

BIOCOMPÓSITOS BASEADOS EM HIDROGÉIS POLIMÉRICOS E HIDROXIAPATITA

M. E. Leyva¹, M.V. Surmani², A . A . A. de Queiroz¹, A. H. A Bressiani², J. C.
Bressiani²,

Av. BPS 1303, Pinheirinho, Itajubá – MG, CEP37505-903:
(elena.leyva1970@gmail.com.br)

¹Universidade Federal de Itajubá, Departamento de Física e Química, Itajubá, MG –
Brasil

²Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais, Instituto de Pesquisas Energéticas e
Nucleares, São Paulo, SP – Brasil.

Biocompósitos baseados em hidrogéis tem amplas aplicações em biomedicina e bioengenharia, eles podem ser utilizados como sistemas de liberação controlada de fármacos (LCF), implantes ósseos, matriz extracelular para cultivo de tecidos, entre outras aplicações. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar sistemas poliméricos entrecruzados baseados em hidrogéis de poli(N-isopropilacrilamida-co-N,N´metilenobisacrilamida) (PNIPAM) e seus biocompósitos, contendo hidroxiapatita (PNIPAM-HA). A síntese dos hidrogéis de PNIPAM na presença da hidroxiapatita foi realizada através de polimerização radicalar. Os biocompósitos PNIPAM-HA 70/30, 50/50 e, 60/40 (% em massa) preparados foram caracterizados pelas seguintes técnicas: FTIR-ATR, análise térmica (TGA), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e, difração de raios-X. Também foi avaliada a densidade e porosidade aparente dos biocompósitos e, estudado o intumescimento a 25 e 40^oC. Os resultados obtidos por FTIR demonstram que existe interação entre o hidrogel e a biocerâmica. Por MEV foi observada uma superfície porosa em todos os biocompósitos, porém a porosidade diminui com o aumento da concentração de HA. Por DRX tem-se que a estrutura cristalina hexagonal da HA não foi modificada durante a síntese do hidrogel. Os dados de densidade e porosidade aparente dos biocompósitos mostram o aumento da densidade à medida que aumenta o teor de HA e na mesma proporção se observa uma diminuição da porosidade.

Palavras-chave: hidrogel, Poli(N-isopropilacrilamida), hidroxiapatita, biocompósito,

INTRODUÇÃO

Os Hidrogéis poliméricos podem ser definidos como estruturas poliméricas tridimensionais, altamente hidrofílicas, que absorvem grandes quantidades de água ou fluidos biológicos. Estes sistemas poliméricos funcionam como membranas internamente porosas constituídas por água ou fluido biológico e determinados solutos (fármacos) no interior da rede, sendo a água e os poros os que possibilitam a difusão seletiva de solutos através da membrana.[1] Estas características fazem que estes materiais sejam amplamente utilizados como biomateriais em diversas aplicações, tais como: engenharia de tecidos, regeneração e reparação de órgãos e em sistemas de libertação controlada de fármacos em locais específicos do corpo.

Os hidrogéis inteligentes são materiais que possuem as características dos hidrogéis convencionais, mas que apresentam respostas diferenciadas de acordo com estímulos externos. Dentre os hidrogéis inteligentes temos a poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) que varia sua estrutura com a temperatura. Portanto, este hidrogel é chamado de termossensível. O PNIPAM é insolúvel acima de uma temperatura crítica, ou seja, apresenta um diagrama de fase de solubilidade conhecido como LCST (low critical solution temperature) ou temperatura de solução crítica inferior.[1]

A hidroxiapatita é uma biocerâmica amplamente usada na área biomédica, na reconstituição e preenchimento de cavidades ósseas, devido a suas propriedades de bioatividade e bom comportamento mecânico. Os biocompósitos baseados em hidrogéis poliméricos e biocerâmicas são biomateriais promissores para o reparo da cartilagem articular e, na engenharia de tecidos. A combinação destes materiais é satisfatória em aplicações biomédicas do ponto de vista biológica e fisicamente considerando as propriedades mecânicas do biocompósito. Do ponto de vista biológico o hidrogel mimetiza a cartilagem articular, se consideramos que este tecido é hiperhidratado (conteúdo de água entre 66 a 80%). De igual forma a hidroxiapatita além de seu carácter bioativo contribui na resistência mecânica especificamente na resistência à compressão e cisalhamento. [2, 3]

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma biocompósito constituído pela matriz polimérica poli(N-isopropilacrilamida) PNIPAM e hidroxiapatita como princípio bioativo para o tratamento de lesões cartilagenosas. O biomaterial estudado se enquadra na categoria de implante de preenchimento devido ser o PNIPAM um polímero não biodegradável e à similaridade física e biológica do biocompósito PNIPAM/HA com a cartilagem, entre as que podemos destacar: manutenção do fluxo de fluidos corpóreos, elevada capacidade de incorporação de água em sua estrutura, baixo coeficiente de atrito e, propriedades mecânicas adequadas.[4]

A síntese dos hidrogéis de PNIPAM foi realizada quimicamente através de polimerização radicalar. Os biocompósitos PNIPAM/HA foram obtidos "in situ" durante a polimerização dos respectivos monômeros. Os sistemas PNIPAM/HA preparados foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas de FTIR-ATR, análise térmica (TGA), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e, difração de raios-X (DRX). Também foi avaliada a densidade e porosidade aparente dos biocompósitos e, estudado o intumescimento a 25 e 40°C

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados no desenvolvimento do biocompósito foram:

- Monômeros, sem prévia purificação, N-isopropilacrilamida (NIPAM) e, N,N'-metileno(bis)acrilamida (MBAAM) da Sigma Aldrich.
- Sistema redox iniciador da polimerização radicalar a temperatura ambiente, persulfato de amônio (APS) da Sigma Aldrich e a N, N, N', N'- Tetrametiletildiamina (TEMED) ReagentPlus0, 99%, Sigma Aldrich.
- Hidroxiapatita, fosfato tribásico de cálcio ~ 37% Ca da Strem Chemicals.

A preparação dos biocompósitos (PNIPAM/HA) foi realizada dispersando a hidroxiapatita na solução aquosa do monômero (NIPAM) 1 M e comonômero

(MBAAM) 0,05 M. Posteriormente foi adicionada a solução aquosa do iniciador (APS) 0,01 M e o ativador (TEMED) 0,02 M. Os biocompósitos foram preparados usando a razão PNIPAM/HA (% em massa 100/0, 70/30, 50/50, 40/60).

A análise espectroscópica FTIR foi realizada no equipamento Spectrum 100, Perkin-Elmer, utilizando acessório de refletância total atenuada (ATR) constituído por um cristal misto “diamante/ZnSe”. A densidade e porosidade aparente dos biocompósitos PNIPAM/HA foi medida por imersão em água (Arquimedes). As micrografias foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura, JEOL JSM-5300, com uma voltagem de 15 kV. A caracterização por difração de Raios-X foi realizada em difratômetro de Raios-X Rigaku, modelo multiflex com radiação de $\text{CuK}\alpha$, com $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$, e varredura entre 50 a 50° . As amostras foram analisadas sem tratamento prévio. Para o estudo do intumescimento, o hidrogel puro e os biocompósitos foram submersos em água destilada a duas temperaturas, 25°C e 40°C . O grau de intumescimento (W_s) no tempo até o equilíbrio foi calculado usando a Eq. (1).

$$W_s = (w_i - w_s) / w_s \quad (1)$$

Onde w_i corresponde ao peso do hidrogel no tempo e w_s refere-se ao peso do hidrogel seco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 (A&B) mostra comparativamente o espectro FTIR-ATR do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA 70/30, 50/50, 40/60. Pode-se observar que não existem mudanças significativas nas bandas de vibração dos biocompósitos em relação ao PNIPAM puro. A banda em torno de 1638 cm^{-1} (Amida I) corresponde à vibração carbonílica $\nu_{\text{C=O}}$. A banda ν_{NH} é observada em torno de 1534 cm^{-1} (Amida II). A banda de vibração ($\sim 3570 \text{ cm}^{-1}$) da ligação –O-H livre é observada nos biocompósitos, e com maior intensidade naquele que apresenta o maior teor de hidroxiapatita, PNIPAM/HA 40/60. As bandas relativas ao fosfato são observadas nos biocompósitos em torno de 962 cm^{-1} , 1028 cm^{-1} e 1089 cm^{-1} . As bandas Amida I e Amida II se deslocam ligeiramente

a menor número de onda, nos biocompósitos, o que sugere interação entre a hidroxiapatita e a matriz do hidrogel.

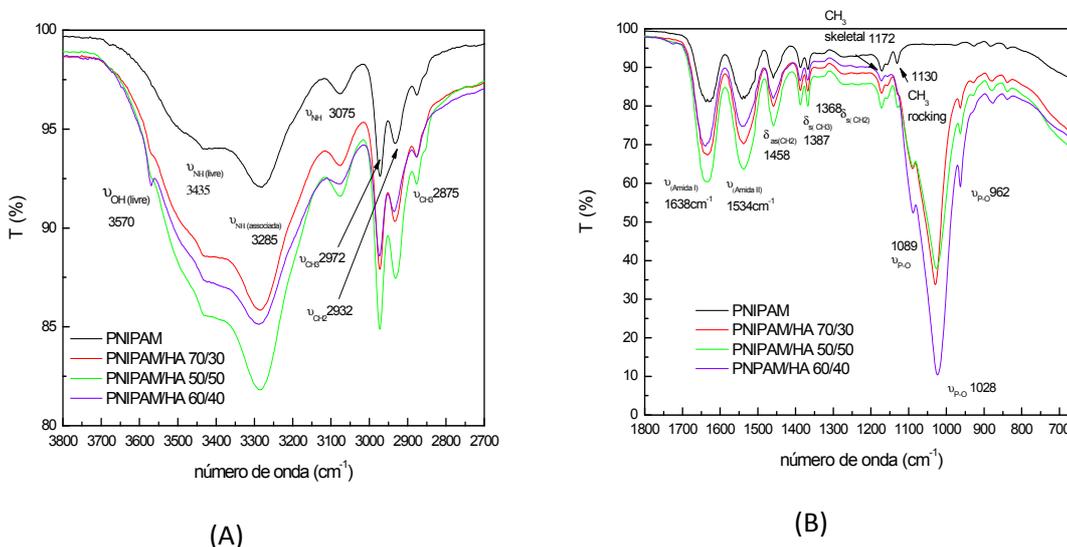


Figura 1. (A&B). Espectro FTIR-ATR comparativo do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA 70/30, 50/50, 40/60.

A Figura 2 mostra os resultados da análise térmica do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA. Podemos observar que as amostras contêm alto teor de umidade e que a matriz do hidrogel degrada completamente até 450°C, a degradação começa em torno de 397°C para o PNIPAM e nos biocompósitos a degradação se inicia a temperaturas ligeiramente mais baixas. O resíduo de material no degradado até 800°C corresponde à hidroxiapatita, este valor coincide com o conteúdo de HA incorporado à matriz.

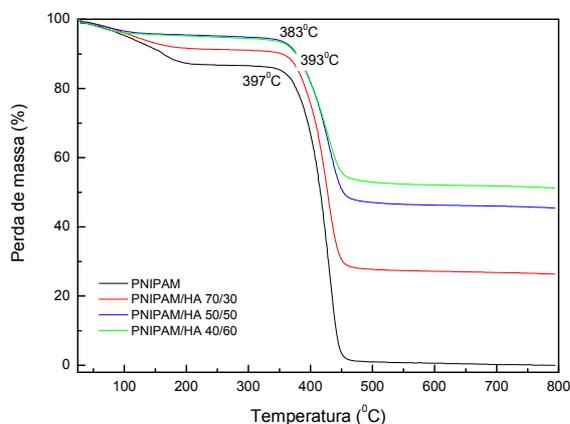


Figura 2. Análise térmica (TGA) comparativo do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA 70/30, 50/50, 40/60.

A Figura 3 mostra a micrografia da microscopia eletrônica do PNIPAM e do biocompósito PNIPAM/HA 70/30. Podemos observar na amostra intumescida (Fig.3B) o alto nível de porosidade do PNIPAM, a morfologia da matriz representa uma estrutura tridimensional semelhante a um coral.

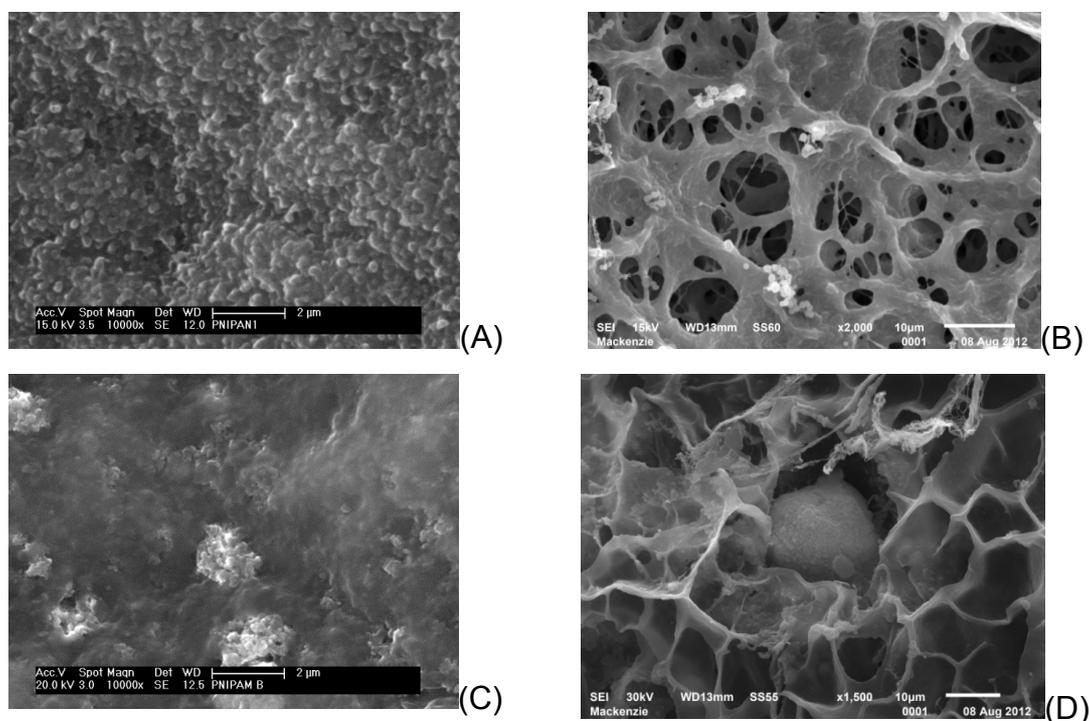


Figura 3. MEV do PNIPAM sem intumescer (A) e intumescido no equilíbrio (B), MEV do biocompósito PNIPAM/HA 70/30 sem intumescer (C) e intumescido no equilíbrio (D).

Na micrografia do biocompósito PNIPAM/HA 70/30 podemos observar agregados de hidroxiapatita (Fig.3 C&D). Mas uma maior proporção da HA está misturada homogeneamente na matriz fazendo parte da rede tridimensional do hidrogel. Observa-se que a porosidade se mantém no biocompósito, porém esta é menor se comparada à porosidade observada no PNIPAM. A Tabela 1 mostra a densidade e porosidade aparente do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA.

Os resultados da densidade e porosidade aparente estão em correspondência com o observado no MEV. A densidade aparente aumenta com o aumento da concentração de HA e na mesma medida diminui a porosidade aparente dos biocompósitos.

Tabela 1. Densidade e porosidade aparente do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA.

Amostra	Densidade aparente (g/cm ³)	Porosidade aparente (%)
PNIPAM	0,09	91,33
PNIPAM/HA 70/30	0,14	89,54
PNIPAM/HA 50/50	0,16	90,16
PNIPAM/HA 40/60	0,19	89,33

A Figura 4 mostra o espectro de difração de raios-X para o PNIPAM e os biocompósitos PNIPAM/HA 70/30 e 50/50.

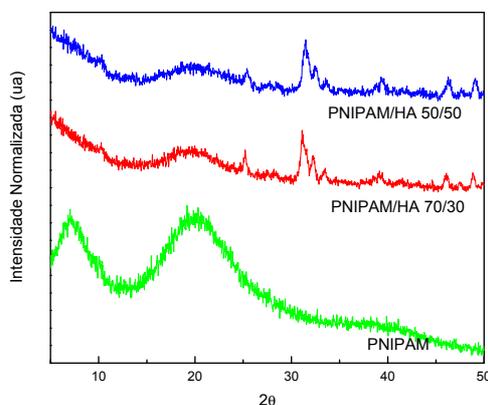


Figura 4. DRX do PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA 70/30 e 50/50.

Podemos observar que os biocompósitos apresentam os picos de difração relativos à hidroxiapatita comercial utilizada (estrutura cristalina hexagonal). O que demonstra que a HA não participa na reação de polimerização do PNIPAM mantendo sua estrutura cristalina no biocompósito.

Na Figura 5 são apresentados os resultados obtidos no estudo do intumescimento no tempo para a PNIPAM e os diferentes biocompósitos PNIPAM/HA.

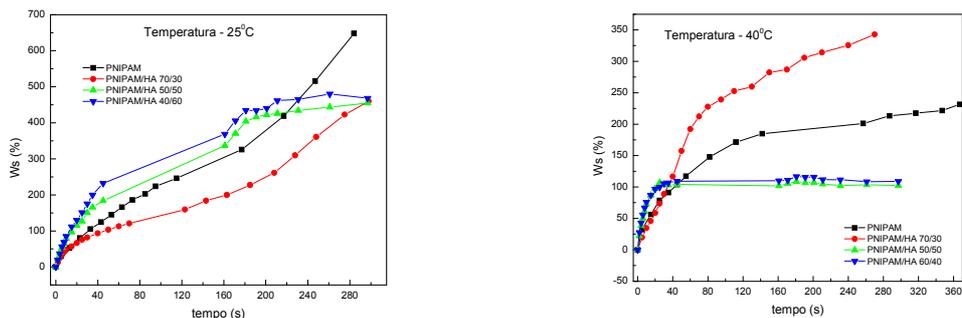


Figura 5. Grau de intumescimento no tempo do PNIPAM e os biocompósitos PNIPAM/HA a 25⁰C e 40⁰C.

O estudo de intumescimento revela a natureza responsiva do hidrogel PNIPAM e dos biocompósitos PNIPAM/HA, pois a 25⁰C o grau de intumescimento é elevado atingindo o PNIPAM 650% de intumescimento. Porém, a 40⁰C acima da temperatura LCST o comportamento muda diminuindo consideravelmente o grau de intumescimento.

CONCLUSÕES

O espectro de FTIR-ATR revela que existe interação entre o hidrogel PNIPAM e a hidroxiapatita. A análise térmica (TGA) demonstra que a temperatura de degradação diminui ligeiramente nos biocompósitos com relação á temperatura de degradação do PNIPAM. O MEV mostra uma rede tridimensional semelhante a um coral o que confirma que o hidrogel tem elevada porosidade. Esta porosidade diminui nos bicompósitos. Por DRX tem-se que a estrutura cristalina hexagonal da HA não foi modificada durante a síntese do PNIPAM. Os dados de densidade e porosidade aparente dos biocompósitos mostram o aumento da densidade à medida que aumenta o teor de HA e na mesma proporção se observa uma diminuição da porosidade. O estudo de intumescimento revela a natureza responsiva do hidrogel de PNIPAM.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, PDS 152095/2010-1, FAPESP e FINEP.

REFERÊNCIAS

- 1)- J. A. Juhasz, S. M Best and W. Bonfield, Sci. Technol. Adv. Mater. 11, 014103, 2010.

- 2)- Johnson, A. J. W.; Herschler, B. A. A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites. *Acta Biomaterialia*, 2010, 7, 16-30.
- 3)- Wojtowicz, A. M.; Shekaran, A.; Oest, M. E.; Dupont, K. M.; Templeman, K. L.; Huttmacher, D. W.; Guldborg, R. E.; Garcia, A. J. Coating of biomaterial scaffolds with the collagen-mimetic peptide GFOGER for bone defect repair. *Biomaterials*, 2010, 31, 2574- 2582.
- 4)- S. M. Malmonge, Zavaglia, C. A. C.(1997), "Hidrogéis de PoliHEMA para Reparo de Defeitos da Cartilagem Articular. 1 - Síntese e Caracterização Mecânica", *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 2, 22-29.

BIOCOMPOSITES BASED POLYMER HYDROGELS AND HYDROXYAPATITE

Biocomposites based hydrogels have broad applications in biomedical and bioengineering, they may be used as drug controlled delivery systems, bone implants, extracellular matrix for tissue culture, among other applications. The aim of this study was to develop and characterize polymeric systems based on crosslinking hydrogels of poly (N-isopropylacrylamide-co-N, N'metilenobisacrilamida) (PNIPAM) and its biocomposites containing hydroxyapatite (HA-PNIPAM). The synthesis of PNIPAM hydrogels in the presence of the hydroxyapatite was done through radical polymerization. The biocomposites PNIPAM-HA 70/30, 50/50 and 60/40 (wt%) were characterized by: ATR-FTIR, thermal analysis (TGA), scanning electron microscopy (SEM) and diffraction X-rays. Also was analyzed the density and porosity of biocomposites and studied the swelling at 25 and 40⁰C. The FTIR results show that there is interaction between the hydrogel and bioceramics. Was observed by SEM on a porous surface bicompositos all but the porosity decreases with increasing concentration of HA. By XRD was observed that the hexagonal crystal structure of HA has not been modified during the synthesis of the hydrogel. The density and apparent porosity of biocomposites show the density increase with increasing the content of HA and the same ratio noted a decrease in porosity.

Keywords: hydrogels, poly (N-isopropylacrylamide), hydroxyapatite, biocomposites.