

## EFEITO DO TEOR DE HIDROXIAPATITA EM PCL<sup>1</sup>

Leandra Marcon<sup>2</sup>, Marindia Decol<sup>3</sup>, Marcia Margarete Meier<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Vinculado ao projeto Compósito biorreabsorvível para regeneração óssea.

<sup>2</sup> Acadêmico (a) do Curso de Licenciatura em Química – CCT – Bolsista PIBIC/CNPq

<sup>3</sup> Departamento de Química - UDESC. – CCT.

<sup>4</sup> Orientador), Departamento de Química – CCT- marcia.meier@udesc.br

Apenas no ano de 2020, 2,4 milhões de componentes de próteses dentárias e cerca de 800 mil implantes foram colocadas, segundo a Associação da Indústria Médica, Odontológica e Hospitalar (Abimo, 2021). Na Europa se busca por alternativas que visam a substituição de implantáveis metálicos temporários, que necessitam de segunda intervenção cirúrgica para remoção, utilizando materiais livres de metal, a base de polímeros e cerâmicas biorreabsorvíveis ou seus compósitos. Neste contexto, a hidroxiapatita (HAp) é um bom candidato pois é um mineral encontrado em tecidos duros como ossos e dentes, proporciona rigidez e resistência mecânica, motivo pelo qual é muito estudada (Al-Sanabani, Madfa e Al-Sanabani, 2013; Balhuc, Campian, et al., 2021). No entanto, a hidroxiapatita como cerâmica é frágil, não possui as propriedades mecânicas necessárias para criar peças complexas para implantes ósseos. Todavia, a combinação de HAp com policaprolactona (PCL), permite a fabricação precisa de peças complexas, utilizando partículas micrométricas ou nanométricas de HAp.

O objetivo deste projeto foi analisar o impacto da quantidade de hidroxiapatita em compósitos formados por um material polimérico biorreabsorvível e biocompatível, a poli (caprolactona) (PCL). Para isso, foram analisados o tempo de degradação dos compósitos *in vitro*, o efeito da funcionalização da superfície das partículas de HAp e suas características morfológicas e químicas.

O estudo comparou diferentes concentrações de HAp no compósito de HAp/PCL: 50/50, 60/40, 70/30 (m/m), tanto com o mineral funcionalizado (HApf) quanto não funcionalizada. Devido ao caráter hidrofílico da hidroxiapatita, a funcionalização de sua superfície foi necessária utilizando 3-glicidiloxipropiltrimetoxissilano (nome comercial Glymo) para garantir a dispersão uniforme das partículas na matriz polimérica apolar. Essas amostras foram preparadas em etapas anteriores a este projeto. O comportamento desses compósitos foi avaliado em um meio simulado que imita o ambiente corporal, tampão fosfato em pH 8,7 simulando situação em que a fosfatase alcalina está atuando em processo de regeneração óssea. O tempo de biorreabsorção foi acompanhado *in vitro* mantendo corpos de prova armazenados em 5 mL do tampão. Também foram analisados os efeitos morfológicos da funcionalização da hidroxiapatita no meio polimérico para verificar a eficácia da funcionalização e as propriedades do material final.

A metodologia de Savicki (2022) foi adaptada para a síntese de hidroxiapatita, utilizando ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), preservando a razão molar Ca/P em 1,67, acompanhado de tratamento térmico. O produto resultante foi caracterizado por Espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), modelo IINVENIO-S, marca Bruker, utilizando o método de reflectância total atenuada (ATR), com os valores medidos no intervalo de 400-4000 cm<sup>-1</sup> com 4 cm<sup>-1</sup> de resolução e 32 varreduras.

Para o ensaio de biorreabsorção e solubilidade *in vitro* dos compósitos de hidroxiapatita e PCL, foi necessário confeccionar uma solução tampão de fosfato com pH 8,7, preparada com a solubilização de 9 g de cloreto de sódio (NaCl) e 7 g de fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) em água descarbonatada, utilizando um balão volumétrico de 1 litro. A solução teve a adição de 3 g de NaOH, ajustando o pH para chegar a 8,7, ideal para avaliação da biossolubilidade das amostras de HAp/PCL e HApf/PCL. Esse pH simula o ambiente que ocorre no corpo humano durante a osseointegração.

Em etapas anteriores a este projeto, preparou-se por termomoldagem seis grupos de compósitos de PCL com hidroxiapatita funcionalizada em proporções de 50/50, 60/40 e 70/30, além do grupo de PCL pristine (puro) como controle. Essas amostras foram utilizadas para realizar o ensaio de biorreabsorção *in vitro*, a fim de garantir massas similares, foram cortadas em tamanhos parecidos e foram pesadas em uma balança micro analítica de alta precisão (Sartorius, QUINTIX35-10BR). Em seguida, foram lavadas com etanol para retirada de impurezas superficiais e colocadas em frascos plásticos esterilizados para, então secarem sob pressão reduzida. Os ciclos de secagem foram realizados até que a massa de cada corpo de prova fosse estabilizada. Em todos os frascos foi adicionado 5 mL da solução pH 8,7 descrita anteriormente e as amostras foram alocadas em uma estufa em torno de 37°C. O procedimento incluiu pesagem consequente após 15 dias, pesando as amostras úmidas, seguido de novos ciclos de secagens e posterior pesagem seca, repetindo o mesmo processo com 37 e 65 dias.

Para analisar o efeito da funcionalização na integração da HAp com PCL, o polímero do compósito foi extraído utilizando CHCl<sub>3</sub> em três lavagens, sendo levado para secagem em estufa (70°C, 24 horas). Na sequência, as amostras foram analisadas por FTIR, também utilizando o método de ATR. A análise das características morfológicas da superfície das amostras submetidas ao ensaio de biorreabsorção *in vitro* foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV, Neo Scope, JCM-7000), para isso, utilizou-se 15 kV com ampliações variando entre 700x e 5000x.

O PCL é um material apolar, enquanto HAp é um material polar, o que naturalmente dificulta a interação entre eles. Por sua vez, Glymo, ou 3-glicidiloxi propiltrimetoxisilano, atua como um intermediário eficaz nessa interface, graças à sua capacidade de formar ligações covalentes devido a reação química entre o anel oxirano do Glymo com as terminações de ácido carboxílico da PCL e entre os grupos siloxanos e as hidroxilas da HAp (Fig 1). Isso resulta em uma interação mais estável e uma dispersão uniforme das partículas de HAp na matriz polimérica. Consequentemente, o uso do Glymo assegura uma melhor integração da HAp com o PCL. A funcionalização da hidroxiapatita (HAp) com Glymo, foi imprescindível para melhorar a interação com o PCL, devido às diferenças de polaridade entre os dois.

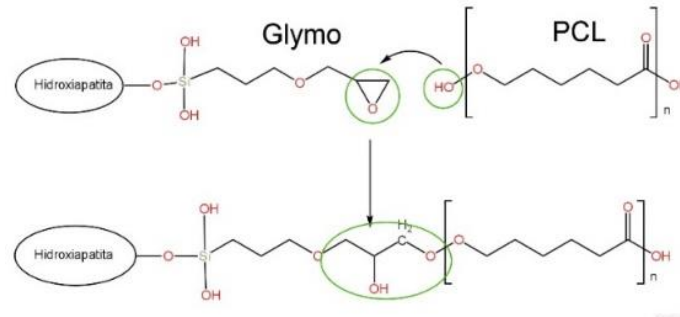
Analisando as imagens de MEV (Fig 2), é notório que há uma grande diferença dos aspectos morfológicos entre o polímero puro e os compósitos HAp/PCL. Ao comparar as imagens do PCL puro com as demais, nota-se que houve o rompimento do polímero durante a crio-fratura, gerando filamentos de polímero (figura 2a).

Já nas partículas do compósito HAp/PCL 50/50 não funcionalizado, observa-se fragmento de micropartículas de hidroxiapatita expostas (figura 2d), além de vazios onde ocorreu o arrancamento das partículas, deixando cavidades de tamanho significativo (figura 2c), fruto da baixa adesão entre partícula e polímero

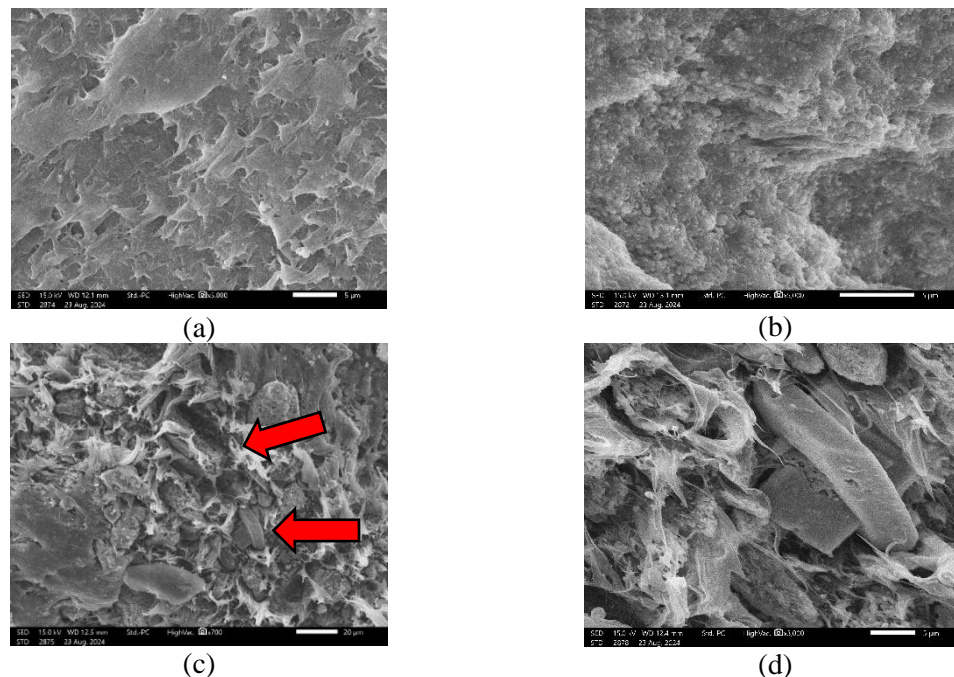
Ao analisar a figura 2b referente ao compósito HApf/PCL funcionalizado, não se observa partículas de HAp expostas ou arrancadas, ou seja, o polímero está envolvendo intimamente as partículas, fruto da compatibilidade dada pelo Glymo aplicado na superfície da HAp.

Os resultados de biorreabsorção *in vitro* realizado em pH 8,7 (figura 3a) mostram que não houve diferença entre os grupos testados, demonstrando assim que o teor de HAp e sua funcionalização com Glymo não tiveram efeito no perfil de biorreabsorção e hidrólise.

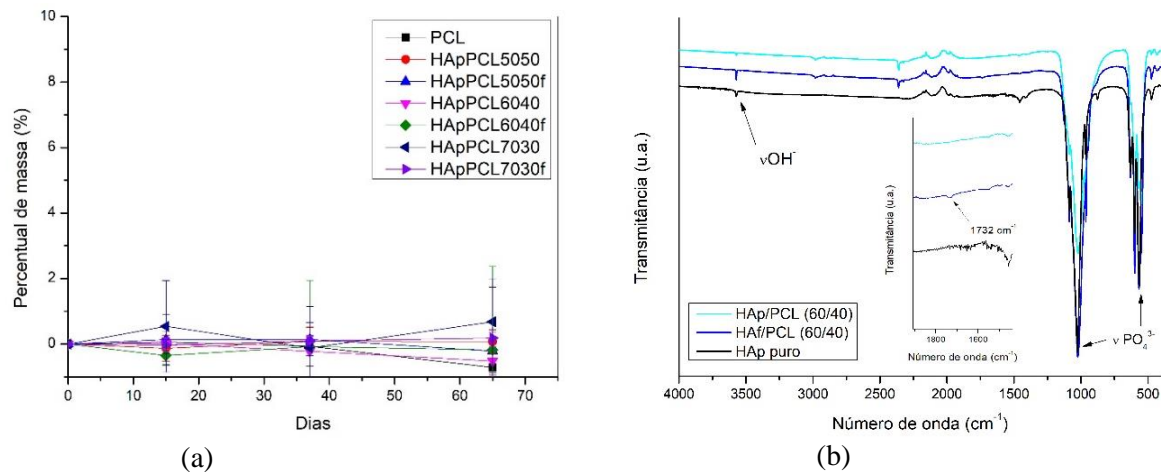
Com o objetivo de trazer evidências da formação da ligação covalente entre HAp e PCL, mediada por Glymo, analisou-se as partículas de HAp recuperadas depois de extrair a PCL com o solvente clorofórmio. Ao analisar os espectros de FTIR, foi notada uma banda em  $1732\text{ cm}^{-1}$  (figura 3b), sugerindo assim a existência de grupamento éster da PCL na superfície da HAp que não foi removida após a lavagem apropriada, mostrando assim, o efeito da funcionalização.



**Figura 1.** Ilustração da reação entre HAp e PCL mediada por Glymo.



**Figura 2.** Imagens de MEV da superfície da fratura criogênica após 70 dias de ensaio de biorreabsorção *in vitro*: (a) PCL; (b) HAf/PCL 50/50; (c,d) HAp/PCL 50/50.



**Figura 3.** (a) Resultados de perda de massa dos compósitos durante o ensaio de biorreabsorção *in vitro* dos compósitos de HAp/PCL em tampão fosfatos pH 8,7; (b) sobreposição dos espectros de FTIR da HAp antes e após extração da PCL com  $\text{CHCl}_3$ .

**Palavras-chave:** Biorreabsorção. Hidroxiapatita. Policaprolactona.

### Referências

- SAVICKI, C. Produção de hidrogéis de Hidroxiapatita/Colágeno Tipo I como sistemas de bioativação e liberação dos antibióticos doxiciclina e cefalexina. Universidade do Estado de Santa Catarina. Joinville, p. 200. 2022.
- AL-SANABANI, J. S.; MADFA, A. A.; AL-SANABANI, F. A. Application of Calcium Phosphate Materials in Dentistry. *International Journal of Biomaterials*, 2013. 1-12.
- ABIMO. Relatório Setorial. São Paulo, SP: [s.n.]. Disponível em: <[https://abimo.org.br/docs/ABIMO\\_Relatorio-Setorial\\_2021-22.pdf](https://abimo.org.br/docs/ABIMO_Relatorio-Setorial_2021-22.pdf)>