiation (8-26 kGy), and were characterized by FT-IR and their degree of swelling was determined. Those obtained with doses higher than 11 kGy show good mechanical properties. The degree of swelling of these films decreases from 2500 to 1000 % as the radiation dose increasing, but from 18 kGy it doesn't change too much. The film obtained at 15 kGy has good water absorbent capacity at basic pH. These films have no antimicrobial activity but they act as an effective barrier against microorganisms. This hydrogels have potential to be used as dressings for the treatment of wounds and burns.

1. Introducción

Entre los materiales más promisorios para el tratamiento de heridas difíciles de cicatrizar y quemaduras, se encuentran los hidrogeles en forma de películas [1,2]. Estos materiales son redes tridimensionales que tienen un gran poder absorbente de soluciones acuosas.

Polímeros naturales como la quitina, quitosano, alginatos [3] y carragenanos [4] han sido utilizados para el tratamiento de heridas porque participan de alguna manera en el proceso de cicatrización. Sin embargo, las propiedades mecánicas de estos materiales no son muy buenas, por lo que se combinan con otros polímeros sintéticos biodegradables y biocompatibles como el alcohol polivinílico (PVA) [5], polietilenglicol [6] y polivinilpirrolidona (PVP) [7], entre otros.

En el Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN) hemos desarrollado hidrogeles de PVA-quitosano, entrecruzados por radiación gamma [8,9]. Estas películas actúan como una barrera eficaz para evitar la infección de

las heridas. Adicionalmente, se ha introducido aditivos naturales e inorgánicos para potenciar su actividad biológica. Las películas conteniendo extractos de sangre de grado (*Croton lechleri*) presentaron actividad contra *S. aureus* y buenas propiedades cicatrizantes en quemaduras provocadas en conejos y en cortes en ratones [10]. En cambio, las películas de PVA conteniendo nanopartículas de plata presentaron actividad contra *P. aeruginosa* [11]. Actualmente, se está tratando de reemplazar el quitosano por otro producto natural de menor costo y de propiedades biológicas interesantes. Hemos escogido el *Aloe vera* por su gran disponibilidad en nuestro medio y por sus diversas aplicaciones en la medicina tradicional [12].

El gel extraído de las hojas de *Aloe vera* es muy utilizado en el tratamiento de lesiones a

* Correspondencia autor: jsantiago@ipen.gob.pe

la piel y quemaduras debido a sus propiedades antiinflamatorias, antifúngicas y cicatrizantes [13]. Asimismo, ha sido utilizado en el tratamiento de dermatitis, mucositis y úlceras inducidas por radiación gamma [14]. Se ha demostrado que estimula el crecimiento de fibroblastos y colágeno, promoviendo la cicatrización de heridas y quemaduras e incrementando la resistencia del tejido regenerado. Asimismo, contribuye al incremento del ácido hialurónico en los tejidos [15-17].

Hidrogeles obtenidos a partir de mezclas de PVA, PVP y gel de *Aloe vera* han sido preparados por el método de calentamiento-enfriamiento y utilizando altas dosis de radiación gamma (25-50 kGy). Estos hidrogeles mostraron ser eficientes en la cicatrización de heridas provocadas en ratones [18].

En este trabajo presentamos la preparación y caracterización de hidrogeles de PVA-*Aloe vera* obtenidos a dosis relativamente bajas de radiación gamma (8-26 kGy), comparado con el de la literatura (25-50 kGy), como materiales promisorios para el tratamiento de quemaduras.

2. Experimental

2.1 Generalidades

El *Aloe vera L.* utilizado fue cultivado en el Centro Nuclear de Huarangal. El PVA proviene de Fluka (Mowiol 18-88, viscosidad 26-30 mPa.s, 4% en H₂O a 20 °C). El espectrofotómetro UV-visible Biochrom, modelo Libra S22. El FT-IR marca Nicolet, modelo impact 410. Se utilizó un irradiador gamma marca Nordion, modelo Gammacell 220, con una fuente de cobalto-60.

2.2 Obtención del gel de *Aloe vera*

Se cortó una hoja exterior de una planta de *Aloe vera* a 7 cm del nacimiento de la hoja, se lavó con abundante agua y desinfectó con gasa embebida en alcohol a 70°, se quitó las espinas laterales y los extremos de la hoja. Luego se dividió en 3 trozos y se dejó remojando cada trozo en agua destilada durante 4 días, cambiando el agua cada 24 horas. Con la ayuda de una espátula se arrastró el gel hacia un vaso limpio, evitando raspar demasiado y coger tejido.

2.3 Preparación de los hidrogeles de PVA-*Aloe vera*

Se mezcló una solución de gel de *Aloe vera* en ácido acético 0,1 M (1:4) con una solución acuosa de PVA al 1% (*Aloe vera*-PVA 1:2). Esta solución fue irradiada a las dosis de 3, 5, 8, 11, 15, 18, 20 y 26 kGy.

2.4 Determinación del grado de hinchamiento

Se sumergió un trozo de hidrogel seco de masa determinada, W_s , en un vaso con 20 mL de agua, y se determinó su peso húmedo, W_h , en función del tiempo. El grado de hinchamiento (GH) se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$GH (\%) = (W_h - W_s) / W_s * 100$$

2.5 Evaluación de la actividad antimicrobiana [19, 20]

Estas pruebas fueron realizadas con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, cepas adquiridas del Instituto Nacional de Salud. Los microorganismos fueron cultivados sobre agar casoy en plano inclinado. Se inoculó 3 a 5 colonias sobre caldo casoy (Merck), se homogenizó y se diluyó el cultivo hasta obtener una concentración de 10⁸ UFC/mL. Este inóculo fue sembrado en placas con Agar Muller Hinton, previamente incubadas por 24 horas a 37°C. En las placas sembradas se realizaron excavaciones de 10 mm de diámetro, para colocar las muestras líquidas. En las excavaciones realizadas se sembró aproximadamente 100 µL de muestra. Se dejó difundir por 5 minutos, y luego se incubó a 37 °C por 18 a 24 horas. Luego, se procedió a realizar las lecturas correspondientes.

2.6 Pruebas de permeabilidad

La metodología empleada fue similar a la utilizada por Razzak [21]. El inóculo de cepas bacterianas se preparó en caldo casoy incubado a 37 °C por 18-20 horas. La prueba se realizó de dos maneras, en tubos y en placas.

En placas: se utilizó agar selectivo, EMB para *E. coli* y Baird-Parker para *S. aureus*. Se colocaron las películas de *Aloe vera*-PVA, y sobre ésta se colocó un inóculo del

microorganismo. Se dejó incubando a 37 °C por 7 días.

En tubos: sobre la boca del tubo, conteniendo caldo EC para *E. coli* y Giolitti Cantoni para *S. aureus*, se colocó una película de *Aloe vera*-PVA y se aseguró con cinta. Sobre la película se inoculó el cultivo y se dejó incubando por 7 días, embebiendo constantemente el caldo con la película. Se sembró el mismo inóculo sobre tubo sin película (tubo control).

3. Resultados y Discusión

El tratamiento seguido para la obtención del gel de *Aloe vera* es similar al reportado en la literatura [22], comprobando que luego de cuatro días de lavado ya no quedaban trazas de aloína.

Este gel es insoluble en agua pero se disolvió fácilmente en una solución de AcOH al 1 %, mostrando un comportamiento similar al quitosano.

Para la preparación de las mezclas PVA-*Aloe vera* se tuvo que disolver primero el gel en una solución de AcOH al 1 % antes de mezclarla con la solución de PVA, debido a que el gel no se disolvía completamente en la solución de PVA.

Las películas obtenidas por entrecruzamiento por radiación gamma, presentan propiedades mecánicas diferentes en función de la dosis de radiación. Por debajo de 8 kGy, los materiales obtenidos no tienen consistencia gelatinosa y son muy fluidos. En cambio, a partir de 8 kGy se obtienen películas con buenas propiedades mecánicas, Figura 1.



Figura 1. Hidrogeles de *Aloe vera* - Alcohol polivinílico a las dosis de 8, 11, 15 y 26 kGy.

Todas estas películas presentan el mismo espectro IR, muy similar al espectro IR del PVA (3300 cm^{-1} grupos OH y 1750 cm^{-1} grupos residuales acetato) combinado con picos característicos del gel de *Aloe vera* en 3300 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} y la zona de 1000-1500 cm^{-1} , Figura 2.

La forma de las curvas de hinchamiento varía en función de la dosis a las que se obtuvieron las películas de PVA-*Aloe vera*. Las películas irradiadas a 11 kGy fueron las que alcanzaron más rápidamente su punto de saturación. Luego de 50 minutos de contacto con el agua su grado de hinchamiento fue de 2500%. En cambio, las otras películas obtenidas a dosis de radiación gamma mayores a 15 kGy se saturaron recién después de aproximadamente 200 minutos, Figura 3.

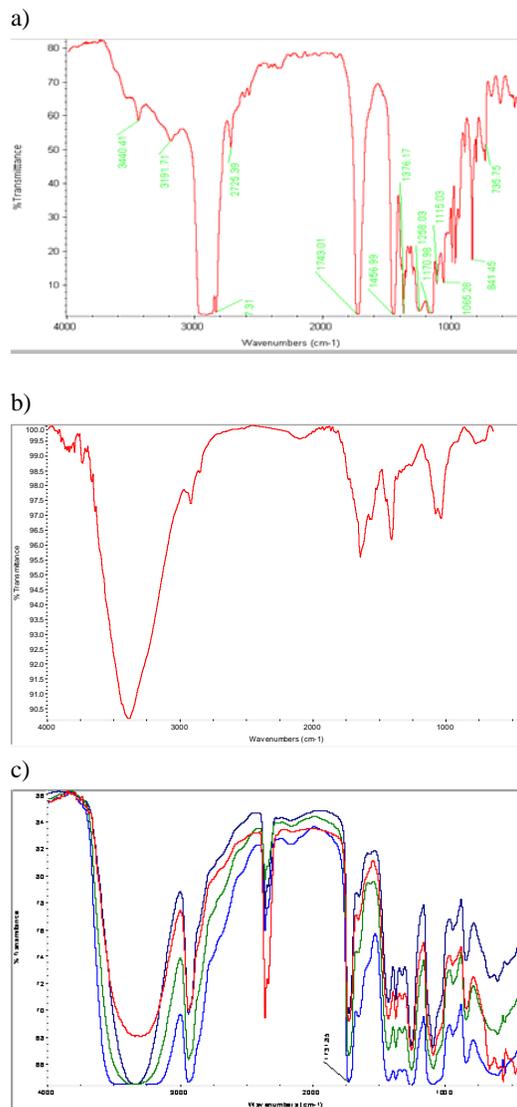


Figura 2. Espectros FT-IR de las películas de: a) PVA, b) *Aloe vera*, y c) hidrogeles de *Aloe vera*-PVA a las dosis de 8, 11, 15 y 26 kGy.

El grado de hinchamiento disminuye desde 2500 % para las películas obtenidas a 11 kGy hasta 1000 % para las obtenidas a 18 kGy,

para mantenerse casi constante con el incremento de radiación gamma, Figura 3. Este comportamiento difiere del observado en los hidrogeles de PVA-PVP-*Aloe vera* en el que el grado de hinchamiento continúa disminuyendo en función de la dosis de radiación. En cambio, los hidrogeles de PVP-PVA-*Aloe vera* presentan un grado de hinchamiento mucho mayor, 4500 %, debido principalmente a la presencia del PVP [18].

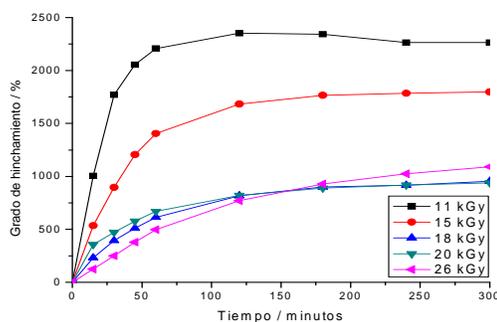


Figura 3. Grado de hinchamiento de los hidrogeles de PVA-*Aloe vera* obtenidos por irradiación gamma, 11, 15, 18, 20 y 26 kGy.

La velocidad de absorción de agua aumenta con el pH del medio para el caso de las películas obtenidas a 15 kGy. A partir de pH 7, las películas alcanzan su punto de saturación en 75 minutos. En todos los demás casos, el tiempo para alcanzar la saturación se mantiene alrededor de 200 minutos.

La integridad de las películas durante el proceso de hinchamiento fue evaluada por la pérdida de masa luego de cada proceso de hinchamiento. Las películas irradiadas a bajas dosis fueron las que más masa perdieron. Las que fueron irradiadas a 15 kGy perdieron hasta un 20 % de masa en el primer proceso mientras que en el segundo no se observó disminución de masa. En cambio, las que fueron irradiadas a 20 kGy no mostraron ninguna variación de su masa inicial en ninguno de los ciclos de hinchamiento.

3.1 Evaluación de la actividad antimicrobiana

Estas pruebas fueron realizadas para las películas de PVA-*Aloe vera* y a sus soluciones respectivas. A las 24 horas de lectura se observa que las películas obtenidas, a diferentes dosis de radiación, no presentan actividad antimicrobiana frente a *E. coli*,

Figura 5a. Una situación similar se observa para la cepa de *S. aureus*. Para el caso de las soluciones utilizadas para preparar los hidrogeles, la solución acuosa de ácido acético al 1 % presentó un halo tenue, lo que se manifiesta también en la solución acética de *Aloe vera* (L), Figura 5b.

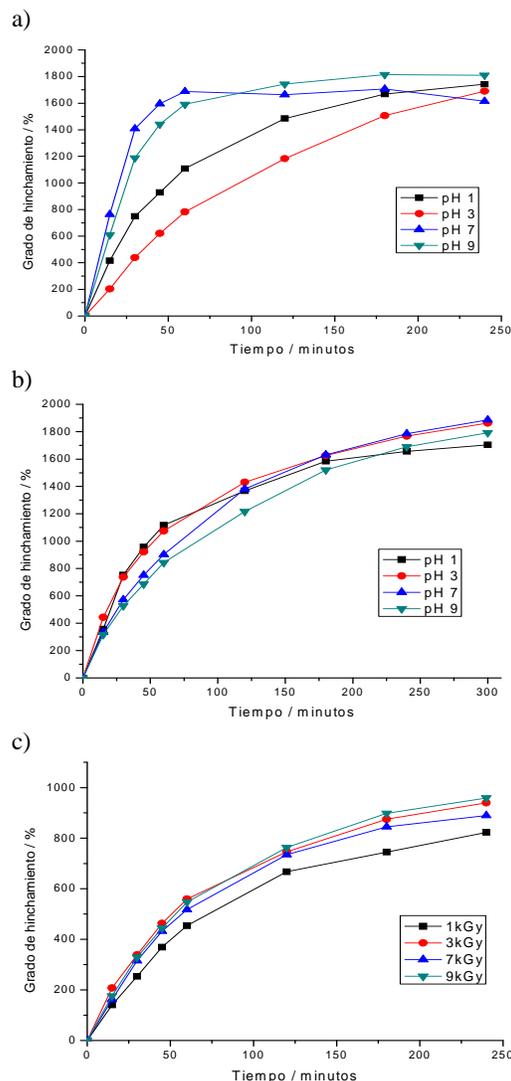


Figura 4. Grado de hinchamiento de los hidrogeles de PVA-*Aloe vera* a diferentes pH: a) 15, b) 18 y c) 20 kGy.

3.2 Evaluación de la permeabilidad

En placas: Luego de 24 horas, se observa que las colonias de *S. aureus* crecen encima de la película, pero no llegan a atravesar la película, inclusive luego de 7 días. En efecto, al quitar las películas de su ubicación inicial no se observó el crecimiento característico de las colonias de *S. aureus* en el medio utilizado, Figura 6. Esta prueba se hizo con

una película completamente extendida y otra enrollada (menor superficie de contacto y mayor oxigenación). Lo que si se observa, es que hay difusión de los componentes del medio de cultivo a través de la película, por el crecimiento característico de la bacteria encima de la película. En el caso de *E. coli*, tampoco se observó crecimiento por debajo de las películas.

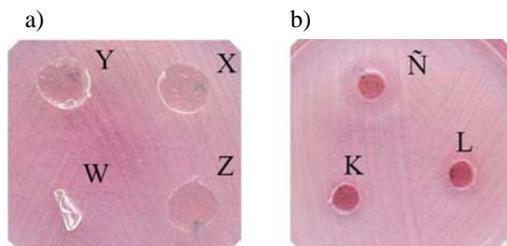


Figura 5. a) Actividad antimicrobiana de hidrogeles de Aloe vera-PVA obtenidos a diferentes dosis de radiación: 12, 15, 18 y 26 kGy (W, X, Y, Z respectivamente), b) PVA al 10 %, solución acética de Aloe vera y solución de ácido acético (K, L, Ñ respectivamente) frente a *E. coli*.

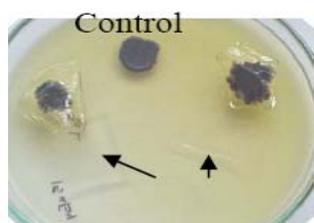


Figura 6. Prueba de permeabilidad frente a *S. aureus* luego de 7 días. Las flechas indican la posición inicial de las películas.

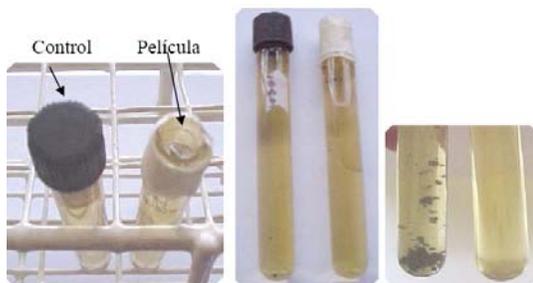


Figura 7. Prueba de permeabilidad frente a *S. aureus* a las 24 horas (centro) y a los 7 días (derecha).

En tubos: se observa la presencia de *S. aureus* por el ennegrecimiento del tubo control debido a la reducción, por parte de la bacteria, del telurito presente en el medio de cultivo, Figura 7. En el tubo conteniendo la película en su parte superior, no se encontró evidencia de crecimiento a pesar de tener la película embebida con el caldo de cultivo,

inclusive luego de 7 días, indicando que las bacterias no atravesaron la película de PVA-Aloe vera.

4. Conclusiones

El entrecruzamiento de las cadenas de PVA y del gel de Aloe vera se logra a partir de 11 kGy. El grado de hinchamiento de estas películas disminuye de 2500 a 1000 % conforme se incrementa la dosis de radiación; sin embargo, a partir de 18 kGy ya no varía mucho. La película obtenida a 15 kGy presenta una mayor capacidad absorbente a pH básicos. Estas películas no presentan actividad antimicrobiana pero sí actúan como una barrera eficaz contra microorganismos por lo que tienen potencial para ser utilizados como apósitos para el tratamiento de heridas y quemaduras.

5. Agradecimientos

Al Lic. J. Vargas e Ing. M. Linares por el servicio de irradiación gamma brindado. A la Planta de Producción de Radioisótopos, por proporcionarnos las cepas microbianas y los medios de cultivo.

6. Bibliografía

- [1] Vanderhooft J, Alcoutlabi M, Magda J, Prestwich G. Rheological Properties of Cross-Linked Hyaluronan-Gelatin Hydrogels for Tissue Engineering. *Macromolecular Biosciences*. 2009; 9:20-28.
- [2] Klouda L, Mikos A. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008; 68:34-45.
- [3] Paul W, Sharma C. Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*. 2004; 18:18-23.
- [4] Mohamadnia Z, Zohuriaan-Mehr M, Kabiri M, Jamshidi A, Mobedi H. pH-Sensitive IPN Hydrogel Beads of Carrageenan-Alginate for Controlled Drug Delivery. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 2007; 22:342-56.
- [5] Kim J, Choi J, Park J, Kim J, Jin S, Chang S, Li D, Hwang M, Woo J, Kim J, Lyoo W, Yong C, Choi H. Development of Clindamycin-Loaded Wound Dressing with Polyvinyl Alcohol and Sodium Alginate. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*.

- 2008; 31:2277-82.
- [6] Felinto M, Parra D, da Silva C, Angerami J, Oliveira M, Lugao A. The swelling behavior of chitosan hydrogels membranes obtained by UV- and γ -radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 2007; 265:418–24.
- [7] Maolina Z, Hongfei H, Yoshii F, Makuuchi K. Effect of kappa-carrageenan on the properties of poly(N-vinyl pyrrolidone)/kappa-carrageenan blend hydrogel synthesized by γ -radiation technology. *Radiation Physics and Chemistry*. 2000; 57:459-64.
- [8] Carhuapoma W, Santiago J. Preparación de hidrogeles de quitosano-PVA por radiación gamma. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2005; 71:185-92.
- [9] Carhuapoma W, Santiago J. Caracterización de hidrogeles de quitosano-alcohol polivinílico obtenidos por radiación gamma. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2006; 6:333-46.
- [10] Rojas N, León K, Villacaqui E, Santiago J. Tratamiento de quemaduras con películas de quitosano-alcohol polivinílico conteniendo sangre de grado: Estudio preliminar. En: Instituto Peruano de Energía Nuclear. Informe Científico Tecnológico 2007. Lima: Perú; 2008. p. 211-215.
- [11] Cabrera Sotelo, JG. Hidrogeles de PVA-PVP conteniendo nanopartículas de plata obtenidos por radiación gamma. [Tesis para optar el grado de Magister en Ciencias]. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 2009.
- [12] Reynolds T, Dweck A. Aloe vera leaf gel: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999; 68:3-37.
- [13] Davis R, Stewart G, Bregman P. *Aloe vera* and the inflamed synovial pouch model. *Journal of American Podiatric Medical Association*. 1992; 82:140-48.
- [14] Richardson J, Smith J, McIntyre M, Thomas R, Pilkington K. Aloe Vera for Preventing Radiation-induced Skin Reactions: A Systematic Literature Review. *Clinical Oncology*. 2005; 17:478–84.
- [15] Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on collagen turnover in healing of dermal wounds in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 1998; 36:896-901.
- [16] Chithra P, Sajithlal G, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on collagen characteristics in healing dermal wounds in rats. *Molecular Cell Biochemistry*. 1998; 181:71-76.
- [17] Chithra P, Sajithlal G, Chandrakasan G. Influence of Aloe vera on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998; 59:179-86.
- [18] Park K, Nho Y. Preparation and Characterization by Radiation of Hydrogels of PVA and PVP Containing *Aloe Vera*. *Journal of Applied Polymer Science*. 2004; 91: 1612–18.
- [19] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1975). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M2-A7 ASM-2. NCCLS.
- [20] NCCLS. Performance standards of antimicrobial susceptibility testing. 2002; document No. NCCLS M100-S12.
- [21] Razzak M, Zainuddin, Erizal, Dewi S, Lely H, Taty E, Sukirn. The characterization of dressing component materials and radiation formation of PVA-PVP hydrogel. *Radiation Physics and Chemistry* 1999; 55: 153-65.
- [22] Castro E, Robles A. Procesamiento y caracterización del gel de *Aloe vera* para la elaboración de hidrogeles. En: Instituto Peruano de Energía Nuclear. Informe Científico Tecnológico 2006. Lima: Perú; 2007. p. 235-241.