

11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

COMPÓSITO TERMOSENSÍVEL PARA REGENERAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO

Marcos V. S. Martins¹, Maria E. Leyva^{2*}, Ana H. Bressiani¹, José C. Bressiani¹, Alvaro A A de Queiroz²

1 - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CCTM – São Paulo- SP

2 - Universidade Federal de Itajubá - Instituto de Ciências Exatas, Itajubá – MG- elena.leyva1970@gmail.com

Resumen: Compósitos termosensíveis de poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) e hidroxiapatita (HA) foram preparados através de dois procedimentos: mistura em solução de PNIPAM/HA 60/40 (em peso) e, polimerização de NIPAM em dispersão aquosa de HA (“in situ”), razão em peso monômero/HA (NIPAM/HA 60/40). Os compósitos PNIPAM/HA preparados por ambos procedimentos foram caracterizados por espectroscopia de absorção no infravermelho ATR-FTIR e análises termogravimétricas (TGA). O espectro FTIR do compósito PNIPAM/HA preparado “in situ” mostrou a desaparecimento das bandas amida I e amida II, aparecendo uma banda carbonílica típica de agrupamento éster, em torno de 1720 cm⁻¹. A degradação térmica dos compósitos é fortemente influenciada pela presença da HA.

Palavras-chave: polimerização eletro-iniciada, hidrogéis, poli(N-isopropilacrilamida), hidroxiapatita, termosensíveis

Thermosensitive composite for bone tissue regeneration

Abstract: Poly(N-isopropylacrilamide) and hydroxy apatite thermosensitive composites were prepared by two way: solution mixture (MS) of PNIPAM/HA 60/40 (wt/wt) and, polymerization of NIPAM in aqueous dispersion of HA (in situ), weight ratio NIPAM/HA 60/40. Both PNIPAM/HA composites were characterized by absorption infrared spectroscopy ATR-FTIR and thermogravimetric analysis, TGA. The FTIR spectrum of PNIPAM/HA prepared in situ shows that amide I and amide II bands disappear and a new band characteristic of carbonyl ester group appears approximately to 1720 cm⁻¹. The thermal degradation of composite is strong influence by the HA.

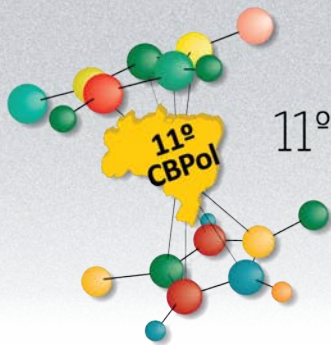
Keywords: electro-initiated polymerization, hydrogel, poly(N-isopropylacrylamide), hydroxyapatite, thermosensitive

Introdução

No desenvolvimento de compósitos destinados à fixação e regeneração de tecido ósseo existe um notável interesse na obtenção de materiais “inteligentes” que sejam capazes de estimular uma resposta biológica adequada que permita restabelecer as funções do tecido perdido. Neste sentido, compósitos de matriz polimérica contendo hidroxiapatita têm sido amplamente estudados. [1] Em particular o polímero poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) é um hidrogel termosensível, com uma transição de fase (hidrofílica - hidrofóbica) na faixa de 32 a 36 °C. [2] Esta propriedade permite a aplicação deste polímero como material “inteligente” na bioengenharia de tecidos para seu uso tanto como substrato na cultura extracelular de tecido, [3] como material implantável para regeneração óssea. [4]

Os compósitos de matriz polimérica e hidroxiapatita são amplamente usados em implantes ósseos devido às propriedades da hidroxiapatita (composição mineral, cristalinidade e morfologia) semelhantes à matriz inorgânica do tecido ósseo. [4]

A importância de desenvolver compósitos termosensíveis para regeneração do tecido ósseo, como o compósito poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) com hidroxiapatita (HA), está dada pela sinergia dos componentes do implante, onde a HA estimula a regeneração óssea, e o polímero, sendo um



11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

hidrogel termossensível, facilita a liberação de medicamentos à temperatura do organismo, com o objetivo de evitar a rejeição do implante pelo meio biológico. [3]

Neste trabalho foram preparados compósitos termosensíveis de poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) e hidroxiapatita (HA) através de dois procedimentos diferentes: mistura em solução de PNIPAM/HA 60/40 (em peso) e, síntese de PNIPAM usando uma dispersão aquosa de HA (polimerização in situ), utilizando uma razão em peso monômero/HA (NIPAM/HA 60/40). Os compósitos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho FTIR e por análises termogravimétricas (TGA).

Experimental

Materiais

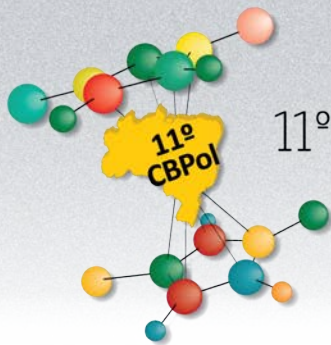
Os monômeros N-isopropilacrilamida (NIPAM) da Acros e a N,N'-metileno(bis)acrilamida (MBAAm) da Aldrich foram usados sem prévia purificação. O persulfato de amônio (APS) da Aldrich foi usado como iniciador. A hidroxiapatita (HA) utilizada foi o fosfato de cálcio trifásico ~ 37% Ca da Strem Chemicals.

Síntese do PNIPAM

Soluções aquosas dos monômeros NIPAM e MBAAm foram usados. Foi utilizada uma razão 0,14 M de MBAAm (agente de entrecruzamento) em relação à concentração de monômero (NIPAM). A polimerização radicalar eletro-iniciada foi realizada no potenciômetro (PG39) operando no modo galvanostático a 100 mA. A reação foi mantida sob agitação magnética durante 60 min à temperatura ambiente. Para isto foi utilizado prata como contra-eletródo e platina como eletródo de trabalho. Finalizado o tempo de reação a solução de polímero foi mantida a 50 °C. Nestas condições o polímero precipita. Posteriormente por decantação é separado o polímero na forma de um gel, é lavado repetidas vezes com água quente, e seco em dessecador à vácuo. O polímero seco foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho (FTIR) usando um acessório de refletância total atenuada (ATR) (Spectrum 100, Perkin Elmer).

Preparação dos compósitos PNIPAM/HA

O compósito PNIPAM/HA 60/40 (em peso) foi preparado adicionando a HA a uma solução de PNIPAM em acetona (6 % p/V) sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 24 horas. Filmes do compósito PNIPAM/HA foram obtidos após evaporação controlada do solvente.



11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

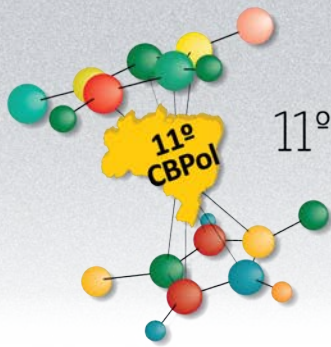
No compósito PNIPAM/HA preparado "in situ" a HA foi primeiramente dispersa na solução dos monômeros e iniciador na razão monômero/HA (NIPAM/HA) 60/40 em peso. Posteriormente foi realizada a polimerização via radical livre segundo o procedimento descrito anteriormente. Este compósito foi precipitado em água a 50 °C, lavado repetidas vezes com água quente e seco em dessecador à vácuo.

Os compósitos PNIPAM/HA preparados por ambos os procedimentos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) usando acessório de refletância total atenuada (ATR) e por análises termogravimétricas (TA 4000, Mettler).

Resultados e Discussão

A Fig. 1 mostra o espectro FTIR do polímero PNIPAM. No espectro não é observada a banda de absorção correspondente à vibração $\nu_{C=C}$, que no monômero (NIPAM) aparece em torno de 1620 cm^{-1} , isto indica que o monômero foi totalmente transformado a polímero. No espectro FTIR do polímero é observada também a banda de absorção em torno de 1638 cm^{-1} (Amida I) que está associada à vibração carbonílica $\nu_{C=O}$, que nas amidas aparece a frequências notavelmente baixas devido ao efeito mesomérico (+M) do nitrogênio e, as associações de ponte de hidrogênio quando comparado à vibração de outros compostos que apresentam este grupamento funcional. A banda da vibração carbonílica $\nu_{C=O}$ em amidas é chamada de banda Amida I devido ao acoplamento com osciladores vizinhos, especialmente com a banda δ_{NH} (banda de deformação angular). No espectro da Fig.1 a banda δ_{NH} é observada em torno de 1534 cm^{-1} (Amida II).

A Fig. 2 mostra comparativamente o espectro FTIR do compósito PNIPAM/HA preparado pela mistura física em solução e a hidroxiapatita. Podemos observar que as bandas de vibração do fosfato em torno de 1025 cm^{-1} são mantidas no compósito, de igual forma são observadas as bandas de absorção relativas ao polímero PNIPAM. O deslocamento da banda de absorção da Amida I de 1638 cm^{-1} no polímero PNIPAM para 1630 cm^{-1} no compósito sugere que existem associações de ponte de hidrogênio entre a hidroxiapatita e o polímero. Outro deslocamento também foi observado na banda de vibração N-H a qual aparece em 3294 cm^{-1} no polímero e no compósito aparece em 3284 cm^{-1} .



11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

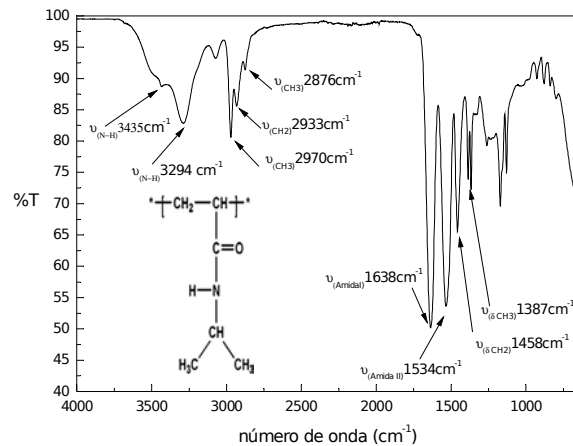


Figura 1. Espectro FTIR do PNIPAM.

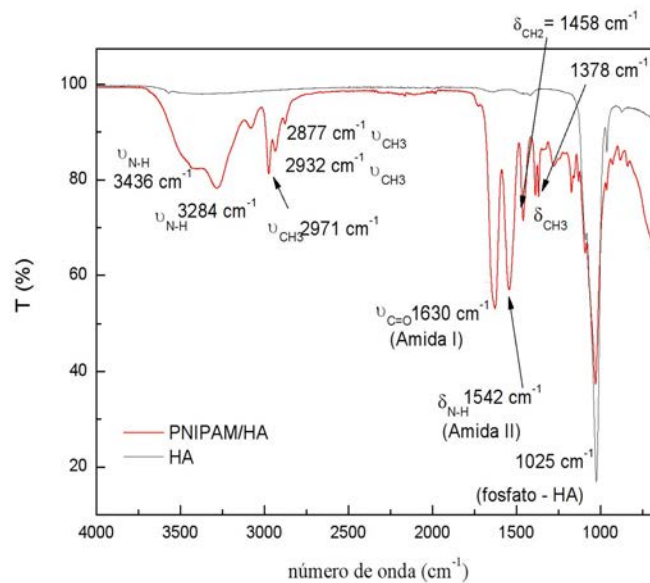
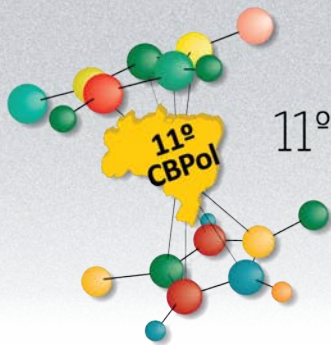


Figura 2. Espectro FTIR comparativo do composto PNIPAM/HA (mistura física em solução) e da hidroxiapatita pura (HA).

A Fig.3 mostra o espectro FTIR do composto preparado "in situ" através da polimerização do NIPAM na presença da hidroxiapatita. Podemos observar que as bandas relativas às vibrações N-H e as bandas amida I e amida II não aparecem no composto. Neste caso aparece uma banda de vibração carbonílica em torno de 1726 cm^{-1} . Esta banda corresponde ao carbonilo do agrupamento éster o que



11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

sugere que aconteceu uma reação de transesterificação entre os grupos hidroxilos da HA e o os grupos amida do monômero.

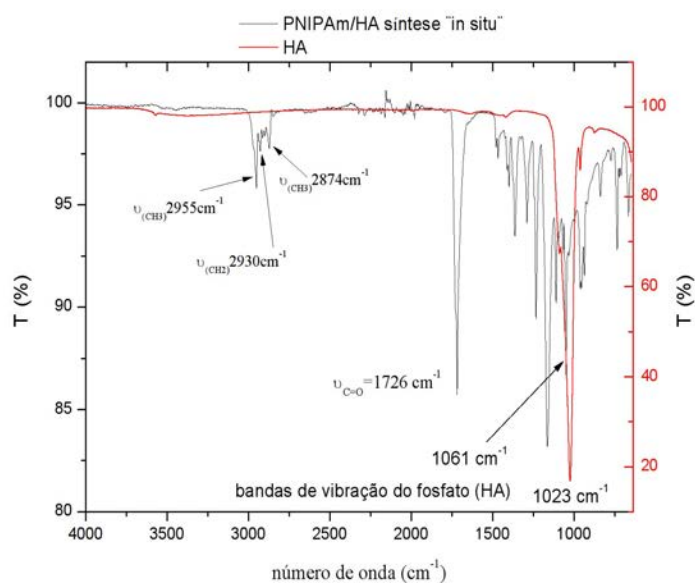
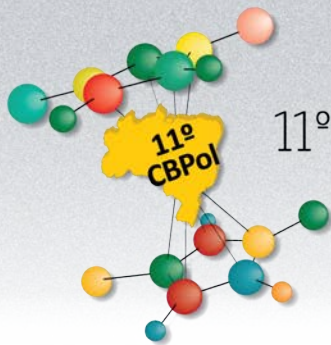


Figura 3. Espectro FTIR do compósito PNIPAM/HA preparado "in situ" comparativamente com o espectro da HA.

Podemos observar na Fig. 3 que as bandas de vibração N-H em torno de 3435 cm^{-1} e 3294 cm^{-1} observadas na Fig. 1 e Fig. 2 não aparecem no espectro FTIR deste compósito. Este resultado confirma que a HA se incorporou ao monômero NIPAM através de uma reação de transesterificação durante a polimerização. Por outro lado, a desapareição da banda de vibração $\nu_{C=C}$ em torno de 1620 cm^{-1} indica que o monômero foi convertido totalmente a polímero já que não existem resíduos detectáveis de monômero.

A Fig. 4 mostra comparativamente as curvas de TGA do polímero puro PNIPAM e dos respectivos compósitos PNIPAM/HÁ preparados. Podemos observar que a degradação do PNIPAM/HA preparado pela mistura física em solução acontece a temperatura mais baixa ($370\text{ }^{\circ}\text{C}$) quando comparado com o polímero PNIPAM puro ($381\text{ }^{\circ}\text{C}$). Este comportamento sugere que a interação física entre a hidroxiapatita e a cadeia polimérica (através de pontes de hidrogênio) parece favorecer a degradação térmica do polímero.

A curva de degradação do compósito PNIPAM/HA "in situ" mostra um comportamento totalmente diferente às do polímero puro e do compósito preparado pela mistura física em solução. Para este compósito observa-se uma temperatura de degradação em torno de $116\text{ }^{\circ}\text{C}$, e o percentual de perda é em



11º CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS

16 a 20 de Outubro de 2011
Campos do Jordão - SP

torno de 70 % em massa. Estes resultados indicam que o compósito obtido é constituído pela hidroxiapatita quimicamente modificada pelo monômero durante a polimerização. A modificação química da hidroxiapatita foi verificada nos espectros FTIR deste compósito pela aparição de uma banda carbonílica típica de éster. Estudos de caracterização estrutural tais como difração de raios X, e calorimetria exploratória diferencial deveram ser realizados para confirmar esta hipótese.

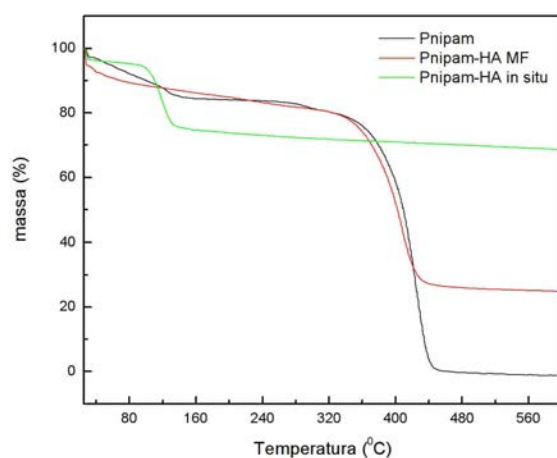


Figura 4. Gráfico comparativos das curvas de TGA do PNIPAM puro e o compósito PNIPAM/HA preparado por mistura em solução e polimerização “in situ”

Conclusões

O monômero NIPAM foi polimerizado via radical livre por eletro-iniciação. O compósito PNIPAM/HA preparado a través da polimerização “in situ” do NIPAM na presença da HA mostrou que uma reação de transesterificação acontece modificando quimicamente a hidroxiapatita. As análises termogravimétricas mostraram que os compósitos PNIPAM/HA são fortemente afetados pela presença da HA.

Agradecimentos Os autores agradecem o apoio financeiro de CNPq, Processo (152095/2010-1)

Referências Bibliográficas

- 1- S. A. Hutchens, R. S. Benson, B. R. Evans, H. M. O'Neill, C. J. Rawn, *Biomaterials*, 2006, 27 4661.
- 2- Y. Dogu, O Okay. S. *J.App Polymer Sci*, 2006, 37, 99.
- 3- T. Okano; Temperature-Responsive Polymers as On-Off Switches for Intelligent Biointerfaces in *Biorelated Polymers and Gels*, A. K. and T. Okano, Ed.; Academic Press, London, 1998, 1-23.
- 4- J. A. Juhasz, S. M Best and W. Bonfield, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2010, 11, 014103.