

MINISTERIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Escola de Engenharia
Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais
PPGEM

DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITOS POLIDIMETILSILOXANO/FOSFATOS DE
CÁLCIO

OSCAR JACINTO BAREIRO FERREIRA

Dissertação para a obtenção do título de Mestre em Engenharia

Porto Alegre

2012

OSCAR JACINTO BAREIRO FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITOS POLIDIMETILSILOXANO/FOSFATOS
DE CÁLCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Minas, Metalurgia e Materiais, da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Materiais.

Orientador Dr. Luis Alberto dos Santos

Porto Alegre, RS

2012

Dedico este trabajo
a mi familia y amigos

Resumo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para a preparação de compósitos de polidimetilsiloxano (PDMS)/fosfato de cálcio elaborado mediante a técnica biomimética. O processo envolveu a precipitação de partículas de fosfato de cálcio dentro da matriz elastomérica de PDMS durante a elaboração do compósito. A composição química da fase de reforço foi avaliada mediante difração de raios X (DRX) e espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS). Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram partículas pequenas (200 nm) de fosfato de cálcio homogeneamente distribuídas e dispersas na superfície do compósito. A influência da fase de reforço na energia de superfície, resistência mecânica, bioatividade e viabilidade celular do compósito foram medidas. A incorporação das partículas no PDMS levou ao aumento dos valores da energia de superfície. Os resultados do ensaio de resistência mecânica à tração mostraram que o compósito elaborado com 25 %(v/v) de reforço apresentou um aumento de 15 % de resistência à tração com relação ao PDMS puro. O ensaio de bioatividade *in vitro* mostrou que após de 7 dias de imersão em fluido biológico simulado (SBF), uma camada homogênea de cristais com a morfologia da hidroxiapatita foi precipitada na superfície do compósito, este resultado sugere que o compósito poderá demonstrar uma excelente bioatividade uma vez implantado *in vivo*.

Palavras-Chave: bioatividade, compósito nanoestruturado, fosfato de cálcio, método biomimético, PDMS, reforço,.

Abstract

The main objective of this study was to develop a method to prepare poly(dimethylsiloxane) (PDMS)/calcium phosphates composites by using the biomimetic technique. The process involved the precipitation of calcium phosphate particles within the PDMS matrix during the composite fabrication. The chemical composition of the filler phase was studied by means of X-ray diffraction (XRD) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS). Scattering electron microscopy (SEM) micrographs showed tiny particles (200 nm) of calcium phosphate evenly distributed and dispersed on the composite surface. The influence of the filler phase on the composite surface energy, tensile strength, bioactivity and cellular viability were assessed. The incorporation of the particles to the PDMS led to higher surface energy values. The tensile measurements showed that the composite made with 25 % (v/v) of filler achieved a 15 % increase in the tensile strength, once compared to the pure PDMS. The in vitro bioactivity assay showed that after 7 days of soaking in simulated body fluid (SBF) a homogeneous layer of HAp like crystals can be seen on the composite surface, this result suggested that the composite will demonstrate an excellent bioactivity once implanted in vivo.

Keywords: bioactivity, biomimetic method, calcium phosphate, nanostructured composite, PDMS, reinforcement.

Sumário

Lista de Figuras.....	III
Lista de Tabelas	VII
Lista de Siglas	VIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	4
2.1 Objetivo Geral	4
2.1 Objetivos Especificos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Biomaterial e Biocompatibilidade	5
3.2 Classificação da Interface Tecido/Biomaterial	7
3.3 Biocompatibilidade e Bioresposta a Biomateriais.....	9
3.4 Polímeros Sintéticos não Degradáveis utilizados na Área Biomédica.....	10
3.4.1 Polissiloxanos	11
3.4.2 Elastômeros de Polissiloxanos.....	13
3.5 Ortofosfatos de Cálcio.....	14
3.5.1 Fosfato dicálcico dihidratado.....	16
3.5.2 Fosfato dicálcico anidro.....	16
3.5.3 α -Fosfato tricálcico	16
3.5.4 Reação por Combustão para a Síntese do α -Fosfato Tricálcico	17
3.5.5 Hidroxiapatita	17
3.5.6 Reação por Precipitação para a Síntese da Hidroxiapatita.....	18
3.6 Compósitos	19
3.7 Agentes de Acoplamento Silano.....	21
3.7.1 Modificação da Superfície de Fosfatos de Cálcio.....	22
3.8 Composito Silicone/Fosfatos de Cálcio	23
3.8.1 Estudos reportados do Compósito Silicone/ Hidroxiapatita.....	23
3.9 Abordagem Biomimética para síntese de Materiais Compósitos	25
3.10 Propriedades de Superfície e Resposta Biológica de Biomateriais.....	27
3.11 Energia livre de superfície de Sólidos	29
3.11.1 Métodos para o cálculo da energia livre superficial de sólidos.....	30
3.11.2 O método de Neumann	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 Obtenção do compósito PDMS/FC mediante o Método Tradicional.....	34
4.1.1 Síntese, caracterização e modificação dos fosfatos de cálcio	34
4.1.2 Incorporação dos fosfatos de cálcio ao PDMS.....	35
4.2 Obtenção do compósito PDMS/FC mediante a Síntese Reativa.....	36
4.3 Caracterização dos compósitos de PMDS/FC obtidos por ambos métodos	37
4.3.1 Caracterização das cargas na matriz.....	37
4.3.2 Análise Térmica.....	37

4.3.3	Propriedades de Superfície.....	37
4.3.4	Propriedades Mecânicas.....	37
4.3.5	Ensaio de biocompatibilidade <i>in vitro</i>	38
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1	Compósito PDMS/FC obtido pelo Método Tradicional.....	40
5.1.1	Síntese e modificação dos fosfatos de cálcio.....	40
5.1.2	Caracterização das cargas na matriz.....	47
5.1.3	Análise Térmica.....	51
5.1.5	Ensaio de Biocompatibilidade.....	56
5.1.6	Propriedades Mecânicas.....	61
5.2	Compósito BS/FC obtido mediante a Síntese Reativa.....	67
5.2.1	Caracterização das cargas na matriz.....	67
5.2.2	Análise Térmica.....	76
5.2.3	Propriedades de Superfície.....	77
5.2.4	Ensaio de biocompatibilidade <i>in vitro</i>	81
5.2.5	Propriedades Mecânicas.....	90
5.2.6	Teste de viabilidade celular.....	94
6.	CONCLUSÕES.....	96
7.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	100
	REFERÊNCIAS.....	101
	APÊNDICE.....	113

Lista de Figuras

Representação da estrutura química do polidimetilsiloxano.	12
Variação do pH das concentrações iônicas no equilíbrio triprótico de soluções de ácido fosfórico e faixa de estabilidade do pH em soluções aquosas a 25 °C.....	15
Representação esquemática das etapas do processo de elaboração e caracterização dos compósitos de PDMS/FC obtidos mediante o Método Tradicional.....	33
Representação esquemática das etapas do processo de elaboração e caracterização dos compósitos de PDMS/FC obtidos mediante a Síntese Reativa.	36
Difratogramas obtidos por DRX dos pós de (a) hidroxiapatita obtida pelo método de precipitação, utilizando como precursores Ca(OH)_2 e H_3PO_4 , calcinada a 800 °C por 2 h, e de (b) α -fosfato tricálcico obtido pelo método de reação por combustão, utilizando como precursores $\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, calcinado a 1200 °C por 4 h, seguido de resfriamento rápido até a temperatura ambiente.	40
Histograma apresentando a distribuição do tamanho de partícula do pó de hidroxiapatita obtido mediante a síntese por precipitação.....	41
Histograma apresentando a distribuição do tamanho de partícula do pó de α -fosfato tricálcico obtido mediante a síntese por combustão.....	41
Micrografias obtidas por MEV de pós de hidroxiapatita (a) e (b), e de α -fosfato tricálcico (c) e (d).....	43
Micrografias obtidas por MET de pós de hidroxiapatita (a) e (b), e de α -fosfato tricálcico (c) e (d).....	43
Micrografias obtidas por MEV dos pós de hidroxiapatita modificada com soluções TEOS a (a) 5 % e (c) 10 %(m/m), com os respectivos espectros da análise elementar pontual obtidos por EDS, (b) e (d).....	45
Micrografias obtidas por MEV dos pós de α -fosfato tricálcico modificado com soluções TEOS a (a) 5 % e (c) 10 %(m/m), com os respectivos espectros da análise elementar pontual obtidos por EDS, (b) e (d).....	46
Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 %(v/v) de HAp tratada com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 %(m/m). (a), (b) HAp 0 %, (c), (d) HAp 5 %, (e), (f) HAp 10 %.....	47
Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 %(v/v) de α -TCP tratado com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 %(m/m). (a), (b) α -TCP 0 %, (c), (d) α -TCP 5 %, (e), (f) α -TCP 10 %.	48
Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos obtidos mediante o Método	

Tradicional; (a) PDMS/HAp-0%TEOS, (b) PDMS/HAp-10%TEOS, (c) PDMS/ α -TCP-0%TEOS, (d) PDMS/ α -TCP-10%TEOS.	50
Termogramas obtidos por DSC do elastômero de silicone puro e dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 %(v/v) dos fosfatos de cálcio, tratados com soluções de TEOS a 0 e 5 %(m/m).	51
Resultados da medição do ângulo de contato estático da água sob a superfície dos compositos. Compósitos com (a) 20 %(v/v) e (b) 30 %(v/v) de fosfatos de cálcio. ...	53
Perfil da rugosidade superficial (Ra) dos compósitos obtidos.	55
Valores de rugosidade superficial (Ra) do PDMS e dos compósitos obtidos com 20%(v/v) de HAp e α -TCP, modificados com soluções de TEOS a 0 %(m/m), 5 %(m/m) e 10 %(m/m).	56
Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos com 3 dias de imersão em SBF. (a) PDMS/20%(v/v)HAp-0%TEOS, (b) PDMS/20%(v/v) α -TCP-0%TEOS, (c) PDMS/20%(v/v)HAp-10%TEOS, (d) PDMS/20%(v/v) α -TCP-10%TEOS.	57
Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos com 7 dias de imersão em SBF. (a) PDMS/20%(v/v)HAp-0%TEOS, (b) PDMS/20%(v/v) α -TCP-0%TEOS, (c) PDMS/20%(v/v)HAp-10%TEOS, (d) PDMS/20%(v/v) α -TCP-10%TEOS.	57
Difratogramas obtidos por DRX da superfície do compósito PDMS/20%(v/v)HAp-0%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.	58
Difratogramas obtidos por DRX da superfície do compósito PDMS/20%(v/v)HAp-10%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias. ...	59
Difratogramas obtidos por DRX da superfície do compósito PDMS/20%(v/v) α -TCP-0%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.	60
Difratogramas obtidos por DRX da superfície do compósito PDMS/20%(v/v) α -TCP-10%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.	61
Valores da tensão de ruptura à tração do silicone e dos compósitos elaborados com 10, 20 e 30 %(v/v) de HAp, modificada com soluções a 0, 5 e 10 %(m/m) de TEOS.	62
Micrografias obtidas por MEV da superfície de fratura dos compósitos obtidos com 20 %(v/v) de HAp, tratada com soluções a (a) 0 %, (b) 5 % e (c) 10 %(m/m) de TEOS.	65
Histograma representando a distribuição de tamanho de partícula do Ca(OH) ₂ na forma de pó empregado na elaboração dos compósitos mediante o método de Síntese Reativa.	67
Micrografias obtidas por MEV do pó de Ca(OH) ₂ empregado. Imagem tomada com aumento de 1200x (a), imagem com aumento de 3000x (b).	68
Difratogramas obtidos durante as etapas de elaboração do compósito de borracha	

elastomérica de silicone com a adição de 20%(v/v) de Ca(OH) ₂ mediante o método de Síntese Reativa. (a) incorporação do Ca(OH) ₂ à matriz elastomérica sem cura, (b) adição do H ₃ PO ₄ e formação da fase DCPD, com a presença de Ca(OH) ₂ remanescente e (c) compósito após cura, com a obtenção da fase DCPA, com a presença de Ca(OH) ₂ remanescente.	68
(a) Micrografia obtida por MEV da superfície de fratura do compósito de elastômero de silicone com a incorporação de 20%(v/v) de Ca(OH) ₂ , (b) espectro da análise elementar qualitativa pontual do compósito, e espectros da análise elementar qualitativa por área da superfície de fratura do compósito, correspondentes aos elementos (c) Ca e (d) Si.	70
(a) Micrografia obtida por MEV da superfície de fratura do compósito de elastômero de silicone com a adição de 20%(v/v) de Ca(OH) ₂ e H ₃ PO ₄ , (b) espectro da análise elementar qualitativa pontual do compósito, e espectros da análise elementar qualitativa por área da superfície de fratura do compósito, correspondentes aos elementos (c) Ca, (d) P, apresentando as relações Ca/P encontradas, e (e) Si.....	70
Micrografias obtidas por MEV mostrando a morfologia da superfície externa dos compósitos obtidos com (a) e (b) 10%, (c) e (d) 20% e (e) e (f) 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂	72
Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com (a) 10, (b) 15, (c) 20, (d) 25 e (e) 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂	73
Curva de calibração elaborada com a incorporação de frações mássicas de 5-25 %(m/m) de Ca(OH) ₂ e de 95-75 %(m/m) de DCPA.	74
Termogramas obtidos por DSC do elastômero de silicone puro e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com a incorporação de 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂ ao elastômero de silicone.	76
Resultados da medição do ângulo de contato estático da água sob a superfície dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂	77
Valores da energia livre de superfície do PDMS e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂	79
Perfis da rugosidade superficial do PDMS e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂	80
Valores de rugosidade superficial (Ra) do PDMS e dos compósitos obtidos com a incorporação de 10 %(v/v) – 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂ ao PDMS.	80
Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com tempos de imersão em SBF de (a) 0, (b) 1, (c) 3 (d) 5 e (e) 7 dias.	81
Micrografias obtidas por MEV da superfície do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com tempos de imersão em SBF de (a) e (b) 1, (c) 3 (d) 5, (e) e (f) 7 dias.	83
(a) Micrografia da superfície, (b) e (c) resultados da análise elementar obtidos por	

EDS do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com 1 dia de imersão em SBF.....	84
(a) Micrografia da superfície, (b), (c) e (d) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com 7 dias de imersão em SBF.	84
Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com tempos de imersão em uma solução aquosa de NaOH de até 7 dias.....	85
Micrografias obtidas por MEV da superfície do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com tempos de imersão em uma solução aquosa de NaOH de (a) e (b) 1, (c) 3 (d) 5, (e) 7 dias.	87
(a) Micrografia da superfície, (b), (c) e (d) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com 1 dia de imersão na solução de NaOH.	88
(a) Micrografia da superfície, (b), (c) e (d) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH) ₂ com 7 dias de imersão na solução de NaOH.	88
Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com (a) 10, (b) 15, (c) 20, (d) 25 e (e) 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂ , após a adição de quantidades de uma solução aquosa de NaOH.	89
Resistência mecânica à tração do PDMS e dos compósitos de PDMS/Ca(OH) ₂ elaborados mediante o método da Síntese Reativa.....	91
Micrografias obtidas por MEV da superfície de fratura dos compósitos com (a) 10 %(v/v), (b) 20 %(v/v) e (c) 30 %(v/v) de Ca(OH) ₂	92
Resultados do teste de viabilidade celular realizado com o PDMS e com compósito PDMS/20 %(v/v) Ca(OH) ₂ . * p < 0,05 em comparação com o PDMS.	94

Lista de Tabelas

Fatores que afetam a resposta interfacial tecido/implante.	8
Consequências das interações tecido/implante.	8
Sequência de Respostas do Hospedeiro.	9
Principais propriedades de ortofosfatos de cálcio.	15
Resultados da caracterização física dos pós de hidroxiapatita e α -fosfato tricálcico.	42
Valores de parâmetros termodinâmicos de reticulação dos compósitos carregados com 20%(v/v) de fosfatos de cálcio tratados com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 %(m/m).	52
Valores de energia superficial específica dos compósitos carregados com 20 % e 30 %(v/v) de fosfatos de cálcio tratados com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 %(m/m).	54
Propriedades mecânicas do silicone e dos compósitos elaborados com 10, 20 e 30 %(v/v) de HAp, modificada com soluções a 0, 5 e 10 %(m/m) de TEOS.	63
Valores de dureza Shore A do PDMS e dos compósitos elaborados com 10 - 30 %(v/v) de HAp, tratada com soluções de TEOS a 0, 5 e 10 %(m/m).	66
Resultados obtidos das técnicas aplicadas para a caracterização do Ca(OH)_2	67
Valores da fração mássica de Ca(OH)_2 remanescente e de pH correspondentes aos compósitos com 10, 20,30 %(v/v) de Ca(OH)_2 , com quantidades de H_3PO_4 estequiométrico (Eq. 5) adicionadas de 80, 90 e 100%.	75
Valores de pH de compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 em função ao tempo de imersão em SBF.	82
Valores de pH dos compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 após períodos de imersão de até 7 dias em soluções aquosas de NaOH.	86
Valores de pH dos compósitos elaborados com 10-30 %(v/v) de Ca(OH)_2 como função da fração mássica de Ca(OH)_2 adicionada.	90
Propriedades mecânicas do PDMS e dos compósitos de PDMS/ Ca(OH)_2 elaborados mediante o método da Síntese Reativa como função da fração mássica de Ca(OH)_2 adicionada.	91
Valores da dureza Shore A do PDMS e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa como função da fração mássica de Ca(OH)_2 adicionada.	93

Lista de Siglas

- ACP** - *amorphous calcium phosphate*, fosfato de cálcio amorfo
- BS** - borracha de silicone
- CDHA** - *calcium deficient hydroxyapatite*, hidroxiapatita deficiente em cálcio
- CFC** - cimento de fosfato de cálcio
- DCPA** - CaHPO_4 ; *dibasic calcium phosphate anhydrous*, fosfato dicálcico anidro
- DCPD** - $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; *dibasic calcium phosphate dihydrate*, fosfato dicálcico dihidratado
- ELS** - energia livre superficial
- FA** - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$; fluorapatita
- FC** - fosfato de cálcio
- HAp** - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; hidroxiapatita
- MCPA** - *monocalcium phosphate anhydrous*, monofosfato de cálcio anidro
- MCPM** - *monocalcium phosphate monohydrate*, monofosfato de cálcio monohidratado
- MET** - microscopia eletrônica de transmissão
- MEV** - microscopia eletrônica de varredura
- OCP** - $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; fosfato octacálcico
- PAAc** - poli(ácido acrílico)
- PDMS** - polidimetilsiloxano
- PE** - polietileno
- PEG** - polietilenoglicol
- PEO** - *poly(ethylene oxide)*, poli(óxido de etileno)
- PEUAMM** - polietileno de ultra alta massa molecular
- PLA** - *poly(lactic acid)*, poli(ácido láctico)
- PMMA** - poli(metacrilato de metila)
- PMPC** - poli(metacrilato de fosforilcolina)
- PP** - polipropileno
- PS** - poliestireno
- PTFE** - politetrafluoretileno
- PVA** - *poly(vinyl alcohol)*, poli(álcool vinílico)
- SBF** - *Simulated body fluid*, fluido biológico simulado
- TEOS** - tetraetilortosilicato

UV - ultravioleta

VTES - viniltriétoxisilano

α,β -TCP - α,β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; alfa,beta fosfato tricálcico

1. INTRODUÇÃO

Desde o ponto de vista clínico ou médico, é importante que o material a ser utilizado como implante mantenha a combinação de resistência e ductilidade, incluindo tenacidade, que demonstre ótima biocompatibilidade, seja caracterizado como quimicamente estável, apresente um comportamento não magnético, e seja de fácil manipulação e desinfecção (COSTANTINO, FRIEDMAN e LANE, 1993). Alguns dos biomateriais que são atualmente utilizados em intervenções cirúrgicas são o elastômero de silicone (STARICH, FIORIHIN e LIN, 2003), cerâmicas de fosfato de cálcio (LEICHTER e BLOCH, 1992), politetrafluoretileno (CATANESE *et al.*, 1999), e polietileno de ultra alta massa molecular (ROMO, SCLAFANI e SABINI, 1998).

Embora estes materiais sejam amplamente empregados em cirurgias plásticas e de reconstrução, como em outras aplicações biomédicas, não são capazes de satisfazer completamente as necessidades para uma aplicação determinada (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009). Vários estudos têm focado na melhoria das propriedades mecânicas, físico-químicas e biológicas de polímeros tais como o silicone (WEN *et al.*, 2008; ABBASI, MIRZADEH e KATBAB, 2001) e *scaffolds* de quitosana mediante a incorporação de substâncias inorgânicas bioativas, tais como os fosfatos de cálcio, especialmente para gerar o crescimento de tecido e o aumento da resistência mecânica (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009).

Homopolímeros de silicone com altos valores de massa molecular, especialmente o polidimetilsiloxano (PDMS), exibem uma combinação interessante de propriedades. Estas incluem temperaturas muito baixas de transição vítrea ($T_g = -123^\circ\text{C}$), estabilidade térmica, resistência à radiação UV, e à oxidação, baixa energia de superfície, hidrofobicidade, alta permeabilidade a gases, propriedades elétricas, inércia fisiológica e biocompatibilidade (NOLL, 1978). Apesar de apresentar estas propriedades atrativas, homopolímeros de PDMS apresentam uma baixa tensão de ruptura à tração à temperatura ambiente (tensão máxima ~ 1 MPa), inclusive para massas moleculares muito altas (NOLL, 1978; PALMANTEER, 1988).

O silicone vem sendo amplamente utilizado em fins clínicos por um longo tempo. Este material possui biocompatibilidade e é fisiologicamente inerte. Como resulta com maleabilidade é conveniente para aplicações médicas. Porém, o silicone não tem a capacidade de se ligar organicamente com os tecidos, devido à sua inércia química. Em alguns casos ocorre inflamação ou reação do tipo corpo estranho após a implantação (WEN *et al.*, 2008).

A borracha de silicone (BS) é um biomaterial implantável comumente utilizado em cirurgia plástica (ERLICH e PARHISCAL, 2003) enquanto que a cerâmica bioativa de fosfato de cálcio tem excelentes características de degradação (RANGAVITTAL *et al.*, 2000). Em aplicações clínicas, o silicone apresenta inércia química, estabilidade térmica, resistência à oxidação e boas propriedades mecânicas (ductilidade > 500 %, tensão de ruptura > 1 MPa), mas se caracteriza pela baixa bioatividade (POLYZOIS, 1995). Por outro lado, as biocerâmicas têm um comportamento biológico superior e podem estimular a formação de novo tecido ósseo pela auto-degradação no microambiente do organismo para a produção de uma estrutura porosa, facilitando a adesão dos tecidos e o crescimento de tecidos periféricos (HENCH, 1998).

As cerâmicas inorgânicas são difíceis de moldar devido às suas propriedades mecânicas (fragilidade, baixa confiabilidade mecânica, ausência de resiliência) (HENCH, 1998), uma abordagem para a melhoria da bioatividade e da propriedade de ligação com o tecido ósseo de polímeros, tais como o silicone, é a mistura com hidroxiapatita biologicamente ativa de tamanho nanométrico (n-HAp). O compósito resultante de BS/n-HAp pode ser enxergado como representante de uma nova classe de biomateriais nanoestruturados.

O compósito tem o potencial de exibir excelentes propriedades físicas e biológicas, com a BS provendo as propriedades mecânicas desejadas enquanto que a HAp promove a bioatividade. A adição de HAp à BS providenciará sítios bioativos que são bioabsorvíveis e favoráveis para o crescimento do tecido (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009).

Comparado com a BS pura, o compósito BS/n-HAp causa um menor dano aos eritrócitos. Isto acontece pois os radicais não polares localizados lateralmente à espiral de ligações Si-O da cadeia principal são de baixa polaridade e contribuem

para a destruição dos eritrócitos (ZHOU e YI, 1999). A n-HAp inorgânica e bioativa altera a estrutura da superfície da BS mediante o desenvolvimento de um grau de eletro-ionização diferente no meio hidratado. Isto confere à superfície do compósito nanoestruturado de BS/n-HAp hidrofiliçidade e altera a carga superficial, com a consequente diminuição do dano aos eritrócitos. Sendo assim, as limitações associadas ao uso da BS pura podem ser superadas mediante a incorporação de n-HAp à matriz de BS (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia baseada no método biomimético, a Síntese Reativa, para a elaboração de compósitos polidimetilsiloxano/fosfatos de cálcio. Elaborar compósitos polidimetilsiloxano/fosfatos de cálcio mediante o Método Tradicional. Avaliar comparativamente as características dos compósitos obtidos mediante ambos métodos.

2.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar as propriedades físico-químicas e grau de dispersão das partículas na matriz elastomérica;
- Estudar a influência da adição das cargas à matriz nos parâmetros termodinâmicos da reação de reticulação do elastômero;
- Avaliar a influência da adição das cargas à matriz nas propriedades de superfície do silicone;
- Estudar o efeito da adição das cargas à matriz nas propriedades mecânicas do silicone;
- Caracterizar a influência da adição das cargas à matriz nas propriedades biológicas do silicone.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomaterial e Biocompatibilidade

A Conferência de Consenso de Definição da Ciência dos Biomateriais da Sociedade Europeia de Biomateriais, realizada em 1987, formulou uma considerada e debatida definição do que seria biomaterial e do objetivo desta ciência. Esta determinou que biomaterial é 'um material não viável usado em um dispositivo médico, com a intenção de interagir com o sistema biológico' (WILLIAMS, 1987). Esta definição foi revisada em uma conferência alguns anos depois, na qual a referência a 'não viável' foi retirada (DOHERTY e WILLIAMS, 1992). Posteriormente, Williams definiu biomaterial como 'um material que forma interface com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo' (WILLIAMS, 1999).

As situações nas quais os biomateriais são atualmente utilizados são diferentes às de uma década atrás. Embora implantes médicos sejam ainda muito importantes, as tecnologias médicas atualmente abrangem uma variedade de sistemas de liberação de drogas e genes, engenharia de tecidos e terapia celular, dispositivos microeletrônicos e sistemas de diagnóstico por imagens baseados em nanotecnologia. Estas tecnologias ainda utilizam metais, cerâmicas ou polímeros, mas também biopolímeros, nanopartículas, nanotubos de carbono, entre outros. Estas mudanças implicam que os conceitos e expectativas de desempenho dos biomateriais também devam mudar (WILLIAMS, 2009).

Para incluir várias substâncias que até agora não foram consideradas como biomateriais, este conceito foi revisado por Williams. O autor redefiniu biomaterial como 'a substância que foi elaborada para ter um formato tal que, de maneira independente, ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, mediante o controle das interações com os componentes do sistema vivo, o andamento de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico, na medicina humana ou veterinária' (WILLIAMS, 2009).

Biocompatibilidade é uma palavra amplamente empregada dentro da ciência dos biomateriais, mas ainda existe um alto grau de incerteza com relação ao seu significado e com relação aos mecanismos operantes nos fenômenos que coletivamente constituem a biocompatibilidade.

A biocompatibilidade tradicionalmente tem-se preocupado com dispositivos implantáveis que permanecem no interior do indivíduo por longos períodos. Para aqueles que encontravam-se desenvolvendo e usando a primeira geração de dispositivos implantáveis, durante os anos 1940 e 1980, foi se tornando óbvio que o melhor desempenho biológico seria obtido com materiais de baixa reatividade química. O critério de seleção para materiais implantáveis incluía uma lista de eventos que deveriam ser evitados, a maioria destes originados por processos associados à liberação de alguns produtos de corrosão ou degradação, de aditivos ou contaminantes dos principais constituintes do biomaterial, e sua subsequente atividade biológica, tanto local quanto sistêmica. Sendo assim, os materiais eram selecionados, ou ocasionalmente desenvolvidos, levando em conta que eram não tóxicos, não imunogênicos, não trombogênicos, não cancerígenos, não irritantes, e assim por diante, esta listagem de características tornou-se, via de regra, a definição de biocompatibilidade (WILLIAMS, 2008).

Posteriormente, foi considerado que a premissa básica de biocompatibilidade, relacionada à segurança biológica, implicando que o material não devia causar danos ao paciente, já não era um pré-requisito suficiente. Sendo assim, a biocompatibilidade foi redefinida em 1987 da seguinte maneira, 'biocompatibilidade refere-se à habilidade de um biomaterial para desenvolver uma resposta apropriada do hospedeiro em uma situação específica' (WILLIAMS, 1987).

Esta definição, que claramente coloca a palavra na categoria de conceito, sem ser uma descrição prática do processo, está baseada em três princípios que o material deve cumprir; ele não deve apenas existir no tecido, a resposta provocada pelo material deve ser apropriada para a sua aplicação, sendo que a natureza da resposta a um material específico e sua adequação podem variar conforme à situação (WILLIAMS, 1999). Pode ser argumentado que esta definição é tão geral e evidente que não ajudaria ao avanço do conhecimento da biocompatibilidade, e de fato, é verdade que não tem levado a uma maior compreensão dos mecanismos específicos e processos individuais, ou à inovação de novos biomateriais (WILLIAMS, 2009).

Sendo assim, Williams (WILLIAMS, 2009) redefine biocompatibilidade como 'a habilidade de um biomaterial para desenvolver sua função desejada em uma terapia médica, sem causar efeitos indesejados, locais ou sistêmicos no receptor ou

beneficiário desta terapia, mas gerando a resposta celular ou tecidual mais favorável naquela situação específica, otimizando o desempenho clínico daquela terapia’.

Paralelamente à biocompatibilidade, é importante que o implante permita o desempenho imediato e com êxito da função específica, estática ou dinâmica, por parte do corpo que está sendo substituída, característica conhecida como biofuncionalidade (RAVAGLIOLI e KRAJEWSKI, 1992).

Para que um material seja aceito clinicamente como material de implante, ele precisa atender a alguns requisitos fundamentais (SANTOS, 2002):

- o material deve ser biocompatível, ou seja, sua presença não deve causar efeitos nocivos no local do implante ou no sistema biológico;
- os tecidos não devem causar a degradação do material, como por exemplo, corrosão em metais, exceto de forma tolerável;
- o material deve ser biofuncional;
- o material deve ser esterilizável.

Deve ser lembrado que o pH da solução aquosa, na qual o dispositivo a ser implantado é imerso, deve ser neutro (6,5 - 8,5), antes de ser implantado, de maneira a evitar efeitos citotóxicos (DRIESSENS, 1997).

3.2 Classificação da Interface Tecido/Biomaterial

Nenhum material implantado nos tecidos vivos é inerte, todos os materiais provocam uma resposta do tecido hospedeiro. Esta resposta ocorre na interface tecido/implante e depende de vários fatores, os quais encontram-se listados na Tabela 1. É crítico que qualquer material de implante evite a resposta tóxica, a qual mata as células dos tecidos adjacentes ou libera substâncias químicas que podem migrar com os fluidos causando danos sistêmicos ao paciente. Cerâmicas biologicamente inativas e praticamente inertes, tais como a alumina e a zircônia, também desenvolvem cápsulas fibrosas na interface. A espessura da camada fibrosa depende dos fatores listados na Tabela 1 (HENCH e WILSON, 1993).

Existem quatro tipos gerais de resposta tecido/implante, como resumido na Tabela 2. A resposta tecidual mais comum a um implante é a formação de uma cápsula fibrosa não aderente. O tecido fibroso é formado de maneira a isolar o implante do hospedeiro. É um mecanismo de proteção e com o tempo pode levar à

completa encapsulação do implante dentro da camada fibrosa. Metais e a maioria dos polímeros produzem este tipo de resposta interfacial. Cerâmicas biologicamente inativas e praticamente inertes, tais como a alumina e a zircônia, também desenvolvem cápsulas fibrosas na interface. A espessura da camada fibrosa depende dos fatores listados na Tabela 1 (HENCH e WILSON, 1993).

Tabela 1. Fatores que afetam a resposta interfacial tecido/implante.

Tecido	Implante
Tipo de tecido	Composição do implante
Saúde do tecido	Fases do implante
Idade do tecido	Ligações entre as fases
Circulação sanguínea no tecido	Morfologia de superfície
Circulação sanguínea na interface	Porosidade superficial
Movimentação da interface	Reações químicas
Grau de ajuste	Grau de ajuste
Carga mecânica	Carga mecânica

Fonte. Traduzido e adaptado pelo autor (2012) a partir de HENCH e WILSON, 1993.

Tabela 2. Consequências das interações tecido/implante.

Reação Implante/Tecido	Consequência
Tóxica	Morte do tecido
Biologicamente quase inerte	O tecido forma uma cápsula fibrosa não aderente
Bioativa	O tecido forma uma ligação interfacial com o implante
Dissolução do implante	O tecido substitui o implante

Fonte. Traduzido e adaptado pelo autor (2012) a partir de HENCH e WILSON, 1993.

A inércia química da alumina e zircônia resulta em uma camada fibrosa muito fina em condições favoráveis. Implantes metálicos quimicamente mais reativos produzem camadas interfaciais mais espessas. Porém, é importante lembrar que a espessura de uma camada fibrosa interfacial também depende da mobilidade e do ajuste da interface, assim como dos demais fatores indicados na Tabela 1 (HENCH e WILSON, 1993).

O terceiro tipo de resposta interfacial apresenta-se quando uma ligação é formada através da interface entre o tecido e o implante, chamada interface bioativa. A ligação interfacial prevê o movimento entre os dois materiais e imita o tipo de interface formada quando tecidos naturais são auto-reparados. Esta interface requer que o material tenha uma taxa controlada de reatividade química. Tem como característica a adaptação como função do tempo, semelhante aos tecidos naturais, os quais se encontram em um estado de equilíbrio dinâmico (HENCH e WILSON, 1993).

Quando a taxa de mudança de uma interface bioativa é suficientemente rápida o material dissolve-se, ou reabsorve-se, e é substituído pelos tecidos adjacentes. Sendo assim, um material reabsorvível deve ter uma composição que possa ser degradada quimicamente por fluidos corpóreos ou digerida facilmente por macrófagos. Os produtos de degradação devem ser compostos químicos não tóxicos e devem ser facilmente eliminados sem dano às células (HENCH e WILSON, 1993).

3.3 Biocompatibilidade e Bioresposta a Biomateriais

As interações entre o tecido e o material implantado geram uma série de respostas, a qual é iniciada com o procedimento de implantação do dispositivo médico ou dispositivo de tecido engenheirado. Estas respostas encontram-se listadas na Tab. 3. A manifestação destas respostas aos biomateriais é considerada como normal. É importante notar que elas dependem do tecido, órgão e espécie do hospedeiro. Deve ser reconhecido que estas reações ocorrem, ou são iniciadas, prematuramente e têm uma resolução rápida, levando à fibrose ou à formação da cápsula de tecido fibroso (ANDERSON, 2008).

Tabela 3. Sequência de Respostas do Hospedeiro.

Ferida
Interações sangue-material
Formação de matriz provisória
Inflamação aguda
Tecido granular
Reação de corpo estranho
Fibrose/formação de cápsula de tecido fibroso

Fonte. Traduzido e adaptado pelo autor (2012) a partir de ANDERSON, 2008.

Classicamente, a biocompatibilidade de um material implantado tem sido descrita em termos da aparência morfológica da reação inflamatória do material. Porém, a resposta inflamatória consiste em uma série de reações complexas envolvendo vários tipos de células. As densidades, atividades e funções de cada célula são controladas por vários mediadores endógenos e autocóides (ANDERSON, 2008).

O tamanho, forma, propriedades físico-químicas do biomaterial, dimensões físicas e as propriedades da prótese ou dispositivo podem ser responsáveis pelas variações da intensidade e duração dos processos de cura, inflamação ou cicatrização. Sendo assim, a intensidade e/ou o tempo da reação inflamatória podem caracterizar a biocompatibilidade de um biomaterial ou dispositivo médico (ANDERSON, 2008).

3.4 Polímeros Sintéticos não Degradáveis utilizados na Área Biomédica

Uma característica comum da maioria dos polímeros sintéticos não degradáveis é a inércia biológica (HENCH e POLAK, 2002). Estes materiais foram desenvolvidos para reduzir ao mínimo a resposta do hospedeiro ao biomaterial. Eles provocam o aumento do volume sanguíneo, causando a distensão anormal nos vasos sanguíneos em diversos dispositivos médicos, tais como materiais de sutura, implantes ortopédicos, dispositivos de fixação de fratura, cateteres e tubos de diálise. Estes materiais são também aplicados como portadores implantáveis para a liberação de drogas a longo prazo. Apesar da excelente inércia biológica e das propriedades mecânicas ajustáveis, implantes ortopédicos elaborados com polímeros sintéticos não degradáveis e cimentos ósseos não degradáveis, em última instância, falham com uma alta taxa devido a problemas na interface, devido à falta de integração com o tecido circundante, infecções ou a reabsorção do tecido ósseo causado pela blindagem de tensões (BOBYN *et al.*, 1992; JACOBS, SUMNER e GALANTE, 1993).

Alguns dos polímeros sintéticos não degradáveis mais utilizados na área biomédica são polietileno (PE) (HASEGAWA *et al.*, 1999), polipropileno (PP), poliestireno (PS) (HACKER e MIKOS, 2008), politetrafluoretileno (PTFE), (XUE e GREISLER, 2003), poli(metacrilato de metila) (PMMA) (SAHA e PAL, 1984; HENDRIKS *et al.*, 2004), hidrogéis de poli(metacrilato de metila) (LANGER e

PEPPAS, 1981; PEPPAS *et al.*, 2000; LLOYD, FARAGHER e DENYER, 2001), poli(etilenoglicol) (PEG), poli(óxido de etileno) (PEO) e polidimetilsiloxano (PDMS) (HACKER e MIKOS, 2008).

3.4.1 Polisiloxanos

Homopolímeros de silicone com altos valores de massa molecular, especialmente o polidimetilsiloxanos (PMDS), exibem uma combinação interessante de propriedades. Estas incluem temperaturas muito baixas de transição vítrea ($T_g = -123$ °C), estabilidade térmica, resistência à radiação UV, e à oxidação, baixa energia de superfície, hidrofobicidade, alta permeabilidade a gases, propriedades elétricas, inércia fisiológica e biocompatibilidade (NOLL, 1978).

Apesar de apresentar estas propriedades atrativas, homopolímeros de PDMS apresentam uma baixa tensão de ruptura à tração à temperatura ambiente (tensão máxima ~ 1 MPa), inclusive para massas moleculares muito altas (NOLL, 1978; PALMANTEER, 1988). Este é um resultado direto do valor da T_g e dos baixos valores das forças intermoleculares entre as cadeias do polímero (VORONKOV, MILESHKEVICH e YUZHELUSKII, 1978). De maneira a obter propriedades razoáveis, o PDMS deve ser altamente reticulado e, em muitos casos, cargas reforçantes finamente divididas devem ser incorporadas (WARRICH *et al.*, 1979).

Várias características estruturais fazem da cadeia principal dos siloxanos uma das mais flexíveis em toda a ciência dos polímeros (MARK, 1990). O motivo desta flexibilidade pode ser vista na Figura 1. A ligação da cadeia principal Si-O possui um comprimento (1,64 Å) significativamente maior que a ligação C-C (1,53Å), a última sendo de vital importância na maioria dos polímeros orgânicos (LUKEVICS, PUDORA e STURKOVICH, 1989). Como resultado, interferências estéricas ou congestionamentos intramoleculares são diminuídos (FLORY, 1969). Esta característica aplica-se a polímeros inorgânicos e semi-inorgânicos em geral.

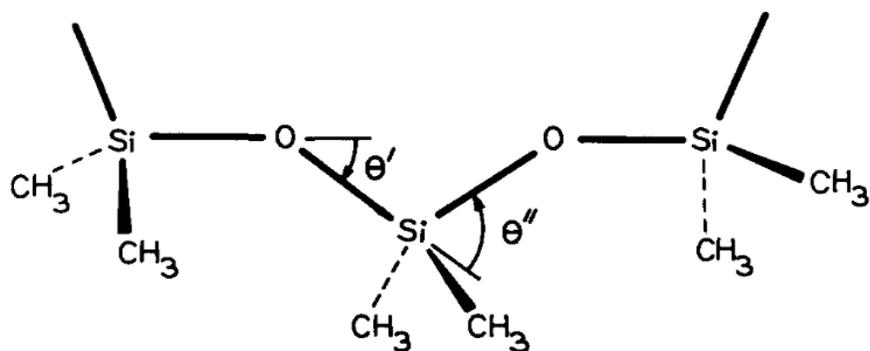


Figura 1. Representação da estrutura química do polidimetilsiloxano.
Fonte. FLORY, 1969.

Grande parte das ligações simples entre átomos inorgânicos (Si-Si, S-C, Si-N, P-N, etc.), tem maior comprimento que a ligação C-C. Também, os átomos de oxigênio da cadeia principal não estão comprometidos pelos grupos laterais, e eles são tão pequenos quanto o átomo pode ser, e ainda assim possuem a bivalência necessária para continuar com a estrutura da cadeia. Também, o ângulo da ligação Si-O-Si ($180^\circ - \theta'$) de $\sim 143^\circ$ é muito mais aberto que a ligação tetraédrica usual (que ocorre com $\sim 110^\circ$), e pode inverter-se (DeBOLT e MARK, 1988) para a posição linear (180°) com um pequeno custo energético.

Similarmente, rotações torcionais podem acontecer sem consideráveis aumentos da energia. Estas características estruturais têm o efeito de aumentarem a flexibilidade dinâmica da cadeia (FLORY, 1969). Elas também aumentam a flexibilidade de equilíbrio, que é a habilidade de uma cadeia de assumir uma configuração compacta quando se encontra na forma aleatória (MARK, ALLCOCK e WEST, 2005).

Propriedades do silicone tais como inércia química, ausência de toxicidade, alta penetrabilidade pelo oxigênio e excelentes propriedades óticas, o tornam um biomaterial bastante útil. Porém, materiais baseados no silicone têm demonstrado permitir a adsorção não seletiva de quantidades significativas de proteínas, devido aos grandes níveis de hidrofobicidade, o que resulta em uma pobre biocompatibilidade *in vivo* (LI *et al.*, 2011). Este fenômeno de *fouling* de proteínas pode ser associado a varias complicações que ocorrem durante o uso do silicone, incluindo inflamação localizada, infecção, desenvolvimento de várias doenças mediadas imunologicamente (LI *et al.*, 2011) e trombose (MATSUMOTO, FUKUDA,

e MIURA, 2011). Sendo assim, existe a necessidade de desenvolver um silicone com propriedades *antifouling*, isto mantendo suas características originais desejadas (LIN *et al.*, 2011). Até hoje, o aprimoramento do silicone para a prevenção da adsorção não seletiva de proteínas tem sido focado no desenvolvimento de estratégias de modificação superficial e co-polimerização usando monômeros hidrofílicos (LIN *et al.*, 2011).

Isto tem levado à fabricação de superfícies com propriedades bioinertes, as quais reduzem a adsorção de proteínas mediante o recobrimento da superfície com cerdas de polímeros hidrofílicos, tais como polietilenoglicol (PEG), poli(metacrilato de fosforilcolina) (PMPC). Tem sido reportado que estes polímeros inibem a adsorção não seletiva de proteínas devido ao seu alto grau de hidratação (MATSUMOTO, FUKUDA, e MIURA, 2011). Inicialmente, as técnicas utilizadas para tal fim são o tratamento com plasma ou técnicas de graftização de polímeros (LIN *et al.*, 2011).

3.4.2 Elastômeros de Polissiloxanos

Polímeros de siloxanos puros são raramente apropriados para o uso na tecnologia em geral. Vários aditivos geralmente devem ser incorporados para melhorar suas propriedades. Uma formulação típica contém o polímero siloxano, mais alguns ou todos os seguintes ingredientes: reforços, material de enchimento não reforçante, auxiliares de processamento, pigmentos, anti-degradantes, agentes de cura (por exemplo, agentes de terminação da cadeia com o catalisador associado, ou peróxidos inorgânicos) (BOBEAR, 1973). Os polímeros de siloxanos geralmente têm uma massa molecular alta, e devem ter terminações reativas para a cura no extremo da cadeia ou grupo vinil laterais para a cura com peróxido (MARK, ALLCOCK e WEST, 2005).

A carga de reforço preferida é a sílica com altos valores de área superficial, particularmente a elaborada mediante o processo de pirólise (KOHLS e BEAUCAGE, 2002). Ela outorga o maior grau de reforço, e como consequência da alta pureza, leva à obtenção de excelentes propriedades isolantes. O negro de fumo produz certo grau de reforço, mas pode interferir com certos tipos de peróxidos durante a cura. Também sua condutividade elétrica pode comprometer severamente as propriedades elétricas do material (BOBEAR, 1973). Uma das razões para o uso

de cargas não reforçantes é a redução do custo de produção do elastômero, são exemplificados pelo caulim, carbonato de cálcio, entre outros (MARK, ALLCOCK e WEST, 2005).

A natureza do agente de cura empregado depende da reação química escolhida para a obtenção das ligações cruzadas. No caso de reações químicas de terminação de cadeia, os grupos terminais são geralmente agrupamentos hidroxílicos ou vinílicos. No primeiro caso, o agente de terminação pode ser o tetraetilortossilicato (TEOS) $[\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4]$, que reage pela reação de condensação com um sal de estanho usado como catalisador. No segundo caso, o agente de terminação pode ser um siloxano oligomérico que contenha agrupamentos Si-H, com os átomos de hidrogênio adicionados à ligação dupla no polisiloxano polimérico. Sais de prata são catalisadores para este tipo de reação de cura (CORAN, 1978).

Peróxidos alifáticos ou aromáticos também podem ser utilizados como agentes de cura, pela reação com cadeias laterais vinílicas ou inclusive grupos alquila saturados. Peróxidos específicos são escolhidos com base nas temperaturas de decomposição, nos produtos da reação que deixam depois do processo de cura ter acabado. Alguns peróxidos utilizados são o peróxido de bis(2,4-diclorobenzoíla), peróxido de benzoíla, peróxido de dicumila e peróxido de di-t-butil (CORAN, 1978).

3.5 Ortofosfatos de Cálcio

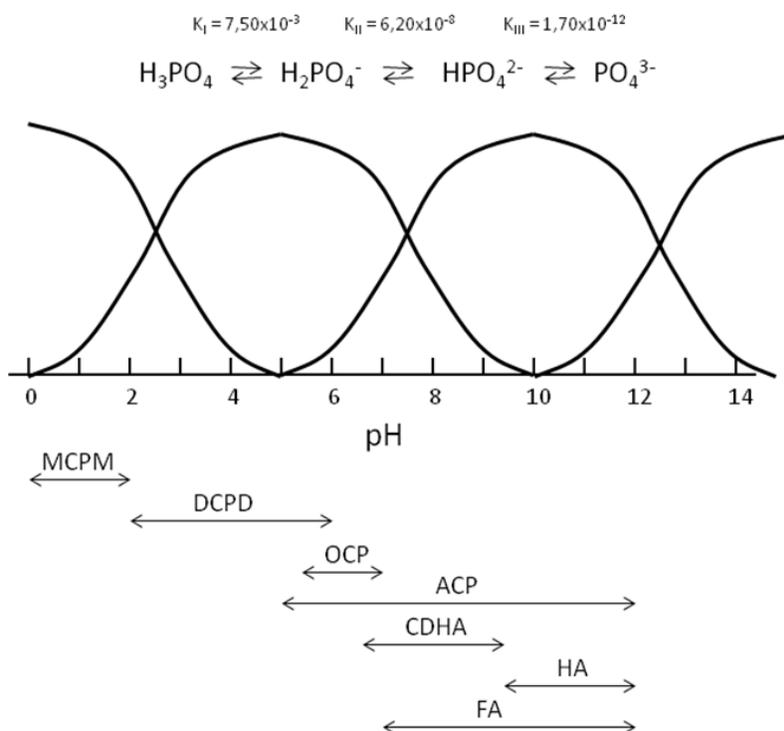
Estes materiais são de interesse elevado pois representam a parte inorgânica de dentes, tecido ósseo e tecido calcificado, no caso de doenças. Devido à sua grande semelhança química com o tecido ósseo, vários ortofosfatos de cálcio têm ótima biocompatibilidade e bioatividade, o que possibilita o seu emprego na produção de implantes monolíticos ou no revestimento superficial de outros (DOROZHKIN,2009).

A Tabela 4 apresenta as principais características químicas dos ortofosfatos de cálcio existentes, enquanto que a Figura 2 mostra a influência do pH da solução aquosa no ortofosfato de cálcio precipitado.

Tabela 4. Principais propriedades de ortofosfatos de cálcio

Razão Ca/P	Composto	Fórmula	Solubilidade a 25 °C (g/L)	Faixa de pH estável em soluções aquosas a 25 °C
0,5	fosfato monocálcico monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	~ 18	0,0 - 2,0
0,5	fosfato monocálcico anidro (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	~ 17	estável a T > 100 °C
1,0	fosfato dicálcico dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	~ 0,088	2,0 - 6,0
1,0	fosfato dicálcico anidro (DCPA)	CaHPO_4	~ 0,048	estável a T > 100 °C
1,5	α -fosfato tricálcico (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	~ 0,0025	estável a T > 100 °C
1,67	hidroxiapatita (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	~ 0,0003	9,5 - 12

Fonte. Traduzido e adaptado pelo autor (2012) a partir de DOROZHKIN, 2009.



- ACP - *amorphous calcium phosphate*, fosfato de cálcio amorfo
- CDHA - *calcium deficient hydroxyapatite*, hidroxiapatita deficiente em cálcio
- DCPD - *dibasic calcium phosphate dihydrate*, fosfato dicálcico dibásico dihidratado
- FA - fluorapatita
- HA - hidroxiapatita
- MCPM - *monocalcium phosphate monohydrate*, monofosfato de cálcio monohidratado
- OCP - *octacalcium phosphate*, fosfato octacálcico

Figura 2. Variação do pH das concentrações iônicas no equilíbrio triprótico de soluções de ácido fosfórico e faixa de estabilidade do pH em soluções aquosas a 25 °C.

Fonte. Adaptado pelo autor (2012) a partir de DOROZHKIN, 2009.

3.5.1 Fosfato dicálcico dihidratado

O nome químico correto é hidrogeno ortofosfato de cálcio dihidratado (DCPD), é o mineral brushita. Pode ser facilmente cristalizado a partir de soluções aquosas. Transforma-se em fosfato dicálcico anidro (DCPA) a temperaturas acima de 80 °C (DOROZHKIN, 2009). DCPD é de importância biológica, pois é muitas vezes encontrado em calcificações patológicas e em pedras urinárias (LEGEROS, 1991). Em medicina, o DCPD é usado em cimentos de fosfato de cálcio e como intermediário para a re-mineralização do dente (DOROZHKIN, 2009).

3.5.2 Fosfato dicálcico anidro

O nome químico correto hidrogeno ortofosfato de cálcio anidro (DCPA), o mineral monetita. É a forma desidratada do DCPD. Como o DCPD, o DCPA pode ser cristalizado a partir de soluções aquosas acima de 100 °C. De maneira contrária ao DCPD, o DCPA ocorre tanto em calcificações normais e patológicas. É utilizado em cimentos de fosfato de cálcio (TAKAGI, CHOW e ISHIKAWA, 1998).

3.5.3 α -Fosfato tricálcico

O nome quimicamente correto é α -fosfato tricálcico tribásico, (α -TCP) é usualmente preparado a partir do β -TCP pelo aquecimento acima de 1125 °C e pode ser considerada uma fase de alta temperatura do β -TCP. Existe a possibilidade de formar silicatos estabilizados de α -TCP a temperaturas inferiores a 800 – 1000 °C (NURSE, WELCH e GUN, 1959). Este tipo de α -TCP é chamado de α -TCP estabilizado por silício (LANGSTAFF *et al.*, 1999).

Embora o α -TCP e o β -TCP tenham exatamente a mesma composição química, eles diferem em estrutura cristalina e solubilidade. A fase β -TCP é mais estável que a fase α -TCP (YIN, STOTT e RUBIO, 2003). Assim, o α -TCP é mais reativo em sistemas aquosos, tem maior energia específica e pode ser hidrolisado a uma mistura de outros fosfatos de cálcio (BERMUDEZ *et al.*, 1994).

O α -TCP nunca ocorre em calcificações biológicas, mas na medicina o α -TCP quimicamente puro é usado em cimentos de fosfato de cálcio (CFC) (BERMUDEZ *et al.*, 1994). A desvantagem da utilização do α -TCP é a rápida velocidade de reabsorção, a qual limita sua aplicação nesta área. O α -TCP estabilizado com silício tem sido comercializado como matéria prima para a produção de *scaffolds* de cerâmica porosa bioabsorvível (METSGER, DRISKELL e PAULSRUD, 1982).

3.5.4 Reação por Combustão para a Síntese do α -Fosfato Tricálcico

A reação de combustão parte de uma mistura de reagentes que oxidam facilmente (tais como nitratos, sulfatos, carbonatos, etc.) e um combustível orgânico (tal como ureia, carboidrazida, hidrazida maleica, etc.), que age como um agente redutor. A solução é aquecida até a ebulição e auto-ignição, ocorrendo uma reação rápida e auto-sustentável, resultando normalmente na obtenção de um pó fino, seco e geralmente cristalino. Embora reações redutoras tais como estas sejam exotérmicas e geralmente conduzam à explosão, se não forem controladas, a combustão de misturas de nitratos com ureia e/ou glicina, usualmente, são reações auto-propagantes e não explosivas. A grande quantidade de gás formado pode resultar na formação de chamas, que podem atingir temperaturas acima de 1000 °C (JAIN, ADIGA e VERNEKER, 1981).

A obtenção de fosfatos de cálcio pelo método de combustão foi relatada por Tas (TAS *et al.*, 1997) e Volkmer e seus colaboradores (VOLKMER *et al.*, 2008; 2009), utilizando ureia como combustível; por Volkmer e seus colaboradores (VOLKMER, CALDAS e SANTOS, 2008) empregando glicina como combustível e por Sasikumar e Vijayaraghavan (SASIKUMAR e VIJAYARAGHAYAN, 2008) que utilizaram uma mistura entre ácido succínico e ácido nítrico como combustível.

As maiores vantagens da utilização desta técnica para a obtenção do α -TCP são a pureza, pois se obteve apenas o α -TCP como fase presente, o que não ocorre quando se utiliza o método convencional (a reação de estado sólido), a rapidez da técnica e a obtenção de partículas com tamanho de partícula nanométrico (VOLKMER, CALDAS e SANTOS, 2008).

3.5.5 Hidroxiapatita

Usualmente escrita como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HAp) para denotar que a célula unitária cristalina é formada por duas moléculas, é o segundo ortofosfato de cálcio mais estável, depois da Fluorapatita (FA), e o menos solúvel. A HAp quimicamente pura cristaliza com uma estrutura monoclínica, porém, para temperaturas superiores a 250 °C, existe uma transição de fase monoclínica para hexagonal.

Algumas impurezas, como substituições parciais de hidroxilas, por fluoretos ou cloretos, estabilizam a estrutura hexagonal da HAp à temperatura ambiente. Por este motivo, a HAp é raramente a fase estequiométrica e só alguns cristais de HAp natural sempre exibem o grupo espacial hexagonal. A estrutura hexagonal da HAp é a mais comum para aplicações biomédicas (DOROZHKIN, 2009).

Várias técnicas podem ser utilizadas para a precipitação da HAp, elas podem ser divididas em reações de estado sólido e métodos úmidos (BRIAK-BEM *et al.*, 2008), os últimos incluem precipitação, processo hidrotérmico e hidrólise de outros ortofosfatos de cálcio. Embora a síntese seja realizada em condições ideais de estequiometria, os precipitados não são estequiométricos, sugerindo a formação intermediária de fases precursoras (LEGEROS, R. Z. e LEGEROS, J. P., 1993). A HAp pura nunca acontece em sistemas biológicos. Por outro lado, devido às semelhanças químicas com a parte mineral de ossos e dentes, é amplamente utilizada como recobrimento em implantes ortopédicos (prótese de quadril) e dentários (SUCHANEK e YOSHIMURA, 1998). Partículas de HAp podem ser igualmente implantadas (MANGANO *et al.*, 2008), devido à grande semelhança com a apatita biológica, tem sido utilizada em sistemas de liberação de drogas (LIU *et al.*, 2005).

3.5.6 Reação por Precipitação para a Síntese da Hidroxiapatita

A técnica mais comum para a obtenção de HAp é a precipitação. Vários métodos de precipitação geram cristais de HAp de escala subnanométrica, nanométrica ou micrométrica. Por outro lado, esta técnica apresenta algumas desvantagens, como a necessidade de altos valores de pH para evitar a formação de monofosfato de cálcio e a desidratação do cálcio.

Uma alta temperatura de sinterização é também requerida na reação de precipitação para a formação de HAp cristalina. A rápida precipitação durante a adição da solução de fosfato à solução de cálcio resulta em heterogeneidades químicas. Uma adição lenta e soluções diluídas são necessárias para melhorar a homogeneidade química e a estequiometria final dos cristais de HAp (RAJABI-ZAMANI, BEHNAMGHDER e KAZEMZADEH, 2008).

Quando a temperatura da solução não excede os 100 °C, cristais de dimensões nanométricas podem ser preparados. Eles podem ter formatos variados, como o de lâmina, de bastão, de partícula equiaxial ou acicular. A cristalinidade obtida é em muitos casos menor à cristalinidade da HAp estequiométrica bem cristalizada, este fator conjuntamente com a relação Ca/P, depende fortemente das condições de preparo (MOBASHERPOUR *et al.*, 2007).

3.6 Compósitos

Desde o ponto de vista clínico ou médico, é importante que o material do implante mantenha a combinação de alta resistência e alta ductilidade (incluindo tenacidade), que demonstre biocompatibilidade, seja caracterizado como quimicamente estável, apresente um comportamento não magnético, e seja de fácil manipulação e desinfecção (COSTANTINO, FRIEDMAN e LANE, 1993). Alguns dos biomateriais que são atualmente utilizados em intervenções cirúrgicas são a borracha de silicone (BS) (STARCH, FIORIHIN e LIN, 2003), cerâmicas de fosfato de cálcio (LEICHTER e BLOCH, 1992), politetrafluoretileno (PTFE) (CATANESE *et al.*, 1999), e polietileno de ultra alta massa molecular (ROMO, SCLAFANI e SABINI, 1998).

Embora estes materiais sejam amplamente empregados em cirurgias plásticas e de reconstrução, como em outras aplicações biomédicas, não são capazes de satisfazer completamente as necessidades para uma aplicação determinada (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009). Em anos recentes, vários estudos têm focado na melhoria das propriedades mecânicas, físico-químicas e biológicas de polímeros tais como a BS (WEN *et al.*, 2008; ABBASI, MIRZADEH e KATBAB, 2001) e *scaffolds* de quitosana mediante a incorporação de substâncias inorgânicas bioativas, tais como os fosfatos de cálcio, especialmente para gerar o crescimento de tecido poroso e o aumento da resistência mecânica (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009).

De forma geral, Callister (CALLISTER, 2007) define compósito como um material multifásico que demonstra uma significativa proporção das propriedades das fases constituintes, de tal maneira que a melhor combinação das propriedades seja atingida. As fases constituintes devem ser quimicamente dissimilares e separadas por uma interface nítida. Segundo o princípio da ação combinada, as

melhores combinações de propriedades são logradas mediante a combinação sensata de dois ou mais materiais distintos.

Os compósitos reforçados por partículas possuem duas classificações, compósitos reforçados por partículas grandes e reforçados por dispersão. A distinção entre ambos está baseada nos mecanismos de reforço. O termo “grande” é usado para indicar que as interações matriz/partícula não podem ser tratadas a nível atômico ou molecular. Na maioria destes compósitos, a fase de reforço é mais dura e rígida do que a da matriz. Estas partículas de reforço tendem a restringir o movimento da matriz nas proximidades da cada partícula. A matriz transfere uma parte da tensão aplicada às partículas, as quais suportam uma fração da carga. O grau de reforço, a melhora do comportamento mecânico, depende da força de ligação na interface matriz/partícula (CALLISTER, 2007).

Segundo Ratner (RATNER, 2004), um material compósito é definido como um material formado por dois ou mais constituintes quimicamente diferentes, em uma escala macrométrica, tendo uma interface distintiva separando-os. Esta definição engloba compósitos com fibras e partículas, os quais são de muito interesse como biomateriais. Tais compósitos consistem de uma ou mais fases descontínuas embutidas na fase contínua. A fase descontínua, normalmente mais dura e resistente do que a fase contínua, é chamada de reforço ou material de reforço, enquanto que a fase contínua é chamada de matriz.

As propriedades dos compósitos estão fortemente influenciadas pelas propriedades dos materiais constituintes, distribuição e conteúdo, e pela interação entre eles. As propriedades dos compósitos podem ter o valor da soma das frações volumétricas dos constituintes, ou estes podem interagir de uma maneira sinérgica, devido à orientação geométrica, produzindo um compósito com propriedades que não poderiam ser obtidas mediante a simples soma das frações volumétricas. Sendo assim, para a descrição de um material compósito, além de especificar os materiais constituintes e suas propriedades, devem ser especificadas a geometria do reforço, sua concentração, distribuição e orientação (RATNER, 2004).

Metais, cerâmicas e polímeros, quando empregados independentemente como biomateriais, podem apresentar certas limitações. Sendo assim, a busca por um biomaterial ideal leva ao desenvolvimento de biomateriais compósitos, que são

materiais feitos mediante a combinação física de materiais convencionais. Biomateriais compósitos geralmente consistem de duas fases; uma matriz, na qual encontra-se imersa a fase de reforço, que normalmente está formada por partículas ou fibras, desta maneira ambas fases permanecem separadas em escala macrométrica no compósito. O ajuste da composição e estrutura de ambas fases pode ser feita para obter propriedades físico-químicas específicas, obtendo desta maneira uma resposta biológica desejada. Sendo assim, a composição, síntese e processamento dos biocompósitos são aspectos que devem ser considerados cuidadosamente na hora de projetar um compósito para aplicações biomédicas (BASU, KATTI e KUMAR, 2009).

3.7 Agentes de Acoplamento Silano

O termo agente acoplamento silano geralmente aplica-se a espécies contendo silício, capazes de formar ligações químicas entre materiais dissimilares, especialmente no reforço de compósitos poliméricos. Os materiais a serem ligados são normalmente polímeros orgânicos com reforços inorgânicos, embora os agentes de acoplamento silano possam também ser utilizados com outros tipos de reforços e polímeros. Pequenas quantidades de agentes de acoplamento silano, usados na interface podem melhorar em grande medida as propriedades mecânicas do material compósito. Eles também podem ser utilizados em peças formadas como revestimentos para alterar as propriedades superficiais do material, ou copolimerizados para a obtenção de polímeros orgânicos. Os agentes de acoplamento silano são encontrados em uma ampla variedade de aplicações, tais como revestimentos metálicos, materiais dentários e lentes de contato (PLUEDDEMANN, 1991).

Misturas binárias de polímero e carga podem apresentar baixos valores de resistência mecânica como consequência das interações pobres entre eles, o que resulta em interfaces fracas. Quando a força de ligação entre as fases é fraca, pode ser a fonte de falha dos compósitos, a qual acontece mediante a delaminação. A falha entre as faces é especialmente crítica na presença de espécies químicas formando moléculas pequenas, tais como a água (PLUEDDEMANN, 1991).

3.7.1 Modificação da Superfície de Fosfatos de Cálcio

Um dos fatores determinantes da resistência mecânica final do compósito é a tensão interfacial entre o fosfato de cálcio e o polímero. Com a finalidade de obter uma suficiente resistência mecânica em tais compósitos, visando seu uso em aplicações biomédicas, vários métodos têm sido desenvolvidos para melhorar a interação interfacial do fosfato tricálcico, ou da hidroxiapatita, com a matriz polimérica. Por exemplo, o uso de silanos como agente de acoplamento para a modificação de HAp, ou de sais de zirconil, poliácidos, isocianatos, entre outros. Pouco se conhece sobre a modificação da superfície do TCP; a ausência de grupos reativos apropriados no TCP pode ser o motivo. Somente a silanização foi reportada como mecanismo de modificação da superfície do mesmo (KUNZE *et al.*, 2003).

Wen e colaboradores (WEN *et al.*, 2008) reportaram o estudo da modificação da superfície de nanocristais de HAp. Para tal, uma solução de viniltriétoxisilano (VTES) foi diluída em uma solução aquosa de etanol, a mesma teve seu pH ajustado com ácido acético. Para a preparação do compósito, o silicone foi encapsulado entre os rolos de um misturador de dois rolos a 50 °C. A continuação, a solução contendo os nanocristais de HA modificados foi adicionada gradualmente.

Thein-Han e colaboradores (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009), para avaliar as diferentes respostas celulares da BS e do compósito BS/n-HAp e a sua relação com as propriedades superficiais, utilizaram como agente modificador o octametiltrisiloxano. Foi feita uma solução contendo o agente modificador na qual foi feita a dispersão de 5 %(m/m) de cristais de n-HAp. A biocompatibilidade do compósito BS/n-HAp resultante, ao oferecer uma resposta celular superior, foi visto como uma potencial alternativa para a BS. O componente ativo, a n-HAp, modulou a interação substrato/célula e espera-se que possa garantir a estabilidade a longo prazo do implante.

O uso de organosilanos com grupos hidrolisáveis na síntese de fosfatos de cálcio amorfos pode representar uma alternativa para o aumento a resistência mecânica dos compósitos, melhorando a interação dos reforços com a fase polimérica. Estes silanos vêm sendo utilizados, normalmente em processos de sol-gel a alta temperatura, na preparação de reforços vítreos, incluindo aqueles que são bioativos (SKRTIC, ANTONUCCI e EANES, 1996).

3.8 Composito Silicone/Fosfatos de Cálcio

Vários intentos sérios têm sido feitos para melhorar a biocompatibilidade do silicone (ABASSI, MIRZADEH e KATBAB, 2001; ABASSI, MIRZADEH e KATBAB, 2002; AZIZ, WATER e JAGGER, 2003; FURUZONO, SONADA e TANAKA, 2001). Tem sido demonstrado que estas modificações podem melhorar significativamente as propriedades biológicas do silicone (FURUZONO, WANG e KOREMATZU, 2002). Mas até agora estas técnicas não têm sido exitosas na melhoria da bioatividade do silicone (WEN *et al.*, 2008).

As cerâmicas orgânicas são difíceis de moldar devido as suas propriedades mecânicas (fragilidade, baixa confiabilidade mecânica, ausência de resiliência) (HENCH, 1998), uma abordagem para a melhoria da bioatividade e da propriedade de ligação com o tecido ósseo de polímeros, tais como a borracha de silicone (BS), é a mistura com a hidroxiapatita biologicamente ativa de tamanho nanométrico (n-HAp). O compósito resultante BS/n-HAp pode ser enxergado como representante de uma nova classe de biomateriais nanoestruturados. O compósito tem o potencial de exibir excelentes propriedades físicas e biológicas, com a BS provendo as propriedades mecânicas desejadas enquanto que a HAp promove a bioatividade. A adição de HAp à BS providenciará sítios bioativos que são bioabsorvíveis e favoráveis para o crescimento do tecido (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009).

Comparado com a BS pura, o compósito de BS/n-HAp causa um menor dano aos eritrócitos. Isto acontece pois os radicais não polares localizados lateralmente à espiral de ligações Si-O da cadeia principal são de baixa polaridade e contribuem para a destruição dos eritrócitos (ZHOU e YI, 1999). A n-HAp inorgânica e bioativa altera a estrutura da superfície da BS mediante o desenvolvimento de um diferente grau de eletro-ionização em um meio hidratado. Isto confere à superfície do compósito nanoestruturado de BS/n-HAp hidrofiliabilidade e altera a carga superficial, com a conseqüente diminuição do dano aos eritrócitos. Sendo assim, as limitações associadas ao uso da BS pura podem ser superadas mediante a incorporação de n-HAp à matriz de BS (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009).

3.8.1 Estudos reportados do Compósito Silicone/ Hidroxiapatita

Yokoya (YOKOYA, 1991) desenvolveu um compósito de HAp com silicone, estudou sua biocompatibilidade com o tecido ósseo e investigou suas aplicações

clínicas. O compósito BS/HAp contendo 30, 50 e 70 %(m/m) de partículas de HAp foram implantados em fêmures de coelhos por 2, 4 e 12 semanas, a continuação foi realizada a observação histológica. Tecido fibroso foi formado diretamente na superfície do silicone enquanto que nos compósitos, novo tecido trabecular foi formado a partir do osso cortical após duas semanas. Tecido ósseo desenvolveu-se e entrou em contato com a superfície diretamente após quatro semanas e posteriormente propagou-se na superfície do compósito.

O compósito foi aplicado nos seguintes casos clínicos; reconstrução mandibular, implantação adicional para deformidades na face, aumento da extremidade alveolar e auxiliando a sustentação de próteses faciais. Os resultados nos casos de reconstrução de mandíbula não foram satisfatórios, porém nos outros casos os resultados foram bons. Sendo assim, foi considerado que o compósito de silicone com 70 %(m/m) de HAp pode ser útil na condição estatística (YOKOYA, 1991).

Jovanovic (JOVANOVIC *et al.*, 2004) investigou a influência de agentes de acoplamento hidrofóbicos baseados em compostos contendo sílica; metilsiliconato de sódio (SMS), emulsão aquosa de silicone (SWE) e poldimetilsiloxano com terminações de silanol (PDMS), nos parâmetros cinéticos e termodinâmicos do entrecruzamento de compósitos de PDMS/HAp.

Segundo os resultados de espectroscopia de infravermelho, pôde-se assumir que o modo de interação mais provável entre a HAp e os agentes de acoplamento foi mediante ligações de hidrogênio das agrupações OH⁻ da hidroxiapatita com o oxigênio do siloxano. A HAp não modificada causou as máximas variações na entalpia do entrecruzamento, comparado com a entalpia obtida com as HAp modificadas. O aumento do grau de hidrofobicidade das partículas de HAp levou ao aumento das entalpias de entrecruzamento. As energias de ativação determinadas para o entrecruzamento dos compósitos PDMS/HAp com todas as amostras de HAp foram maiores que para o polímero sem carga. A HAp não modificada abaixou a ordem da reação de reticulação, ao contrario da HAp modificada, em cujo caso os valores da ordem da reação aumentaram (JOVANOVIC *et al.*, 2004).

Wen (WEN *et al.*, 2008), baseado no conceito que o grau de reforço aumenta com a diminuição do tamanho de partícula do reforço, propôs o uso de n-HAp como

carga para a formação de compósitos BS/n-HAp. Os cristais de n-HAp foram preparados por via úmida. Para modificar as partículas de n-HAp foi utilizado viniltrietóxisilano (VTES) $[(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_3\text{-Si-CH=CH}_2]$ adicionado a uma solução de etanol, o pH da solução foi ajustado com ácido acético.

Os compósitos obtidos demonstraram ter uma ótima dispersão de partículas de n-HAp. Ao contrario do reforço obtido na BS com cristais de HAp de tamanho micrométrico (BS/ μ -HA), a tensão de ruptura do compósito BS/n-HAp foi aumentada significativamente. Isto devido principalmente à introdução de uma maior área de superfície, a qual pode aumentar a ligação entre as partículas de HAp com a BS na interface. O compósito BS/n-HAp apresentou as melhores propriedades mecânicas quando o conteúdo de HAp foi aproximadamente 40-50 % (m/m) (WEN *et al.*, 2008).

Thein-Han e colaboradores (THEIN-HAN, SHAH e MISRA, 2009) estudaram a resposta biológica de um nanocompósito formado por uma matriz de BS reforçada por n-HAp. O processamento de tal compósito envolveu a dispersão das nanopartículas em octametiltrisiloxano, empregado como solvente. A resposta biológica do compósito, em termos da adesão celular inicial, viabilidade celular e proliferação, foi consistentemente maior na superfície no compósito BS/5% (m/m) n-HAp, comparada com a do silicone puro. Os pesquisadores reportaram que o espalhamento celular, morfologia e densidade no compósito obtido foram distintivamente diferentes aos obtidos na BS pura. O crescimento de pré-osteoblastos na superfície do compósito foi bem espalhado, plano e grande em dimensão, com uma superfície celular rugosa. Em contraste, estas características foram menos pronunciadas na BS, superfície celular lisa e não bem espalhada.

3.9 Abordagem Biomimética para síntese de Materiais Compósitos

Nanopartículas têm sido incorporadas a polímeros em uma variedade de maneiras, mas uma das mais interessantes é a abordagem amplamente utilizada de sol-gel. Um exemplo de tal síntese é a hidrólise sol-gel de alcóxidos silanos (organosilicatos) para produzir sílica $[\text{SiO}_2]$ (Equação 1) A reação é complexa, envolvendo polimerização e ramificação, mas reação geral pode ser escrita da seguinte maneira (NAKATANI *et al.*, 2001):



sendo que a espécie Si(OR)_4 organometálica é normalmente o tetraetilortosilicato (TEOS). A hidrólise sol-gel e a condensação podem ser feitas *in situ*, dentro da matriz polimérica, para gerar nanopartículas do material cerâmico, com um diâmetro médio de poucas centenas de angstroms (NAKATANI *et al.*, 2001). O polímero normalmente possui agrupamentos terminais, tais como hidroxilas, que podem participar das reações de hidrólise-condensação (ERMAN e MARK, 1997). Tais agrupamentos terminais produzem uma melhor ligação entre as fases, que são de uma forma geral diferentes, mas agentes de acoplamento podem também ser introduzidos para melhorar a força da ligação interfacial (PAUL e MARK, 2010).

Este método de introdução de partículas de reforço tem um número de vantagens com relação ao método tradicional, no qual as partículas previamente obtidas são incorporadas, com dificuldade, ao elastômero não reticulado, antes da vulcanização (RIGBI, 1980). Devido à natureza da precipitação *in situ*, as partículas estão otimamente dispersas e estão essencialmente não aglomeradas. O mecanismo de crescimento parece envolver a simples nucleação homogênea, e como as partículas encontram-se separadas pelo polímero, elas não têm a oportunidade de coalescer. Micrografias de tais materiais reforçados mostram que as partículas encontram-se relativamente monodispersas, a maioria apresentando diâmetros na faixa de 100 - 200 Å. Uma desvantagem deste procedimento é o custo relativamente elevado, comparado com o método usual *ex situ* (PAUL e MARK, 2010).

Este método de precipitação *in situ* pode ser bastante geral, uma variedade de precursores podem ser utilizados, por exemplo; titanatos e aluminatos podem ser hidrolisados para obter, respectivamente, titânia e alumina, metais carbonílicos podem ser protonados a metais ou óxidos metálicos. Algumas fases cerâmicas além da sílica são titânia [TiO_2] (ERMAN e MARK, 1997), zircônia [ZrO_2] (MARK, 2006), alumina [Al_2O_3] (MARK, 2006), e óxidos mistos (WEN e MARK, 1995).

Vários trabalhos têm reportado o desenvolvimento de materiais e técnicas para obter propriedades biológicas e mecânicas desejadas em compósitos sintéticos a serem utilizados na substituição do tecido ósseo natural. Os mais promissores destes intentos têm empregado a abordagem biomimética na síntese de materiais compósitos artificiais. A essência do processo biomimético baseia-se na mimetização da mineralização biológica, na qual uma fase orgânica funciona como

suporte para a nucleação e crescimento de cristais inorgânicos a partir de uma solução supersaturada. O controle molecular da morfologia, tamanho e anisotropia dos cristais inorgânicos e a distribuição uniforme na fase orgânica são algumas das metas desejadas no processo biomimético (KATTI e GUJJULA, 2002).

Polímeros contendo agrupamentos funcionais polares, tais como COOH, CH, CH₂, PO₄H₂ e OH são interessantes com relação a isso, pois os agrupamentos laterais ionizáveis promovem uma maior afinidade com os íons cálcio positivos e a nucleação de cristais de HAp na solução (RISHNA *et al.*, 2001; CHANG, KO e DOUGLAS, 2003; CHANG, KO e DOUGLAS, 2003a; LIOU, CHEN e LIU, 2003; SPANOS, DEIMEDE e KOUTSOUKOS, 2002). Alguns dos mais recentes intentos empregando a técnica de mineralização *in situ* têm utilizado polímeros tais como poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido acrílico) (PAAc) e colágeno, devido à propriedade de ligação com o cálcio (CHANG, KO e DOUGLAS, 2003a; KATTI e GUJJULA, 2002; LIOU, CHEN e LIU, 2003; CIFTCIOGLU e MCKAY, 2005; SPANOS, DEIMEDE e KOUTSOUKOS, 2002). Outro polímero polar com aplicação biomédica é o poli(álcool vinílico) (PVA) (MOLLAZADEH, JAVADPOUR e KHAVANDI, 2006).

A obtenção de materiais semelhantes ao tecido ósseo, inclusive no nível mais baixo de organização hierárquica, resulta em uma tarefa difícil, pois envolve duas fases diferentes, uma orgânica e outra inorgânica. Acredita-se que o processo de mineralização mediado pela matriz imite esta estrutura (VEIS, 2005). Este ambiente de reação confinado é construído por biomoléculas, principalmente por polímeros (XU, MA e COLFEN, 2007). Estes polímeros podem oferecer a habilidade de formar HAp e de controlar as etapas do processo de mineralização; o principal objetivo destes materiais é controlar a nucleação e crescimento dos cristais de HAp. Parece possível controlar a estrutura e arranjo do polímero para modular a morfologia da HAp *in vitro*, assim como pode ocorrer *in vivo*. Interações interfaciais moleculares na interface polímero/HAp podem assistir a nucleação específica e o crescimento de nanopartículas. Estas interações também determinam a estrutura cristalográfica e a orientação da nucleação da HAp (SINHA, *et al.*, 2009).

3.10 Propriedades de Superfície e Resposta Biológica de Biomateriais

Como os materiais interagem com o ambiente mediante suas interfaces, tanto o tipo quanto a força de tais interações são altamente dependentes das

propriedades de superfície dos materiais. Quando um material entra em contato com um ambiente biológico, a química e topografia da superfície são parâmetros importantes que podem influenciar a adsorção de proteínas, interação celular, e em última análise, a resposta do hospedeiro. Porém, materiais poliméricos, cerâmicos e metálicos, com propriedades de superfície completamente diferentes, podem induzir repostas biológicas similares *in vivo*. Isto tem sido atribuído à adsorção não específica de proteínas na superfície. A adsorção de proteínas na superfície do material acredita-se seja o evento inicial quando um material entra em contato com um ambiente biológico. A camada de proteína adsorvida irá influenciar as reações biológicas subsequentes, incluindo a adesão e ativação de plaquetas. Sendo assim, a compreensão da interação entre as proteínas e a superfície do material é crítica, e o controle das interações proteína/superfície continua sendo um fator a ser levado em consideração no desenvolvimento de superfícies biocompatíveis (CHEN *et al.*, 2004)

Vários são os fatores que influenciam a adsorção de proteínas, os quais podem ser divididos em dois grupos; fatores relacionados às proteínas, tais como conformação, distribuição de carga e grau de ligação intermolecular, e fatores relacionados à superfície, como energia superficial (COMELLES *et al.*, 2010), rugosidade superficial e grupos funcionais presentes (MATSUMOTO, FUKUDA, e MIURA, 2011)

A energia superficial controla a molhabilidade da superfície e é um fator importante na determinação da cinética de adsorção e da quantidade de proteínas adsorvidas na superfície. Embora esta seja uma característica relevante para determinar a biocompatibilidade de um material, apenas alguns trabalhos na literatura focam na energia superficial de materiais poliméricos no contexto das aplicações biomédicas. Resultados obtidos no estudo de polímeros tais como PMMA, PS e PDMS demonstram que substratos com valores de energia de superfície superiores promovem a adsorção de proteínas (COMELLES *et al.*, 2010).

A molhabilidade da superfície, geralmente referida como hidrofobicidade ou hidrofiliabilidade, é um dos parâmetros mais importantes que afetam a resposta biológica em um material implantado. A molhabilidade afeta a adsorção de proteínas, adesão e ativação de plaquetas, coagulação do sangue e adesão celular

e bacterial (VOGLER, 1999). Observações com relação aos efeitos da molhabilidade superficial na adsorção de proteínas não têm sido sempre consistentes. De uma maneira geral, acredita-se que as superfícies hidrofóbicas tenham uma maior adsorção de proteínas que as superfícies hidrofílicas, devido às fortes interações hidrofóbicas que acontecem nestas superfícies, em contraste direto com as forças de solvatação repulsiva, gerada pela forte ligação com a água da superfície hidrofílica (NOH, ERWIN e VOGLER, 2006).

A aparente ligação entre a molhabilidade pela água e a capacidade para adsorver proteínas tem levado a sugerir que a proteína encontra-se, de fato, competindo com a água na adsorção de superfícies (VOGLER, 1993). Esta hipótese argumenta que a proteína adsorve-se com certa eficiência em superfícies hidrofóbicas, pois a água nas vizinhanças pode ser deslocada, processo também conhecido como desidratação da superfície. Por outro lado, a proteína não pode ser adsorvida em superfícies completamente molháveis pela água, pois não resulta energeticamente viável a desidratação de tais superfícies (KRISHNAN *et al.*, 2005).

Embora aparentemente simples, esta hipótese para a adsorção de proteínas encontra-se longe de ser universalmente aceita. Um dos principais argumentos que a contrariam é o fato da adsorção de proteínas ser um evento localizado que acontece a escala nanométrica, especialmente em superfícies heterogêneas ordinárias. Por outro lado medidas típicas da molhabilidade do material (ângulo de contato) não explicarem a presença de domínios nos quais as proteínas são adsorvidas (OSTUNI *et al.*, 2003).

3.11 Energia livre de superfície de Sólidos

Valores físicos tais como o de ângulo de contato e energia livre de superfície (ELS) são utilizados para predizer as propriedades aditivas de materiais poliméricos. Sendo assim, a medição de ângulos de contato de gotas estacionárias depositadas na superfície de vários materiais e diferentes métodos de cálculo da energia livre de superfície são ferramentas poderosas de análise amplamente empregadas em vários setores industriais para várias aplicações práticas.

É evidente que a energia livre de superfície de materiais poliméricos é aumentada mediante qualquer tipo de tratamento, e a molhabilidade é melhorada. Por estas razões os métodos usados para a determinação da energia livre de superfície são intensamente investigados (GARBASSI, MORRA e OCCHIELLO, 1998).

As equações de Young e de Laplace, bem conhecidas por 200 anos, constituem os princípios para a determinação da energia livre de superfície de sólidos. Porém, na segunda metade do século XX, o rápido progresso da ciência de interfaces e de processos de molhabilidade ocorreram. Como resultado, novos métodos para o cálculo da energia livre de superfície foram elaborados, os quais são muito importantes para as investigações da superfície de polímeros. Estes métodos são formulados tendo como base o ângulo de contato previamente medido ou a análise do formato de gota de vários líquidos (ZENKIEWICZ, 2007).

3.11.1 Métodos para o cálculo da energia livre superficial de sólidos

Os métodos principais para a determinação da energia livre de superfície são os de Zisman (ZISMAN, 1961), Owens-Wendt, também conhecido como o método Kaelble (OWENS & WENDT, 1969), e o método de van Oss-Chaudhury-Good (van OSS, GOOD, CHAUDHURY, 1986). O último é de interesse para muitos pesquisadores e é objeto de discussões científicas. O principal assunto destas discussões é a determinação dos componentes ácido e básico da energia livre de superfície dos líquidos utilizados na medição, definindo os níveis de acidez e alcalinidade de vários materiais poliméricos, e as regras para a escolha apropriada dos líquidos de medição (ZENKIEWICZ, 2007).

O método de Neumann baseia-se em uma denominada equação de estado (NEUMANN *et al.*, 1974), este método é objeto de uma detalhada análise na literatura. Uma das controvérsias com relação a esta equação é devida à natureza da constante β , a qual é, para vários autores, uma constante universal da matéria, enquanto que para outros, é apenas um parâmetro da equação (DELLA VOLPE *et al.*, 2004). Também existe uma nova proposição, bastante interessante para o cálculo da energia livre de superfície, a qual está baseada na medição de ângulos de contato de avanço e retrocesso com o uso de apenas um líquido (CHIBOWSKI, 2003).

O método mais frequentemente utilizado para materiais poliméricos até agora é o método de Owens-Wendt, no qual água e diiodometano são utilizados. Um crescente interesse no método, baseado em resultados de medições de ângulos de contato com o uso de três líquidos apropriadamente selecionados, é uma inspiração para novas investigações neste campo. Estas investigações incluem a análise dos parâmetros de medição de líquidos para a medição do ângulo de contato e a construção de um conjunto de equações matemáticas utilizadas para a determinação da energia livre de superfície para os materiais utilizados (DALET, PAPON, VILLENAVE, 1999). Um estudo similar tem também sido executado usando o método de Neumann (DELLA VOLPE *et al.*, 2004).

3.11.2 O método de Neumann

Este método está baseado na suposição que existe uma relação entre a ELS de um sólido (γ_S), a ELS de um líquido molhando a superfície do sólido (γ_L) e a energia livre da interface sólido-líquido (γ_{SL}). A relação pode ser expressa de uma maneira geral pela seguinte equação de estado (ZENKIEWICZ, 2007);

$$F(\gamma_S, \gamma_L, \gamma_{SL}) = 0 \quad \text{Eq. 2}$$

Usando a Eq.2, fazendo apropriadas substituições e de transformações na mesma, a fórmula para o método de Neumann é obtida na seguinte forma;

$$\cos \Theta_L = 2 \left(\frac{\gamma_S}{\gamma_L} \right)^{0.5} \exp[-\beta(\gamma_L - \gamma_S)^2] - 1 \quad \text{Eq. 3}$$

com $\beta = 0,0001247$.

Apesar da controvérsia com relação à equação, esta fórmula é ainda de interesse para pesquisadores como uma ferramenta muito conveniente para a determinação da ELS. A principal vantagem do método aplicando esta equação é o uso de apenas um líquido de medição para a obtenção do ângulo de contato. Isto facilita as medições a serem feitas e limita o número de erros. A determinação de γ_S mediante a Eq. 3, quando γ_L e Θ_L são conhecidos, requer computações numéricas, as quais resultam fáceis (ZENKIEWICZ, 2007).

Os valores de ELS da maioria dos materiais poliméricos encontra-se na faixa de 20-50 mJ/m². As diferenças ente os valores de ELS calculados mediante os

métodos de Neumann e van Oss-Chaudhury-Good chegam a 21 %. Por outro lado, as diferenças relativas entre os resultados obtidos entre os métodos de Oss-Chaudhury-Good e de Owens-Wendt são consideravelmente menores, não ultrapassando os 3 % sobre o intervalo completo de ELS. As diferenças nos valores de ELS, calculadas com vários métodos, dependem também dos líquidos de medição usados nos cálculos do ângulo de contato (ZENKIEWICZ, 2007).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi estudada a incorporação de cargas de fosfato de cálcio à matriz de silicone mediante dois métodos; o Método Tradicional, o qual implicou na síntese, modificação superficial, empregando tetraetilortosilicato (TEOS), e posterior incorporação dos fosfatos de cálcio à matriz elastomérica; e mediante o método aqui desenvolvido, a Síntese Reativa.

As etapas envolvidas na elaboração e caracterização dos compósitos PDMS/fosfatos de cálcio (FC) mediante o Método Tradicional são esquematizadas no fluxograma representado na Figura 3.

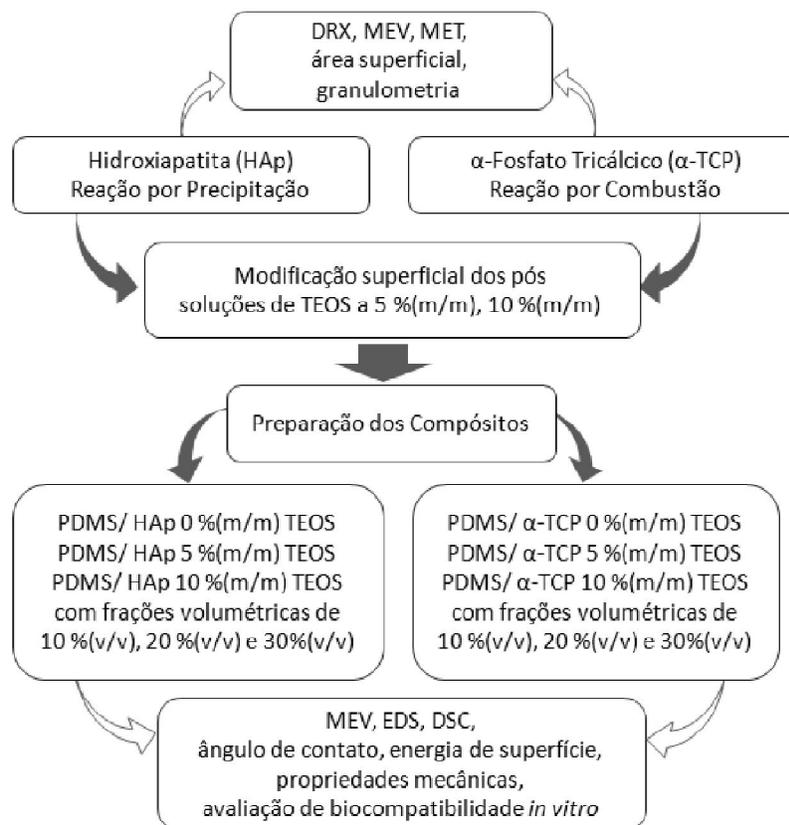


Figura 3. Representação esquemática das etapas do processo de elaboração e caracterização dos compósitos de PDMS/FC obtidos mediante o Método Tradicional.

4.1 Obtenção do compósito PDMS/FC mediante o Método Tradicional

Este método implicou na síntese e modificação dos fosfatos de cálcio, para a sua posterior incorporação, mediante a mistura física, ao elastômero de poli(dimetilsiloxano).

4.1.1 Síntese, caracterização e modificação dos fosfatos de cálcio

Os precursores utilizados para a obtenção da hidroxiapatita mediante a reação por precipitação foram hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ (95% Synth) e ácido fosfórico $[\text{H}_3\text{PO}_4]$ (85% Nuclear). Uma solução aquosa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (1,0 M) foi colocada em um balão volumétrico, a mesma foi agitada e aquecida a 90 °C. Uma solução aquosa de H_3PO_4 (0,8 M) foi adicionada por gotejamento à solução de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. O sistema foi agitado por 24 h a 90 °C, posteriormente o precipitado obtido foi lavado com álcool etílico (98 % Vetec), filtrado e seco a 70 °C. O pó obtido foi calcinado a 800 °C por 2 h. Por outro lado, os precursores utilizados para a obtenção do α -fosfato tricálcico mediante a reação por combustão (VOLKMER, CALDAS e SANTOS, 2008) foram nitrato de cálcio tetra hidratado $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ (99% Vetec), hidrogeno fosfato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ (99% Vetec) e ureia $[(\text{NH}_2)_2\text{CO}]$ (99% Vetec), como combustível. O material obtido foi lavado com álcool etílico e seco a 70 °C, posteriormente foi calcinado a 1200 °C por 4 h, seguido de um resfriamento rápido até a temperatura ambiente.

A composição de fases dos pós obtidos foi determinada por difração de raios-X (DRX) (difratômetro PHILLIPS X'Pert MPD) com um tubo de cobre ($K_\alpha = 1,5418 \text{ \AA}$). A partir dos difratogramas obtidos, o tamanho de cristalito das fases obtidas foi calculado empregando a Equação de Scherrer (CULLITY, 1956). A distribuição do tamanho de partículas foi determinada mediante difração a laser (Cilas 1180), a área superficial específica mediante adsorção de nitrogênio (Quantachrome Instruments Nova 1000) e a densidade foi determinada por picnometria de gases com hélio (Quantachrome, MVP I). A morfologia e dimensões dos pós foram estudadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JEOL JSM 6060) e por microscopia eletrônica de transmissão (MET) (JEOL JEM 1200ExII). No primeiro caso, as amostras foram revestidas com uma camada condutora de carbono e ouro.

Para a modificação da superfície dos fosfatos de cálcio, uma solução aquosa de álcool etílico (98 % Vetec) a 25 %(m/m) foi preparada, à mesma foi adicionado tetraetilortosilicato (TEOS) $[\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4]$ (98% Sigma-Aldrich) com uma fração mássica de 5 e 10 %(m/m), o pH do sistema foi ajustado a 4,0 com ácido acético (99 % Synth). O sistema foi agitado por 30 min a 50 °C para permitir a hidrólise do sistema. Posteriormente, os fosfatos de cálcio foram adicionados, respectivamente, com uma fração mássica de 5 %, o sistema foi agitado por 30 min a 50 °C. Os fosfatos de cálcio modificados foram lavados com álcool etílico e secos a 70 °C, para permitir a evaporação dos solventes. O material foi caracterizado por MEV (JEOL JSM 5800) com um equipamento de espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) acoplado.

4.1.2 Incorporação dos fosfatos de cálcio ao PDMS

Para a preparação dos compósitos, os fosfatos de cálcio modificados e não modificados, com frações volumétricas de 10 - 30 %(v/v) foram incorporados ao silicone comercial, o qual apresenta propriedades mecânicas equivalentes às do silicone de grau médico, NE-140 (Wenda Co.) mediante a mistura física em um misturador aberto de dois rolos. O agente de cura utilizado, peróxido de dicumila (98% Aldrich), foi adicionado com uma fração de 0,8 %(m/m). Posteriormente, os compósitos obtidos foram colocados em moldes metálicos e submetidos à compressão para a obtenção de lâminas com 3 mm de espessura. Seguidamente foram curados a 185 °C por 35 min.

4.2 Obtenção do compósito PDMS/FC mediante a Síntese Reativa

As etapas envolvidas na elaboração e caracterização dos compósitos PDMS/fosfatos de cálcio (FC) mediante a Síntese Reativa são esquematizadas no fluxograma representado na Figura 4.

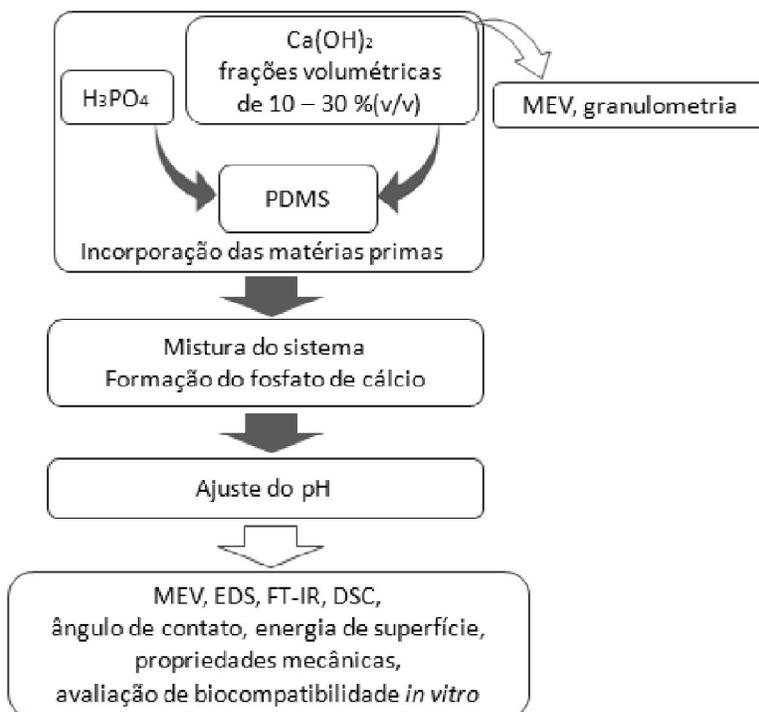


Figura 4. Representação esquemática das etapas do processo de elaboração e caracterização dos compósitos de PDMS/FC obtidos mediante a Síntese Reativa.

O Ca(OH)₂ na forma de pó foi utilizado para elaborar o compósito, sendo caracterizado mediante granulometria por difração a laser, adsorção de nitrogênio e MEV. Para a obtenção dos compósitos, inicialmente o Ca(OH)₂ foi incorporado ao elastômero de PDMS em um misturador aberto de dois rolos, com frações volumétricas de 10 – 30 %(vol/vol). Após a obtenção de uma mistura homogênea, foi adicionada uma solução de H₃PO₄ de maneira a obter-se uma relação Ca/P = 1/1, logo o sistema foi mais uma vez homogeneizado. O agente de cura utilizado, peróxido de dicumila, foi adicionado com uma fração de 0,8 %(m/m). Os valores de pH de uma solução aquosa contendo 0,5 g dos compósitos foram registrados. Posteriormente, os compósitos obtidos foram colocados em moldes metálicos e submetidos à compressão para a obtenção de lâminas com 3 mm de espessura. Seguidamente foram curados a 185 °C por 35 min. Foi estudada a influência da fração mássica de H₃PO₄ adicionada, com relação à fração mássica

estequiométrica, na quantidade de Ca(OH)_2 remanescente no compósito com o auxílio de uma curva de calibração.

4.3 Caracterização dos compósitos de PMDS/FC obtidos por ambos métodos

4.3.1 Caracterização das cargas na matriz

Para verificar o grau de dispersão das partículas de fosfato de cálcio na matriz elastomérica, foram obtidas micrografias por MEV e EDS da superfície externa e de fratura dos compósitos.

4.3.2 Análise Térmica

De maneira a determinar a influência das cargas adicionadas nos parâmetros termodinâmicos da reação de cura do elastômero, amostras dos compósitos obtidos foram curadas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC Q20 V24.2 Build 107). Os ensaios foram realizados em atmosfera de nitrogênio, utilizando uma massa aproximada de amostra de 5 mg com uma taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. A temperatura de início do ensaio foi 24°C , a de finalização foi 200°C .

4.3.3 Propriedades de Superfície

Com o intuito de avaliar a energia de superfície dos compósitos obtidos, valores do ângulo de contato estático foram medidos (medidor de ângulo de contato Labometric LB-DX). Para tal, o formato da gota depositada na superfície dos compósitos foi determinado, os ensaios foram feitos à temperatura ambiente. Como líquido de teste foi utilizada água destilada. As medições de ângulo de contato foram feitas utilizando o programa ImageJ. Posteriormente, os valores de energia livre de superfície foram obtidos segundo o método de Neumann (ZENKIEWICS, 2007). Os valores reportados consistem em uma média de 7 medições independentes. A rugosidade dos compósitos foi determinada empregando um medidor de rugosidade superficial (Mitutoyo SJ-400), 5 medições foram feitas em cada amostra. O parâmetro empregado foi a rugosidade R_a .

4.3.4 Propriedades Mecânicas

De maneira a determinar as propriedades mecânicas dos compósitos, ensaios de resistência à tração foram realizados em uma máquina de ensaios universal (Instron 3369) conforme a norma ASTM D412. Os ensaios foram efetuados à temperatura ambiente empregando corpos de prova com um comprimento de 33

mm, largura de 10 mm e espessura de 3 mm. Os mesmos foram ensaiados com uma velocidade transversal de 30 mm/min. A dureza Shore A dos compósitos foi medida (durômetro Mitutuyo ID-S1012M) conforme a norma ASTM D2240. As medições foram baseadas na indentação inicial de amostras com uma espessura de 6 mm, as medições foram realizadas a temperatura ambiente.

4.3.5 Ensaio de biocompatibilidade *in vitro*

Com o objetivo de avaliar a capacidade dos compósitos de formarem uma camada de hidroxiapatita na superfície, os mesmos foram imersos em SBF (*Simulated Body Fluid*) (KOKUBO, 2006) por períodos de até 7 dias. Esta imersão também teve a função de estabilizar o pH dos compósitos. Como solução alternativa para tal fim, foi empregada uma solução aquosa de hidróxido de sódio [NaOH] (5 M) como líquido de imersão. Em ambos casos, foram registrados os valores de pH das soluções de imersão como função do tempo de imersão. A morfologia e composição química de tal camada foram avaliadas por DRX, MEV e EDS.

4.3.6 Teste de Viabilidade Celular do compósito PDMS/FC obtido mediante a Síntese Reativa

Para a avaliação da viabilidade celular, amostras do compósito, foram colocadas diretamente em contato com a suspensão celular. O compósito foi elaborado mediante a Síntese Reativa, com silicone de grau medico (NUSIL® MED 4735 Lote 50377) reforçado por 20 %(v/v) de partículas de fosfatos de cálcio. A amostra foi previamente estabilizada de maneira a obter um pH dentro da faixa de neutralidade. Também foi ensaiada uma amostra do silicone puro. Foram empregadas células HepG2 (ATCC HB-8065), pertencentes a uma linhagem aderente derivada de hepatocarcinoma humano, de um paciente do sexo masculino, livre de agentes virais hepatotrópicos conhecidos. A cultura foi mantida com meio DMEM-LG (Dubelco's Modified Eagle Medium-Low Glucose, LGC) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (Gibco) e 1% de penicilina/estreptomicina (Gibco), por 24 h em condições normais de cultivo, isto é, em estufa umidificada a 37 °C com 5% de CO₂. Em uma placa de cultivo celular de 12 poços (TPP) foram colocados discos do material, os ensaios foram elaborados em quadruplicata. Em cada poço foi semeada suspensão celular HepG2 com uma densidade celular de 2,63 cel/cm². Foi empregado o teste de exclusão de corante usando o azul de Tripán. O teste está

baseado no seguinte princípio; células viáveis têm a habilidade de serem impenetráveis ao azul de Tripán. Quando a integridade das membranas das células encontra-se comprometida, existe absorção do corante. Sendo assim, as células viáveis, que não foram coloridas, aparecem claras com um anel refrativo ao redor delas, enquanto que as células não viáveis aparecem coloridas com um azul escuro, sem a presença do anel refrativo. A viabilidade das células foi avaliada em uma câmara de Neubauer. Após 24 horas do tratamento, as células foram tripsinizadas com tripsina-EDTA 0,25% (Gibco). Como controle negativo foi empregada uma placa semeada com a suspensão celular. Os resultados obtidos foram analisados mediante o teste ANOVA seguido do teste Tukey de comparação múltipla.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Compósito PDMS/FC obtido pelo Método Tradicional

5.1.1 Síntese e modificação dos fosfatos de cálcio

Os resultados da análise qualitativa feita por DRX dos fosfatos de cálcio obtidos são apresentados na Figura 5. Foi possível constatar que tanto a reação de precipitação, para a síntese de hidroxiapatita (HAp) (JCPDS 9-0432), quanto a reação por combustão, para a síntese de α -fosfato tricálcico (α -TCP) (JCPDS 9-0348), permitiram a obtenção das fases desejadas com elevada cristalinidade, sem a presença outras fases como impurezas indesejadas. As Figuras 6 e 7 apresentam histogramas da distribuição de tamanho de partícula correspondentes, respectivamente, à HAp e α -TCP.

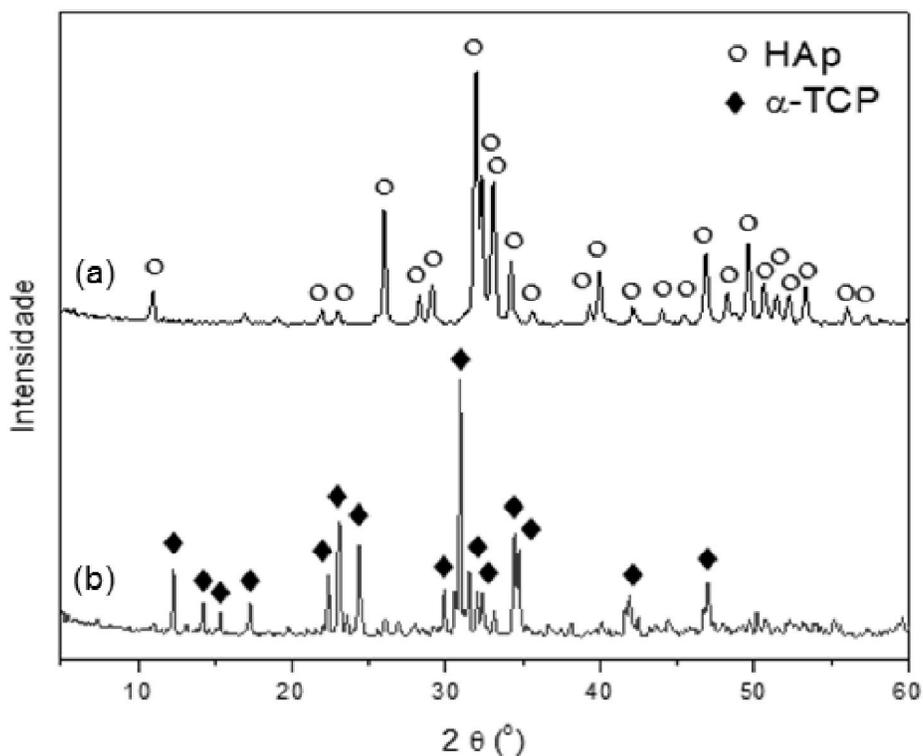


Figura 5. Difratogramas obtidos por DRX dos pós de (a) hidroxiapatita obtida pelo método de precipitação, utilizando como precursores $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e H_3PO_4 , calcinada a $800\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h, e de (b) α -fosfato tricálcico obtido pelo método de reação por combustão, utilizando como precursores $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, calcinado a $1200\text{ }^\circ\text{C}$ por 4 h, seguido de resfriamento rápido até a temperatura ambiente.

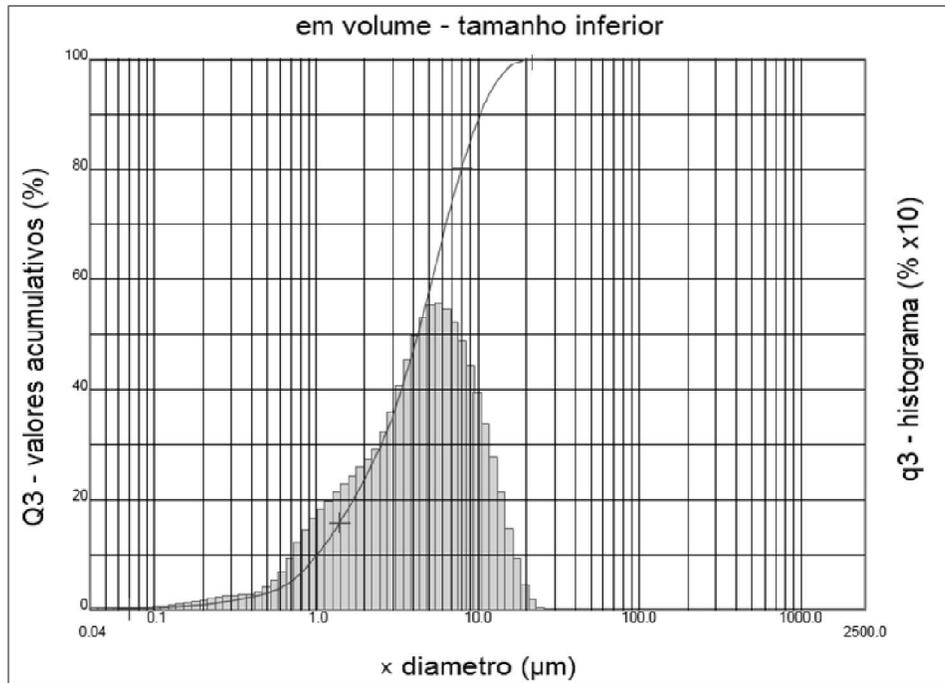


Figura 6. Histograma apresentando a distribuição do tamanho de partícula do pó de hidroxiapatita obtido mediante a síntese por precipitação.

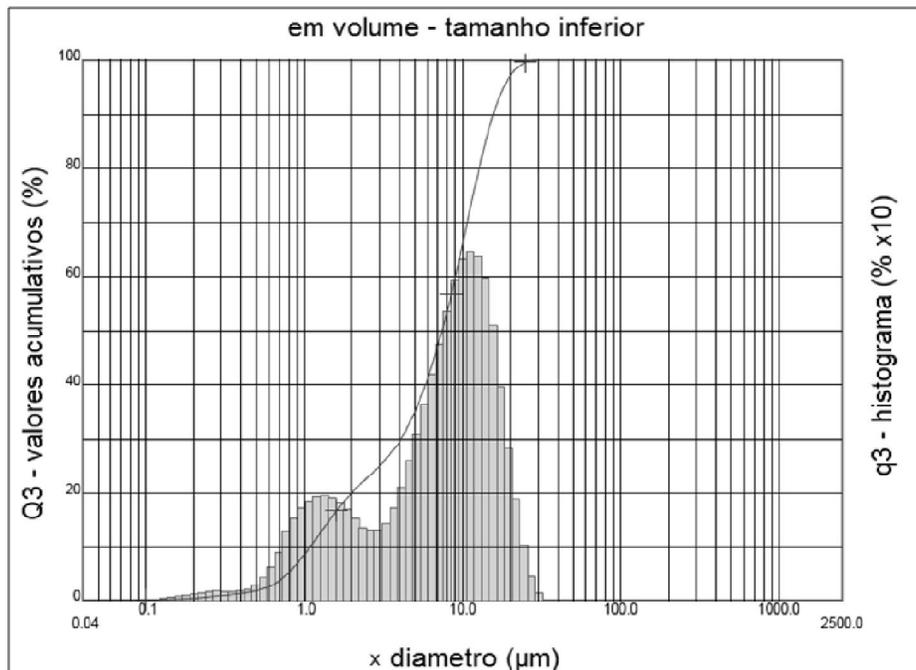


Figura 7. Histograma apresentando a distribuição do tamanho de partícula do pó de α -fosfato tricálcico obtido mediante a síntese por combustão.

Foi possível observar que os pós de HAp apresentaram uma distribuição de tamanho de partícula com um perfil unimodal, com um tamanho médio de 5,08 μm . Enquanto que os pós de α -TCP apresentaram uma distribuição com um perfil bimodal, o primeiro grupo com um tamanho médio de 1,5 μm e o segundo com um tamanho médio de 10,5 μm . A Tabela 5 apresenta resultados da caracterização física dos pós obtidos.

Tabela 5. Resultados da caracterização física dos pós de hidroxiapatita e α -fosfato tricálcico.

Caracterização	hidroxiapatita	α -fosfato tricálcico
Densidade (g/cm^3)	2,85	2,92
Tamanho médio de partícula (μm)	5,08	7,81
Tamanho de cristalito (Método Debye-Scherrer) (nm)	32	34
Área superficial específica (m^2/g)	19,93	5,03

Foi possível observar que ambos pós resultaram com um tamanho de cristalito de aproximadamente 30 nm. A síntese por precipitação da HAp permitiu a obtenção de valores superiores de área superficial específica, com relação à síntese por combustão do α -TCP.

A Figura 8 apresenta micrografias obtidas por MEV dos pós; a HAp (Figura 8(a) e (b)) resultou em partículas aproximadamente esféricas com um tamanho aproximado de 180 nm formando aglomerados micrométricos, o α -TCP (Figuras 8(c) e (d)) resultou em agregados de tamanho micrométrico com porosidades típicas de pós obtidos mediante a síntese por combustão. É de conhecimento que a área superficial das partículas é inversamente proporcional ao tamanho de partícula, isto explica o fato das partículas de HAp apresentarem um valor superior de área superficial específica com relação às partículas de α -TCP (Tabela 5).

As micrografias obtidas por MET dos pós de HAp (Figuras 9(a) e (b)) e de α -TCP (Figuras 9(c) e (d)) demonstraram que ambas sínteses levaram à obtenção de aglomerados de cristais nanoestruturados.

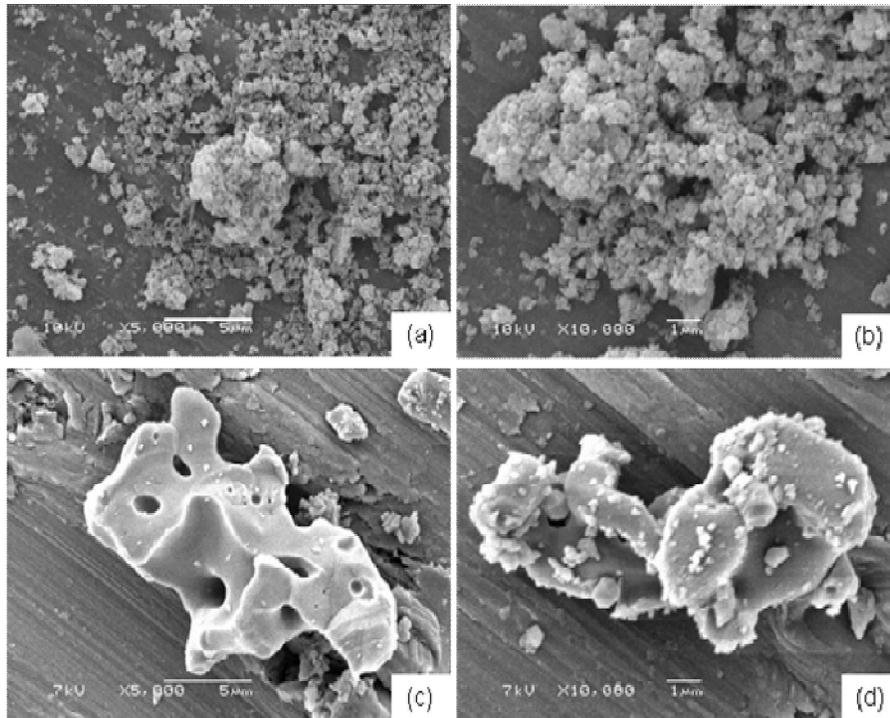


Figura 8. Micrografias obtidas por MEV de pós de hidroxiapatita (a) e (b), e de α -fosfato tricálcico (c) e (d).

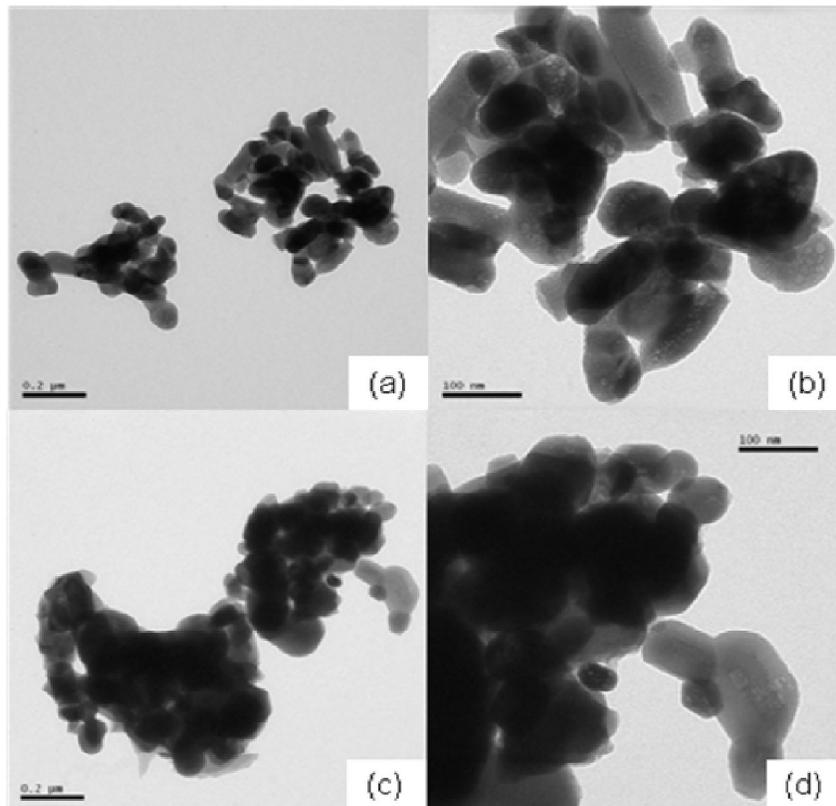


Figura 9. Micrografias obtidas por MET de pós de hidroxiapatita (a) e (b), e de α -fosfato tricálcico (c) e (d).

Com relação aos procedimentos empregados para a síntese de HAp, Shih e colaboradores (SHIHA *et al.*, 2004) reportaram a sinterização de pós de HAp mediante a hidrólise de hidrogeno fosfato de cálcio diidratado (DCPD) $[\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ e CaCO_3 empregando uma solução aquosa de NaOH para ajustar o pH da solução. O sistema foi homogeneizado por 1 h a 75 °C, o único produto obtido da sinterização foi HAp. A posterior etapa de calcinação do material obtido, a 600 °C por 4 h, demonstrou ter aumentado a cristalinidade da HAp, sem a formação de fases indesejadas. O tamanho de cristalito, calculado mediante a equação de Scherrer, do material obtido após a calcinação foi de ~ 50 nm, apresentando uma morfologia de cristais ocos arredondados. Micrografias obtidas por MEV mostraram cristais com tamanhos variando entre 50-400 nm formando agregados de partículas maiores (>400 nm).

Wang e colaboradores (WANG *et al.*, 2010) sinterizaram nanopartículas de HAp empregando a precipitação química por via úmida sob pressão atmosférica, usando nitrato de cálcio tetraidratado $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ e hidrogeno fosfato de amônia $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ como reagentes. Como solvente foi empregada uma solução aquosa e uma solução de amônia foi utilizada para ajustar o pH do sistema. O material obtido por seco a 70 °C por 5 h e posteriormente calcinado a 700 °C por 1 h. Os cristais obtidos resultaram com um formato esférico, com um diâmetro de 20-30 nm, apresentando uma distribuição de tamanho estreita e uma boa dispersão.

Comparando os resultados da literatura com os obtidos neste trabalho, foi possível constatar que o método de precipitação para a síntese de HAp aqui descrito levou à obtenção de partículas apresentando características morfológicas semelhantes às do material obtido empregando reagentes tais como $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. A técnica aqui utilizada apresentou a vantagem de empregar reagentes de menor custo (hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ e ácido fosfórico $[\text{H}_3\text{PO}_4]$), os quais são fáceis de manipular por não serem higroscópicos.

Com relação aos procedimentos empregados para a sinterização do α -TCP, os métodos tradicionais de reação de estado sólido partem da mistura de fosfatos de cálcio, fosfato de cálcio anidro $[\text{CaHPO}_4]$ ou γ -pirofosfato de cálcio $[\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7]$ com carbonato de cálcio $[\text{CaCO}_3]$. Os reagentes são misturados e homogeneizados, a mistura é calcinada, a temperaturas superiores a 1250 °C, e posteriormente

resfriada rapidamente até a temperatura ambiente (BERMUDEZ *et al.*, 1994; MONMA *et al.*, 1984). A presença de β -TCP como fase indesejada na obtenção do α -TCP, obtido por diversos métodos de reação em estado sólido, tem sido reportada na literatura. Usualmente, os α -TCP obtidos por este método contêm ao redor de 15 % de β -TCP (GINEBRA *et al.*, 1997). As maiores vantagens da utilização da síntese por combustão para a obtenção do α -TCP são a pureza, pois obteve-se apenas α -TCP como fase presente (Figura 5), isto não ocorre quando se utiliza o método tradicional, a rapidez da técnica e a obtenção de partículas com tamanho de partícula nanométrico.

As Figuras 10 e 11 mostram, respectivamente, micrografias dos pós de HAp e de α -TCP modificados com soluções de TEOS a 5 e 10 % (m/m), conjuntamente com espectros correspondentes à análise e elemental pontual feita por EDS.

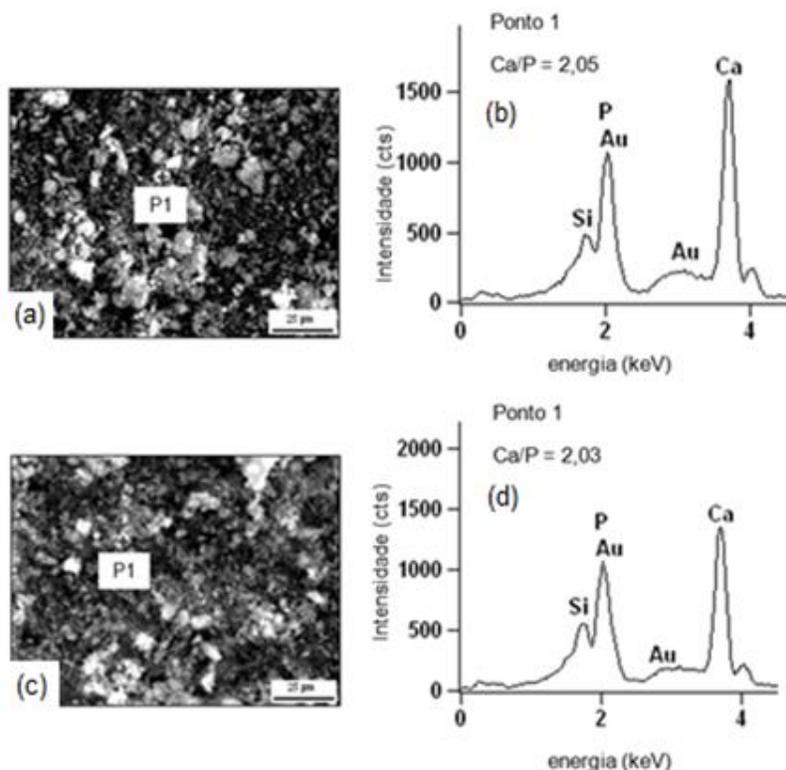


Figura 10. Micrografias obtidas por MEV dos pós de hidroxiapatita modificada com soluções TEOS a (a) 5 % e (c) 10 % (m/m), com os respectivos espectros da análise elemental pontual obtidos por EDS, (b) e (d).

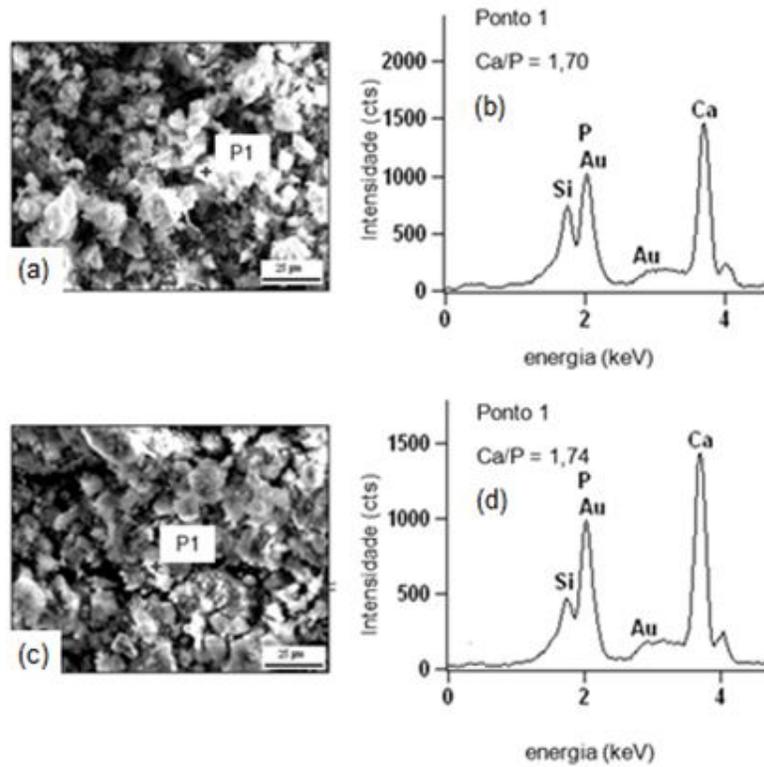


Figura 11. Micrografias obtidas por MEV dos pós de α -fosfato tricálcico modificado com soluções TEOS a (a) 5 % e (c) 10 %(m/m), com os respectivos espectros da análise elementar pontual obtidos por EDS, (b) e (d).

Analisando os resultados obtidos, foi possível notar a presença do pico correspondente ao elemento silício, isto pode indicar a formação de uma camada de silano na superfície das partículas, tanto de HAp ($\text{Ca/P} = 1,67$) quanto de α -TCP ($\text{Ca/P} = 1,5$) como resultado da modificação superficial feita com soluções de TEOS a 5 e 10 %(m/m).

5.1.2 Caracterização das cargas na matriz

As Figuras 12 e 13 apresentam micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos com 20 %(v/v) dos fosfatos de cálcio tratados com soluções de TEOS a 0%, 5% e 10% (m/m).

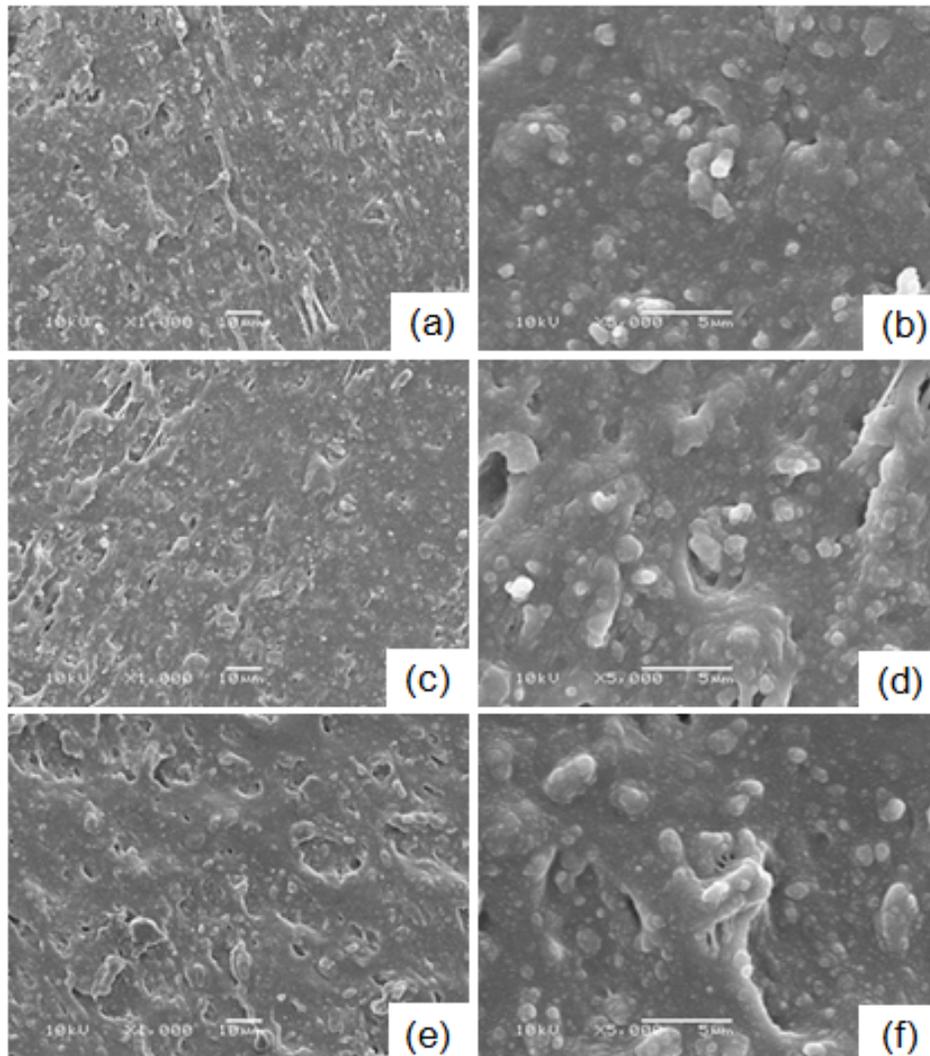


Figura 12. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 %(v/v) de HAp tratada com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 %(m/m). (a), (b) HAp 0 %, (c), (d) HAp 5 %, (e), (f) HAp 10 %.

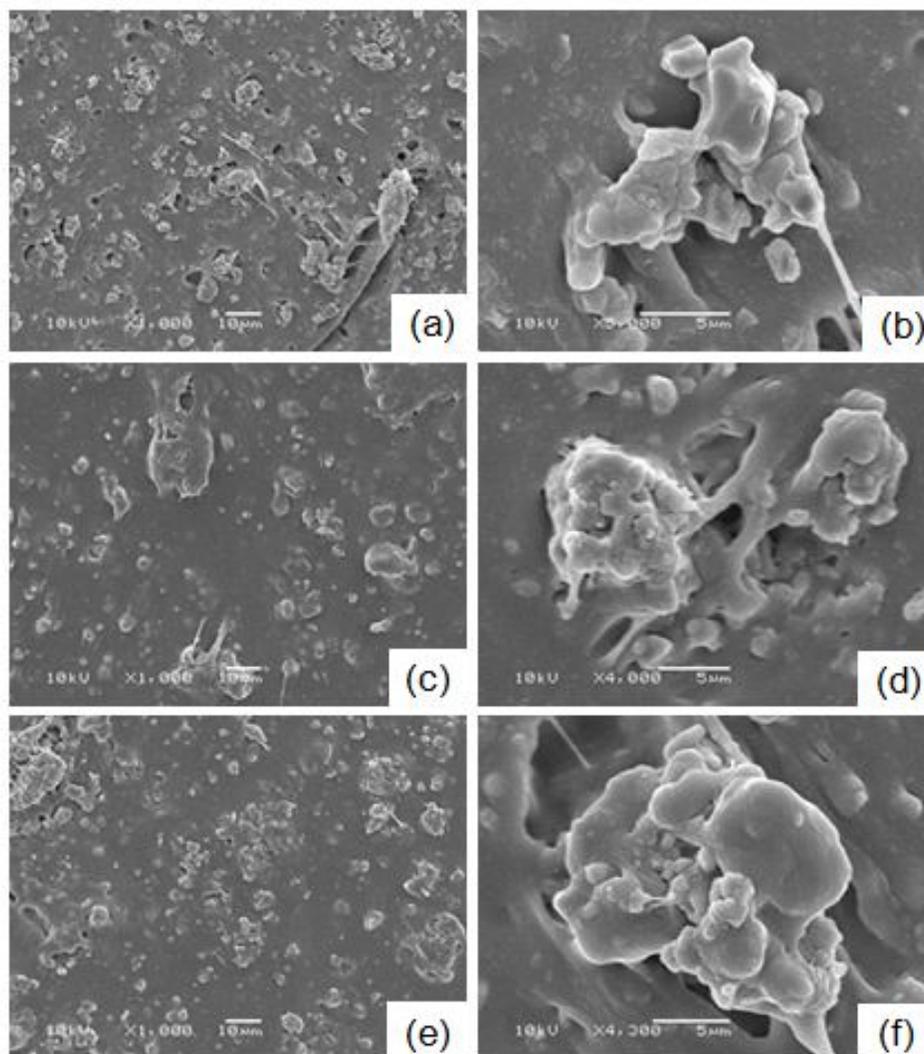


Figura 13. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 % (v/v) de α -TCP tratado com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 % (m/m). (a), (b) α -TCP 0 %, (c), (d) α -TCP 5 %, (e), (f) α -TCP 10 %.

A partir destas micrografias foi possível observar que as partículas de HAp (Figura 12) apresentaram-se homogeneamente distribuídas e dispersas na matriz de PDMS, independentemente do tratamento superficial aplicado. Como pode ser observado nas Figuras 8(a) e (b), correspondentes ao pó de HAp como obtido, as partículas neste estágio encontravam-se formando aglomerados micrométricos. Sendo assim, as micrografias obtidas na Figura 12 permitiram constatar que o processo aplicado de fabricação do compósito permitiu a desaglomeração das partículas de HAp.

As partículas de α -TCP (Figura 13) apresentaram-se homoganeamente distribuídas, mas com uma pobre dispersão na matriz de PDMS, independentemente do tratamento superficial aplicado. As Figuras 13(b), (d) e (f) mostram a presença de agregados micrométricos, os quais são semelhantes aos agregados observados no pó de α -TCP como obtido (Figuras 8(c) e (d)). Sendo assim, o processo aplicado de fabricação do compósito não permitiu a desagregação das partículas de α -TCP. Desta maneira, o grau de dispersão das partículas de fosfato de cálcio resultou ser independente do tratamento superficial aplicado às partículas, mas demonstrou ser fortemente dependente da morfologia inicial das partículas.

Wen e colaboradores (WEN *et al.*, 2008) prepararam compósitos de PDMS/n-HAp e μ -HAp, em ambos casos, a HAp sofreu previa modificação superficial com viniltriexosilano. Os compósitos foram preparados com uma fração mássica de 30 % de n-HAp ou μ -HAp, os pesquisadores reportaram que o estado de dispersão das partículas de μ -HAp não foi homogêneo, foi observada a formação de aglomerados. As partículas de n-HAp encontraram-se uniformemente dispersas na matriz de PDMS, não foi observada a formação de aglomerados. O tamanho das partículas também influenciou no estado de dispersão e a formação de aglomerados na matriz de PDMS. Tal observação encontra-se em concordância com os resultados aqui obtidos, como pode ser visto na Tabela 5, o α -TCP (7,81 μ m) apresentou um tamanho de partícula superior à HAp (5,08 μ m). Ainda assim, estes valores apenas representam os valores do tamanho médio dos aglomerados formados, devido à impossibilidade da técnica analítica aplicada para obter o tamanho médio das partículas em um estado desaglomerado.

A Figura 14 mostra difratogramas obtidos por DRX dos compósitos elaborados com 20% (v/v) dos fosfatos de cálcio, não modificados e modificados com uma solução de TEOS a 10 % (m/m). A partir destes resultados foi possível constatar que a integridade das fases previamente obtidas foi mantida, tanto com a modificação superficial, feita com soluções de TEOS, quanto com a incorporação destas fases à matriz elastomérica de PDMS.

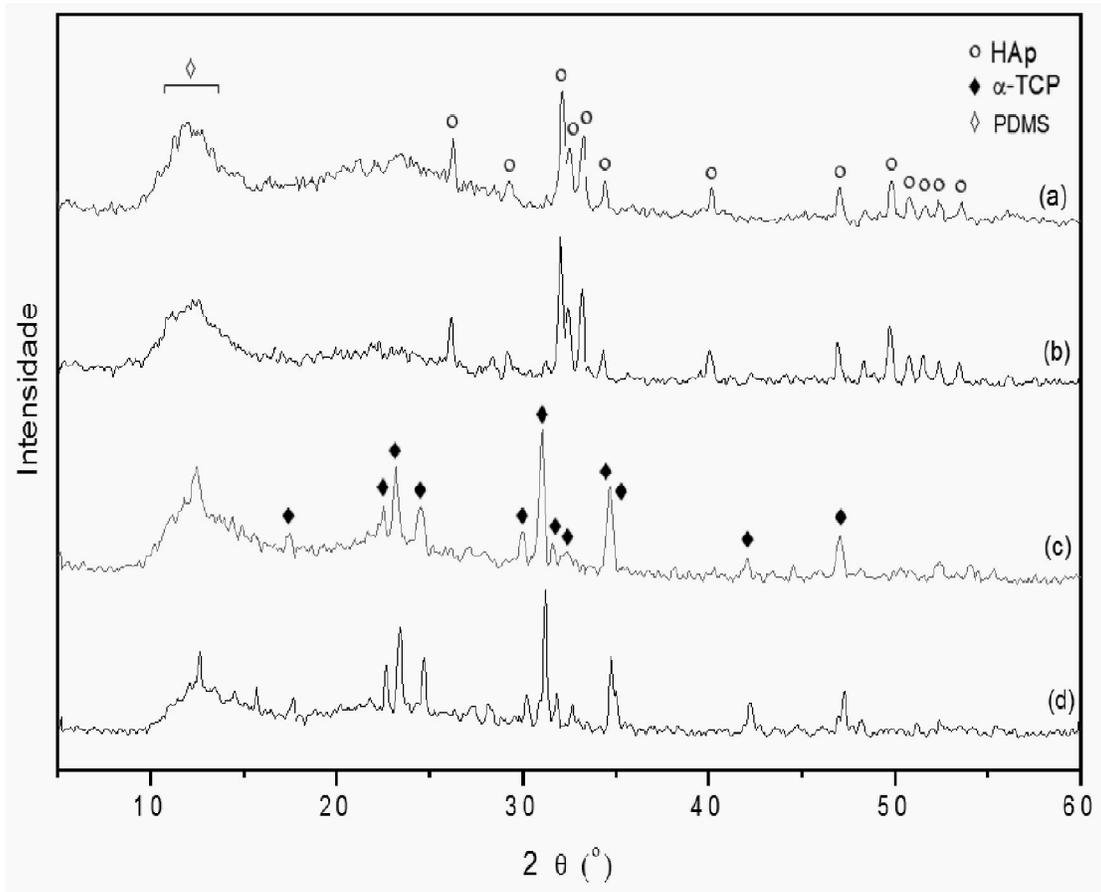


Figura 14. Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos obtidos mediante o Método Tradicional; (a) PDMS/HAp-0%TEOS, (b) PDMS/HAp-10%TEOS, (c) PDMS/ α -TCP-0%TEOS, (d) PDMS/ α -TCP-10%TEOS.

5.1.3 Análise Térmica

A Figura 15 mostra termogramas obtidos durante a reação de reticulação do PDMS e dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 % (v/v) dos fosfatos de cálcio ao PDMS, tratados com soluções de TEOS a 0 e 5% (m/m). Foi possível observar que todos os termogramas apresentaram um perfil similar, caracterizado por um pico pronunciado com um máximo para ~ 185 °C, correspondente à reação de reticulação da matriz elastomérica.

Os valores dos parâmetros termodinâmicos extraídos dos termogramas são apresentados na Tabela 6. A entalpia de reticulação (ΔH), calculada integrando a área abaixo da curva corresponde à reação de reticulação do difratograma obtido por DSC, corresponde à energia liberada nesta reação; sendo assim, este parâmetro pode ser relacionado à eficiência da reação reticulação da matriz elastomérica. Como visto na Tabela 6, os compósitos apresentaram valores menores de ΔH em comparação com o silicone puro; ou seja, como consequência da adição das cargas à matriz elastomérica a eficiência da reação de reticulação diminuiu.

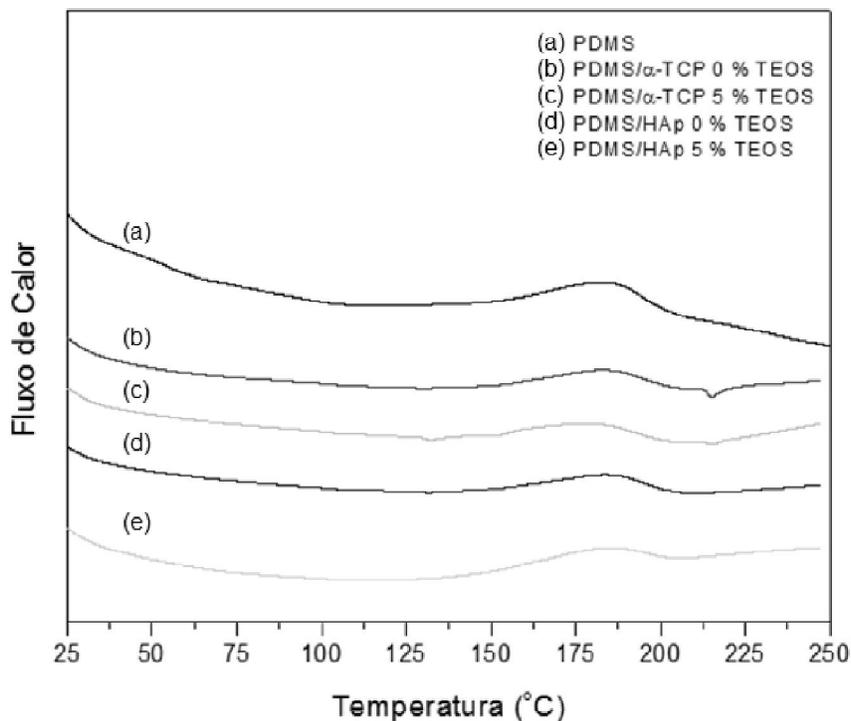


Figura 15. Termogramas obtidos por DSC do elastômero de silicone puro e dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 % (v/v) dos fosfatos de cálcio, tratados com soluções de TEOS a 0 e 5 % (m/m).

Tabela 6. Valores de parâmetros termodinâmicos de reticulação dos compósitos carregados com 20%(v/v) de fosfatos de cálcio tratados com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 %(m/m).

Amostra	Entalpia de reticulação, ΔH (kJ/g)	Temperaturas dos termogramas de DSC (°C)		
		T_i	T_{max} (pico)	T_f
PDMS	4,18	147,1	184,2	20,6
PDMS/HAp 0% TEOS	2,28	133,9	182,7	207,6
PDMS/HAp 5% TEOS	2,72	136,7	184,1	207,9
PDMS/HAp 10% TEOS	3,15	150,5	182,6	208,8
PDMS/ α 0% TEOS	2,10	145,8	182,7	206,7
PDMS/ α 5% TEOS	2,42	148,7	178,1	203,4
PDMS/ α 10% TEOS	2,54	173,5	180,7	213,8

T_i : temperatura de início de reticulação; T_{max} : temperatura da taxa máxima de reticulação, Máximo do pico; T_f : temperatura de finalização de reticulação.

Os compósitos obtidos com fosfatos de cálcio modificados apresentaram valores de ΔH superiores com relação aos compósitos elaborados com fosfatos de cálcio não modificados. Este resultado pode ser interpretado da seguinte maneira; quando a superfície dos fosfatos de cálcio torna-se mais similar, em estrutura e composição química, à rede polimérica na qual é utilizado como carga, o processo de entrecruzamento do compósito é mais semelhante ao entrecruzamento do PDMS puro (JAVANOVIC *et al.*, 2004). Sendo assim, este comportamento indica o efetivo acoplamento das cargas ao PDMS, devido ao tratamento superficial com soluções de TEOS.

Javanovic e colaboradores (JAVANOVIC *et al.*, 2004) empregaram agentes de acoplamento baseados no silicone para a modificação superficial da HAp a ser empregada na elaboração de compósitos PDMS/HAp. Avaliando a influência do tipo de agente de acoplamento nos parâmetros termodinâmicos do entrecruzamento da matriz, os pesquisadores também observaram que a ΔH dos compósitos diminuía em comparação com o elastômero sem cargas.

Como visto na Tabela 6, a adição das cargas levou à diminuição dos valores de T_i , com relação aos valores obtidos com o PDMS. É de conhecimento que os fosfatos de cálcio apresentam valores de condutividade térmica superiores com relação ao PDMS. Sendo assim, a adição das cargas à matriz elastomérica permitiu um espalhamento mais eficiente do calor, diminuindo a T_i da reação de reticulação.

O aumento da concentração das soluções de TEOS empregadas levou ao aumento dos valores de T_i . Tal resultado demonstrou que os compósitos apresentaram um comportamento térmico mais semelhante ao PDMS, conforme foi aumentada a concentração de TEOS empregada na modificação das partículas de reforço. Isto foi evidência do aumento do grau de acoplamento entre as cargas e a matriz de PDMS. Não foram observadas modificações significativas com relação às T_{max} e T_f .

Os resultados obtidos encontram-se em concordância com os obtidos por Javanovic e colaboradores, os quais reportaram que a introdução de HAp, modificada ou não, na matriz de PDMS levou à diminuição dos valores da T_i , o que indicou que a taxa de entrecruzamento foi maior na presença das partículas de hidroxiapatita (JAVANOVIC *et al.*, 2004).

5.1.4 Propriedades de Superfície

Os resultados das medições de ângulo de contato estático feitas na superfície dos compósitos obtidos com a incorporação de 20 e 30 % (v/v) dos fosfatos de cálcio, modificados e não modificados, são apresentados na Figuras 16(a) e (b), respectivamente.

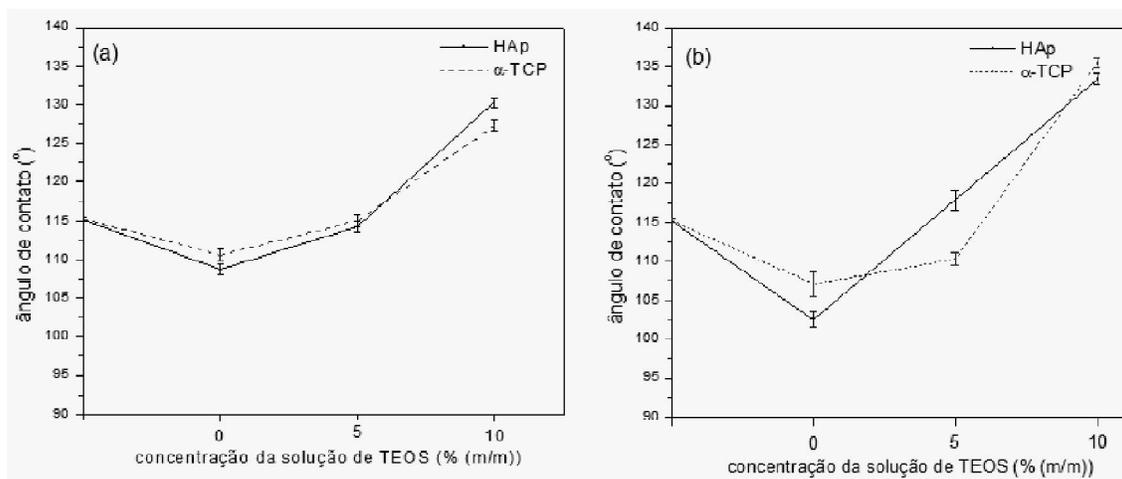


Figura 16. Resultados da medição do ângulo de contato estático da água sob a superfície dos compósitos. Compósitos com (a) 20 % (v/v) e (b) 30 % (v/v) de fosfatos de cálcio.

Foi possível observar que a incorporação à matriz elastomérica de ambos fosfatos de cálcio não modificados levou à obtenção de valores inferiores de ângulo de contato, com relação aos valores obtidos para o PDMS. Quanto maior foi a fração volumétrica de fosfatos de cálcio incorporada, menores foram os valores de ângulo de contato medidos. Isto possivelmente se deve à modificação da estrutura superficial do silicone, o que altera a carga superficial e produz um compósito hidrofílico (THEIN-HAN, 2009).

A incorporação de ambos fosfatos de cálcio modificados com uma solução a 5 % (m/m) de TEOS não produziu variações significativas nas medidas de ângulo de contato. Enquanto que a modificação com uma solução a 10 % (m/m) de TEOS levou à obtenção de valores de ângulo de contato superiores, com relação ao PDMS. Isto se deve provavelmente à formação da camada de silanos na superfície das partículas, o que tornou a superfície do compósito ainda mais hidrofóbica.

Os valores da energia superficial específica dos compósitos são apresentados na Tabela 7. Os resultados mostraram que a incorporação dos fosfatos de cálcio não modificados levou à obtenção de valores de energia superficial específica superiores com relação ao PDMS. Por outro lado, a incorporação de fosfatos de cálcio modificados com a solução a 5 % (m/m) de TEOS não produziu alterações significativas nestes valores, enquanto que a incorporação de partículas modificadas com a solução a 10 % (m/m) de TEOS, levou a obtenção de valores de energia superficial específica inferiores.

Tabela 7. Valores de energia superficial específica dos compósitos carregados com 20 % e 30 % (v/v) de fosfatos de cálcio tratados com soluções de TEOS a 0 %, 5 % e 10 % (m/m).

Amostra	Energia superficial específica (mJ/m ²)					
	20 % (v/v)			30 % (v/v)		
	0 % TEOS	5 % TEOS	10 % TEOS	0 % TEOS	5 % TEOS	10 % TEOS
BS	14,15 ± 0,01					
BS/HAp	17,79 ± 0,37	14,67 ± 0,67	6,74 ± 0,38	18,80 ± 0,80	16,90 ± 0,44	4,75 ± 0,16
BS/α-TCP	16,74 ± 0,61	14,25 ± 0,64	8,01 ± 0,27	21,49 ± 0,71	12,68 ± 0,95	5,50 ± 0,25

A Figura 17 apresenta perfis da rugosidade superficial dos compósitos. Os valores de rugosidade (Ra) dos compósitos são apresentados na Figura 18. Foi possível constatar que a adição de ambos fosfatos de cálcio levou ao aumento os valores da rugosidade superficial do PDMS. Valores superiores de rugosidade superficial foram obtidos no caso da HAp. Estes valores não sofreram variações significativas como consequência do tratamento superficial com soluções de TEOS a 5 e 10 %(m/m).

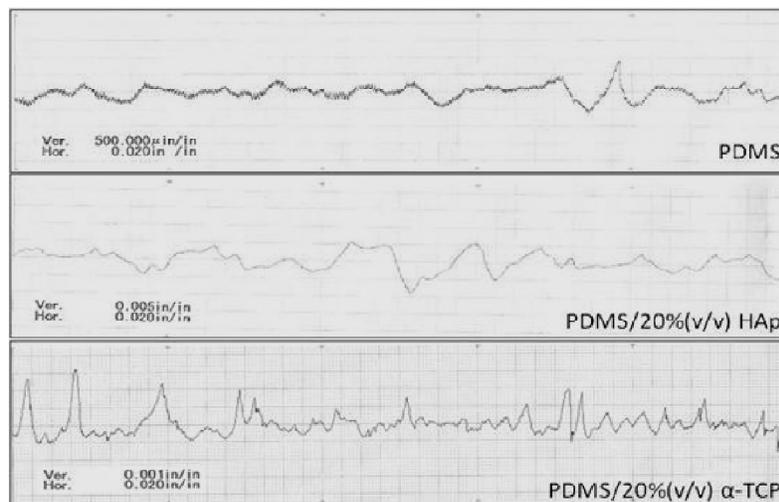


Figura 17. Perfil da rugosidade superficial (Ra) dos compósitos obtidos.

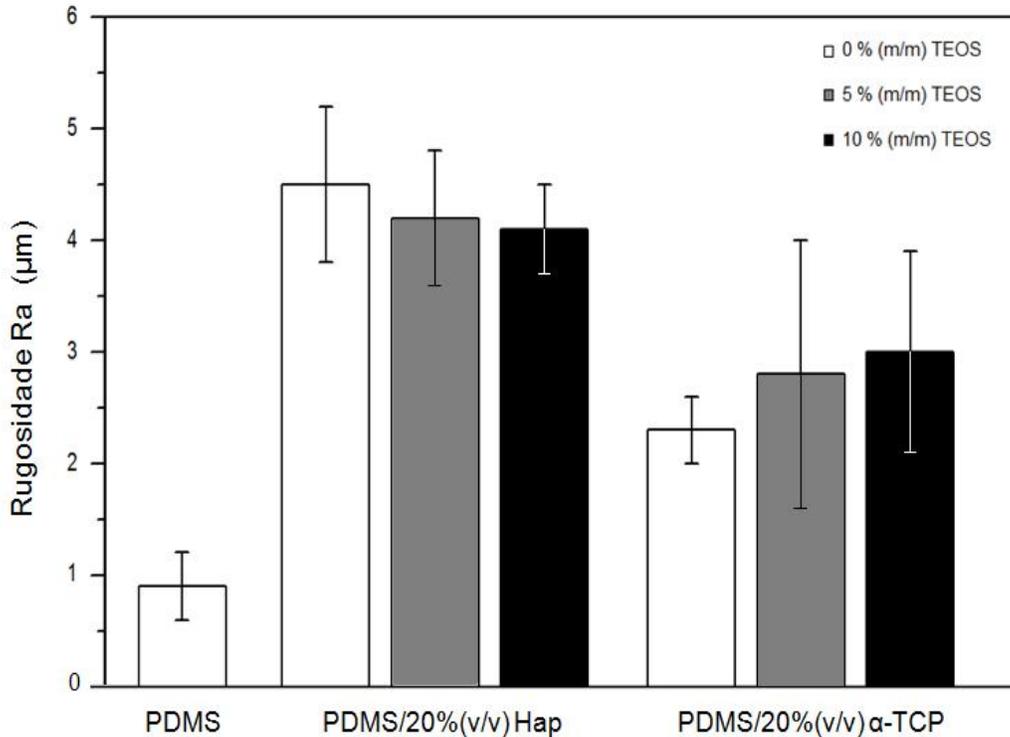


Figura 18. Valores de rugosidade superficial (Ra) do PDMS e dos compósitos obtidos com 20%(v/v) de HAp e α -TCP, modificados com soluções de TEOS a 0 %(m/m), 5 %(m/m) e 10 %(m/m).

5.1.5 Ensaio de Biocompatibilidade

As Figuras 19 e 20 apresentam micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos de PDMS/fosfatos de cálcio, tratados com soluções de TEOS a 0 % e 10 %(m/m) de TEOS, com tempos de imersão em SBF de 3 e 7 dias, respectivamente.

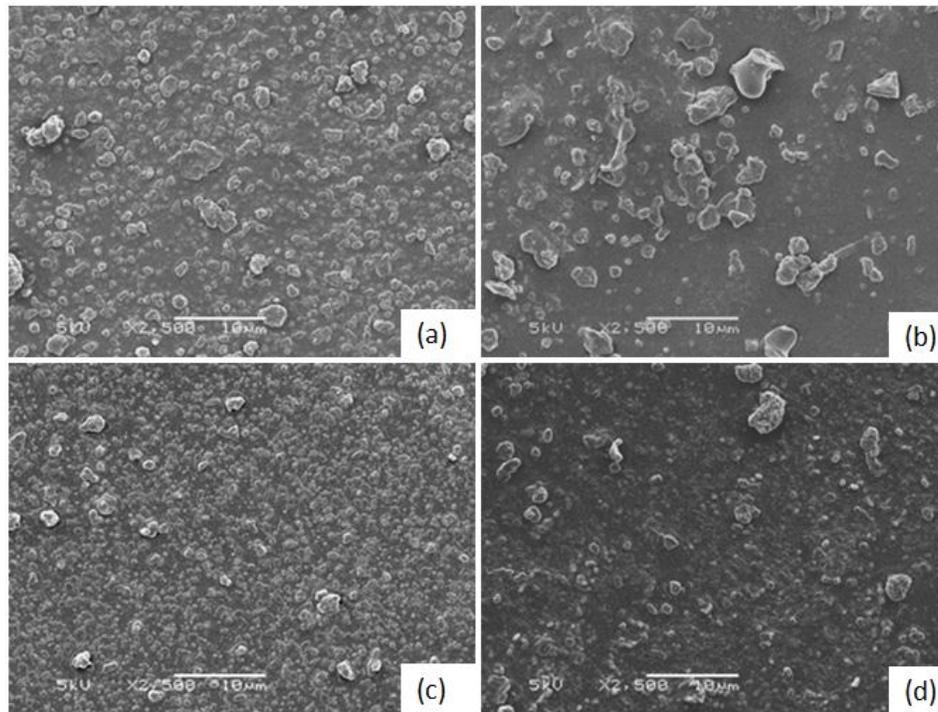


Figura 19. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compostos com 3 dias de imersão em SBF. (a) PDMS/20%(v/v)HAp-0%TEOS, (b) PDMS/20%(v/v) α -TCP-0%TEOS, (c) PDMS/20%(v/v)HAp-10%TEOS, (d) PDMS/20%(v/v) α -TCP-10%TEOS.

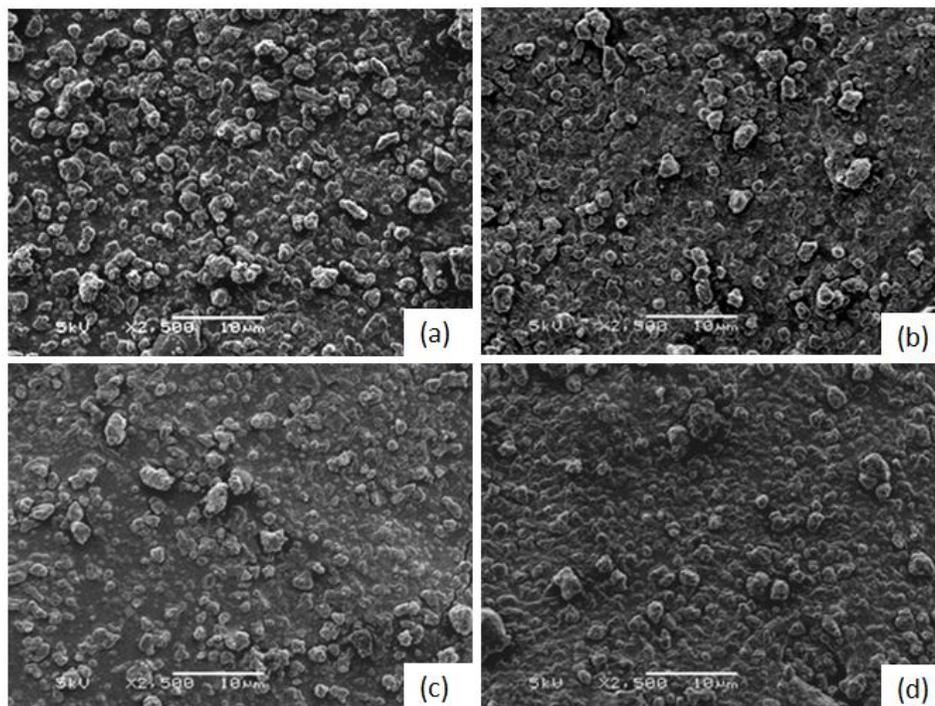


Figura 20. Micrografias obtidas por MEV da superfície dos compostos com 7 dias de imersão em SBF. (a) PDMS/20%(v/v)HAp-0%TEOS, (b) PDMS/20%(v/v) α -TCP-0%TEOS, (c) PDMS/20%(v/v)HAp-10%TEOS, (d) PDMS/20%(v/v) α -TCP-10%TEOS.

A partir destes resultados foi possível observar que para um tempo de imersão de 3 dias em SBF, a morfologia superficial dos compósitos não sofreu alterações significativas, com relação à morfologia dos compósitos não imersos (Figuras 12 e 13), independente da carga utilizada ou do tratamento superficial aplicado à mesma. Enquanto que para 7 dias de imersão, foi possível observar a formação de uma camada homogênea de cristais com a morfologia típica da HAp, tal camada foi observada na superfície de dos compósitos, independentemente do fosfato de cálcio empregado ou do tratamento superficial aplicado ao mesmo.

As Figuras 21 e 22 mostram difratogramas obtidos por DRX da superfície dos compósitos obtidos com a adição de 20 %(v/v) de HAp, tratada com soluções TEOS a 0 e 10 %(m/m), respectivamente, com tempos de imersão em SBF de 0-7 dias.

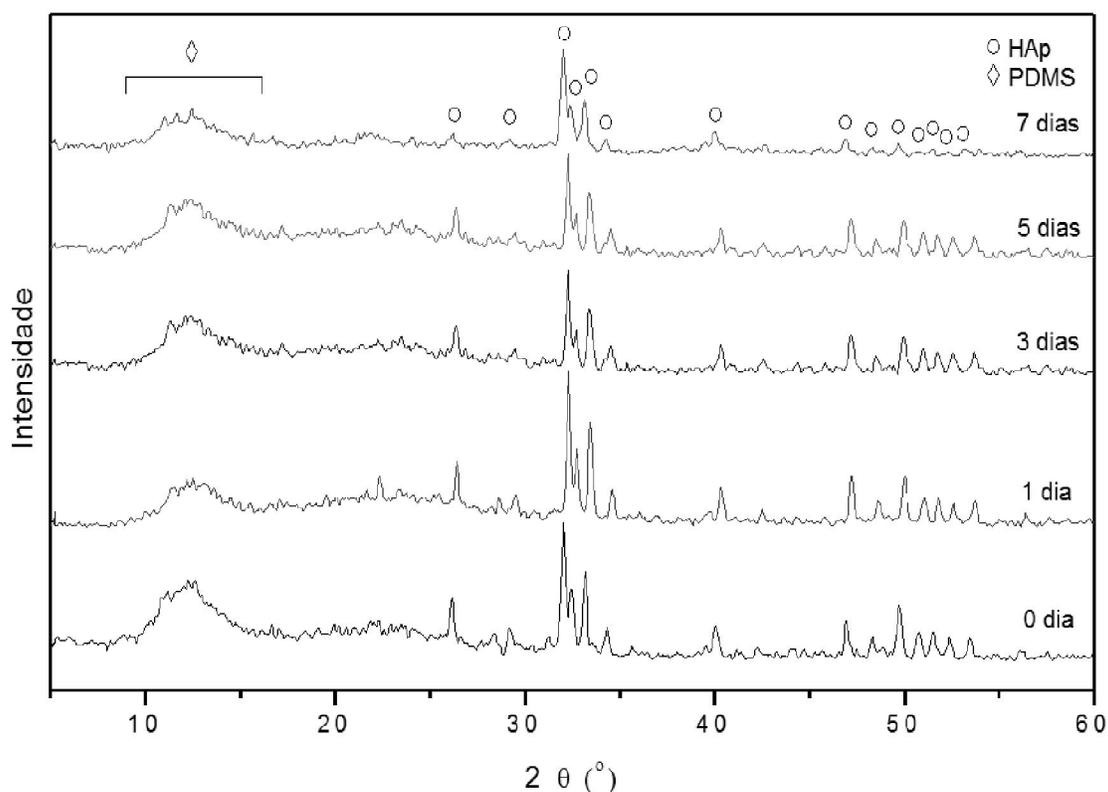


Figura 21. Difratogramas obtidos por DRX da superfície do compósito PDMS/20%(v/v)HAp-0%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.

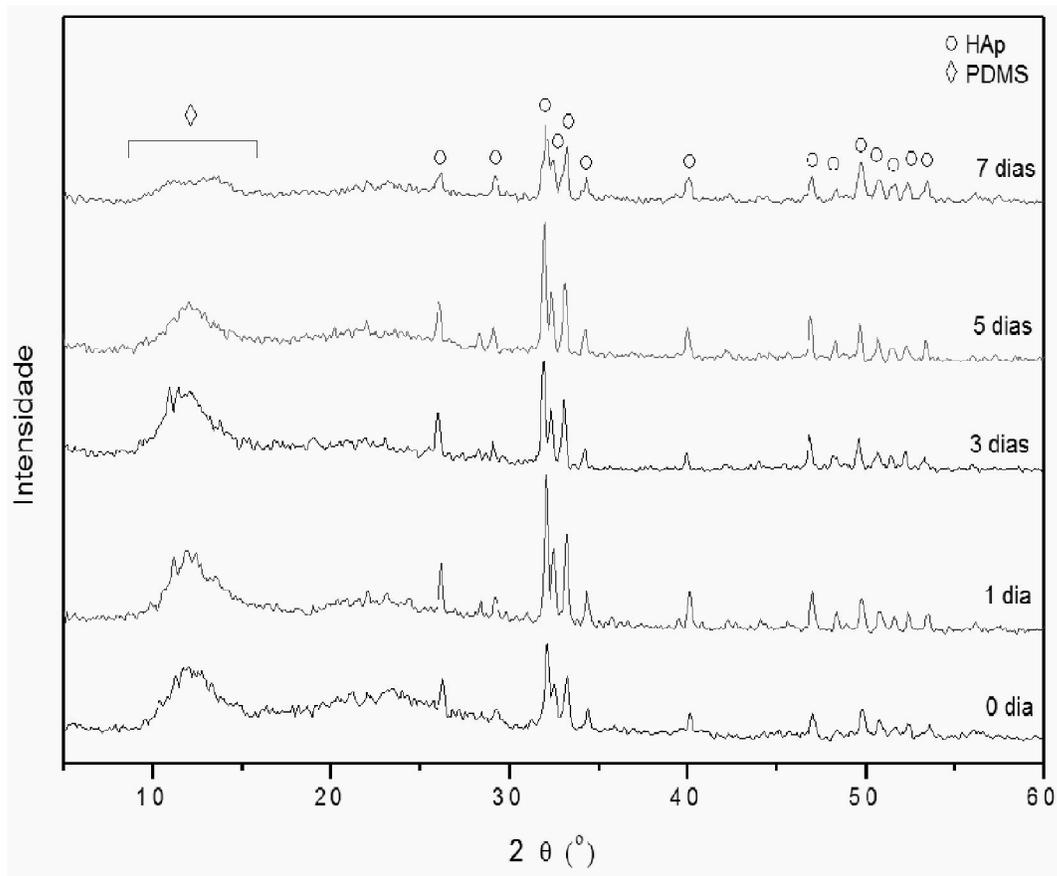


Figura 22. Difractogramas obtidos por DRX da superfície do composto PDMS/20%(v/v)HAp-10%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.

Foi possível constatar que a composição química superficial das amostras, independente da modificação superficial aplicada à HAp, foi constante durante o ensaio de imersão em SBF. A técnica de DRX aplicada não possibilitou discriminar a HAp pertencente ao substrato da HAp precipitada a partir do SBF, como visto na Fig. 20. Devido a esta limitação, não foi possível detectar alterações da composição superficial dos compósitos durante o ensaio de imersão em SBF.

De maneira a caracterizar a composição superficial dos compósitos durante o ensaio de imersão em SBF, deve ser aplicada uma técnica de caracterização química que possibilite tal discriminação.

As Figuras 23 e 24 apresentam difratogramas obtidos por DRX da superfície dos compósitos obtidos com a adição de 20 %(v/v) de α -TCP, tratado com soluções TEOS a 0 e 10 %(m/m), respectivamente, com tempos de imersão em SBF de 0-7 dias.

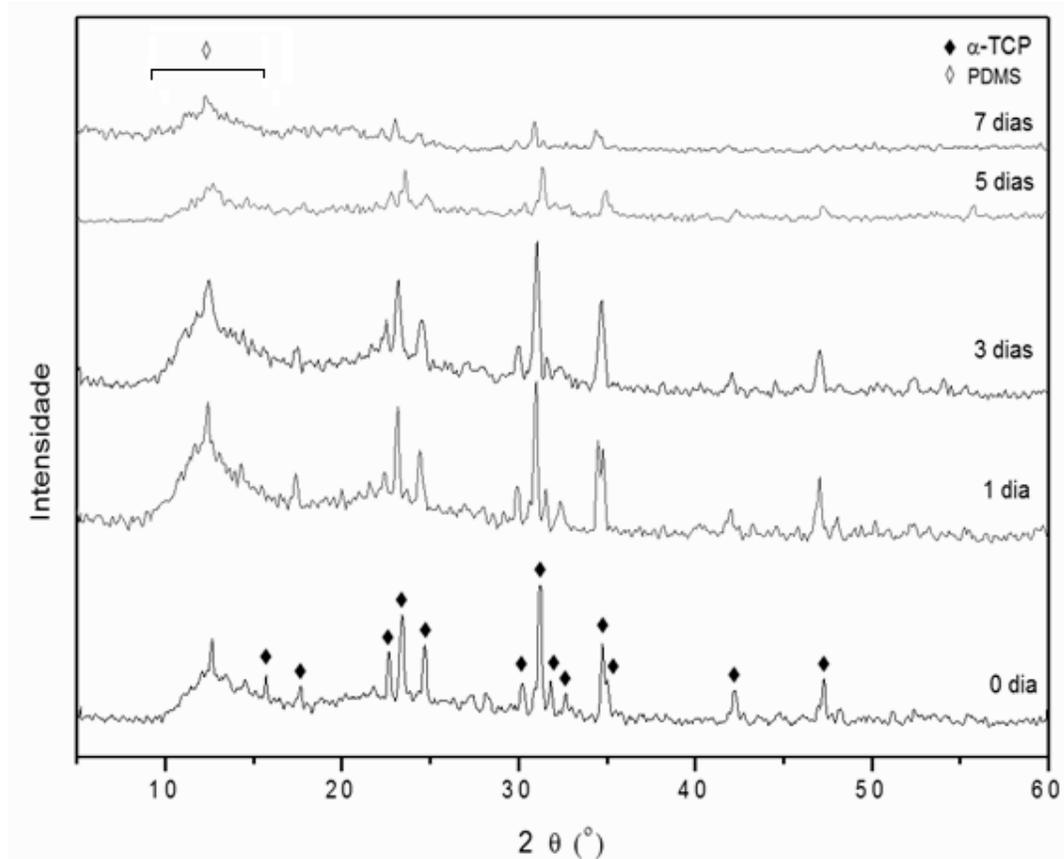


Figura 23. Difratogramas obtidos por DRX da superfície do compósito PDMS/20%(v/v) α -TCP-0%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.

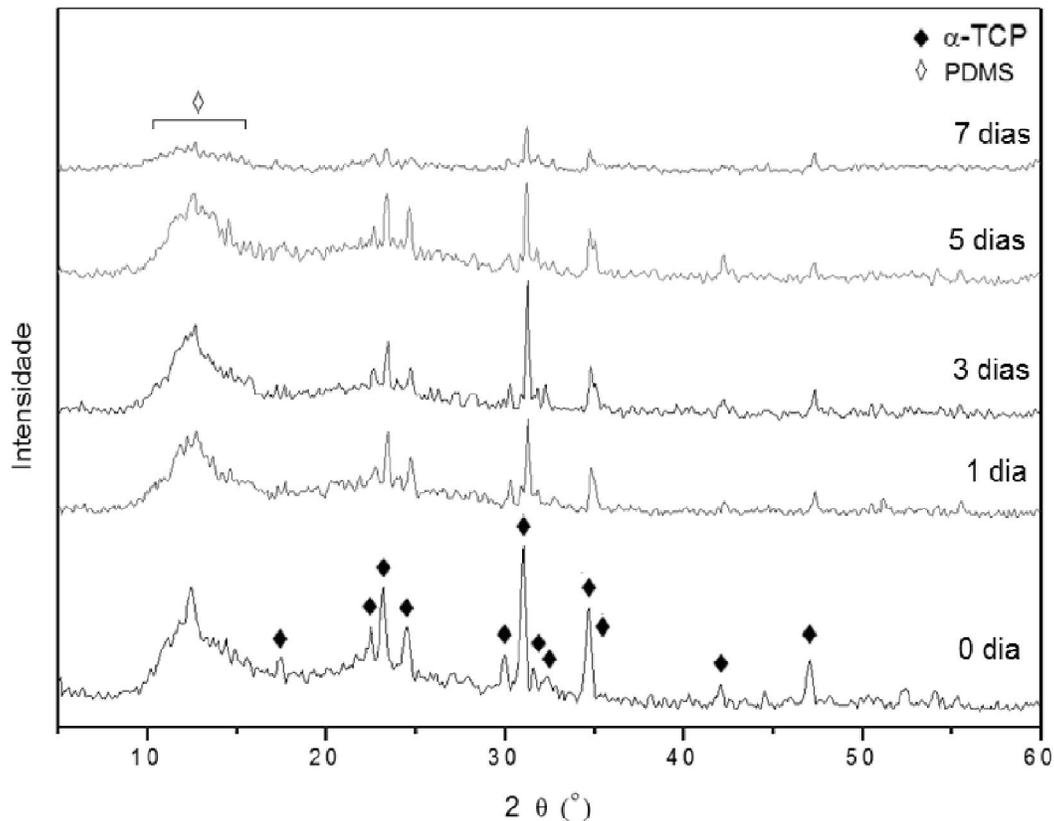


Figura 24. Difratogramas obtidos por DRX da superfície do composto PDMS/20%(v/v) α -TCP-10%TEOS, com tempos de imersão em SBF de 0 – 7 dias.

Em ambas composições, foi detectada a diminuição da intensidade dos picos correspondentes ao α -TCP como função do tempo de imersão, devido à solubilização desta fase no SBF. As limitações da técnica de DRX aplicada impossibilitou, neste caso, avaliar a formação da camada de HAp na superfície dos compósitos.

5.1.6 Propriedades Mecânicas

É de conhecimento que as propriedades mecânicas de compósitos polímero/partícula dependem fortemente do tamanho de partícula, adesão da interface matriz/carga e da fração volumétrica da carga. O tamanho de partícula tem um efeito óbvio nas propriedades mecânicas. Partículas menores têm uma área superficial maior, para uma dada fração volumétrica. Isto indica que a resistência mecânica aumenta com ao aumento da área das partículas mediante um mecanismo de transferência de carga mais eficiente. Outro fator determinante é o

estado de dispersão das cargas na matriz, observando-se uma melhor eficiência de transferência de carga no caso de partículas finamente dispersas (FU *et al.*, 2008). Diante do exposto, considerando que a HAp apresentou valores de área superficial específica superiores com relação ao α -TCP (Tabela 5), e demonstrou uma melhor dispersão de cargas na matriz de PDMS (Figuras 12 e 13), apenas a HAp foi empregada na elaboração dos compósitos a serem avaliados com relação às propriedades mecânicas. Outro fator determinante para esta escolha foi a maior produtividade da síntese por precipitação da HAp, com relação a síntese por combustão do α -TCP.

A Figura 25 apresenta os valores de resistência mecânica à tração do PDMS e dos compósitos PDMS/HAp. A adição de HAp não modificada ao PDMS aumentou levemente a resistência mecânica média do PDMS, conforme foi aumentada a fração volumétrica de HAp adicionada. O compósito PDMS/10%(v/v)HAp-0%TEOS apresentou um aumento de 6 % de resistência mecânica média, com relação ao PDMS.

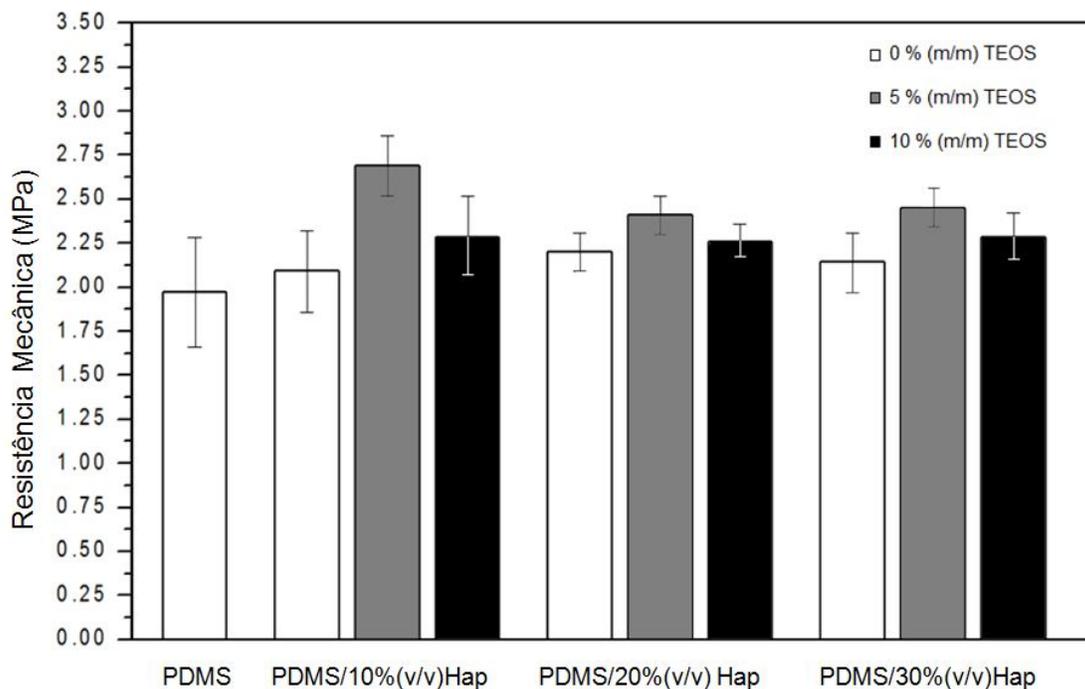


Figura 25. Valores da tensão de ruptura à tração do silicone e dos compósitos elaborados com 10, 20 e 30 %(v/v) de HAp, modificada com soluções a 0, 5 e 10 %(m/m) de TEOS.

Os compósitos elaborados com HAp modificada apresentaram valores de resistência mecânica superiores com relação àqueles elaborados com a HAp não modificada, independentemente da fração volumétrica adicionada. Valores superiores de resistência mecânica média foram obtidos nos compósitos elaborados com HAp modificada com soluções de TEOS a 5 %(m/m), com relação aos compósitos elaborados com soluções de TEOS a 10 %(m/m). O compósito PDMS/10%(v/v)HAp-5%(m/m)TEOS apresentou um aumento de 37% de resistência mecânica com relação ao PDMS. Sendo assim, a modificação superficial levou ao aumento da força interfacial entre a matriz e as partículas. Isto aumenta a eficiência da transferência de tensão entre a matriz e a cargas, o que produz o aumento da resistência mecânica dos compósitos (FU *et al.*, 2008).

A Tabela 8 apresenta os valores da deformação e do módulo elástico dos compósitos avaliados, parâmetros também extraídos a partir do ensaio de resistência à tração. Foi constatado o aumento monotônico do módulo de elasticidade dos compósitos, conforme o aumento da fração volumétrica adicionada de HAp não modificada à matriz de PDMS.

Tabela 8. Propriedades mecânicas do silicone e dos compósitos elaborados com 10, 20 e 30 %(v/v) de HAp, modificada com soluções a 0, 5 e 10 %(m/m) de TEOS.

Amostra	Deformação (%)	Módulo Elástico (MPa)
PDMS	525,28 ± 36,97	0,63 ± 0,07
PDMS/10 %(v/v) HAp-0 % TEOS	533,80 ± 90,73	1,11 ± 0,32
PDMS/10 %(v/v) HAp-5 % TEOS	163,98 ± 19,39	3,66 ± 0,60
PDMS/10 %(v/v) HAp-10 % TEOS	170,28 ± 14,29	2,77 ± 0,25
PDMS/20 %(v/v) HAp-0 % TEOS	365, 58 ± 65,62	1,58 ± 0,32
PDMS/20 %(v/v) HAp-5 % TEOS	139,62 ± 10,95	3,37 ± 0,62
PDMS/20 %(v/v) HAp-10 % TEOS	73,44 ± 3,45	2,29 ± 0,22
PDMS/30 %(v/v) HAp-0 % TEOS	200,05 ± 47,41	2,66 ± 0,18
PDMS/30 %(v/v) HAp-5 % TEOS	113,43 ± 17,16	5,39 ± 0,30
PDMS/30 %(v/v) HAp-10 % TEOS	33,18 ± 6,62	5,30 ± 0,35

Os compósitos elaborados com HAp modificada apresentaram valores de módulo de elasticidade superiores com relação àqueles elaborados com a HAp não modificada, independentemente da fração volumétrica adicionada. Valores superiores de módulo de elasticidade foram obtidos nos compósitos elaborados com HAp modificada com soluções de TEOS a 5 % (m/m), com relação aos compósitos elaborados com soluções de TEOS a 10 % (m/m). Sendo que a resistência mecânica e o módulo de elasticidade de compósitos dependem das propriedades da interface matriz/carga, estas propriedades resultam ser uma medida da adesão interfacial. Quando esta adesão interfacial é reforçada mediante o uso de agentes de acoplamento, neste caso com a aplicação de silanos reativos, cadeias poliméricas vizinhas às partículas podem ligar-se à superfície das cargas e formar uma camada de cadeias poliméricas imobilizadas. Sendo assim, a resistência mecânica e o módulo de elasticidade de compósitos com cargas modificadas aumentam, com relação aos compósitos com cargas não modificadas, como consequência do aumento da força de ligação interfacial (WANG *et al.*, 2003).

O aumento da fração volumétrica de HAp adicionada teve como consequência a diminuição da deformação dos compósitos com relação ao PDMS. Este efeito foi intensificado com o tratamento superficial das cargas. Concentrações superiores de TEOS levaram a valores inferiores de deformação, para uma fração volumétrica constante de HAp. Esta diminuição da deformação pode ser consequência da imobilização das cadeias poliméricas ao redor das partículas modificadas, como anteriormente descrito.

Os valores reportados na literatura com relação às propriedades mecânicas de compósitos PDMS/HAp foram os seguintes; Wen e colaboradores (WEN *et al.*, 2008) reportaram que o compósito PDMS/40% (m/m) n-HAp, sendo a HAp previamente modificada com viniltrióxido-silano, apresentou uma resistência mecânica à tração de 1,62 MPa, com uma deformação máxima de 65 %. Shansong e colaboradores (SHANSONG *et al.*, 2003) reportaram que o compósito PDMS/60% HAp apresentou uma resistência mecânica à tração de 5,29 MPa. Thein-Han e colaboradores (THEIN-HAN *et al.*, 2009) reportaram que o compósito PDMS/5% (m/m) HAp, sendo a HAp previamente modificada com octametiltrisiloxano, apresentou uma resistência mecânica de 1,0 MPa, correspondente a um aumento de 33 % na resistência mecânica à tração, um

módulo de elasticidade de 0,28 MPa e uma deformação máxima de 588 %. A partir dos dados publicados não foi possível, em todos os casos, obter o aumento percentual da resistência mecânica à tração dos compósitos, por tanto, a comparação dos valores obtidos resultou complicada. Porém, os resultados obtidos neste trabalho estão em concordância com estes trabalhos, os quais, de forma geral, reportaram o efeito de reforço mecânico obtido com a adição de partículas de HAp à matriz de PDMS.

A Figura 26 apresenta micrografias da superfície de fratura dos compósitos após a aplicação da deformação. Na Figura 26(a), correspondente ao compósito elaborado com HAp não modificada, foi possível observar que a partícula encontrou-se separada da matriz. Este processo de separação das cargas com formato de partículas de uma matriz após a deformação é conhecido como *debonding* (THIO, ARGON e COHEN, 2004). O *debonding* normalmente acontece devido à falta de aderência entre a matriz e a carga. Sendo assim, a partícula não pode suportar carregamento e a resistência do compósito diminui com o aumento da fração volumétrica da carga adicionada (FU *et al.*, 2008).

As Figuras 26(b) e (c) correspondem, respectivamente, às partículas modificadas com soluções TEOS a 5 e 10 %(m/m). Foi constatado que elas permaneceram incrustadas à matriz após a deformação, como consequência do aumento da força de interface matriz/partícula, devido à modificação superficial com soluções de TEOS.

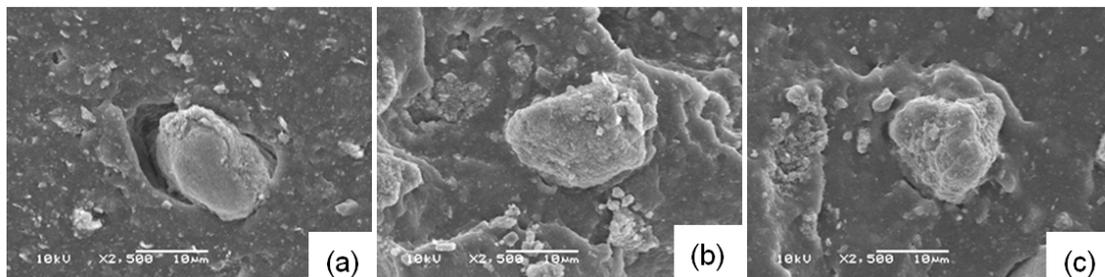


Figura 26. Micrografias obtidas por MEV da superfície de fratura dos compósitos obtidos com 20 %(v/v) de HAp, tratada com soluções a (a) 0 %, (b) 5 % e (c) 10 %(m/m) de TEOS.

A Tabela 9 apresenta os valores de dureza Shore A do PDMS e dos compósitos elaborados mediante o Método Tradicional. Foi possível observar que a adição das partículas não modificadas de HAp aumentou monotonicamente a dureza do PDMS. Por outro lado, a modificação superficial das partículas levou à obtenção de valores de dureza superiores, com relação aos valores obtidos em compósitos com partículas não modificadas. Este comportamento também é evidência do aumento da força interfacial matriz/partícula.

Tabela 9. Valores de dureza Shore A do PDMS e dos compósitos elaborados com 10 - 30 %(v/v) de HAp, tratada com soluções de TEOS a 0, 5 e 10 %(m/m).

Amostra	Dureza Shore A
PDMS	31 ± 1
PDMS/10 %(v/v) HAp-0 % TEOS	38 ± 1
PDMS/10 %(v/v) HAp-5 % TEOS	56 ± 1
PDMS/10 %(v/v) HAp-10 % TEOS	50 ± 1
PDMS/20 %(v/v) HAp-0 % TEOS	46 ± 1
PDMS/20 %(v/v) HAp-5 % TEOS	55 ± 1
PDMS/20 %(v/v) HAp-10 % TEOS	50 ± 1
PDMS/30 %(v/v) HAp-0 % TEOS	52 ± 1
PDMS/30 %(v/v) HAp-5 % TEOS	66 ± 1
PDMS/30 %(v/v) HAp-10 % TEOS	66 ± 1

Shansong e colaboradores (SHANSONG *et al.*, 2003) também reportaram o aumento monotônico da dureza dos compósitos PDMS/HAp com o aumento da fração volumétrica de HAp adicionada, obtendo um valor de 30 Shore A para 70 % de HAp.

5.2 Compósito BS/FC obtido mediante a Síntese Reativa

5.2.1 Caracterização das cargas na matriz

A Figura 27 apresenta o histograma da distribuição do tamanho de partícula correspondente ao Ca(OH)_2 comercial empregado na elaboração dos compósitos. Os resultados obtidos da caracterização física do Ca(OH)_2 são reportados na Tabela 10. No histograma da distribuição de tamanho de partícula do Ca(OH)_2 foi possível observar um perfil aproximadamente bimodal, sendo que a primeira categoria apresentou um tamanho médio de 5 μm , enquanto que a segunda um tamanho médio de 12 μm . O tamanho médio de partícula foi de 20 μm .

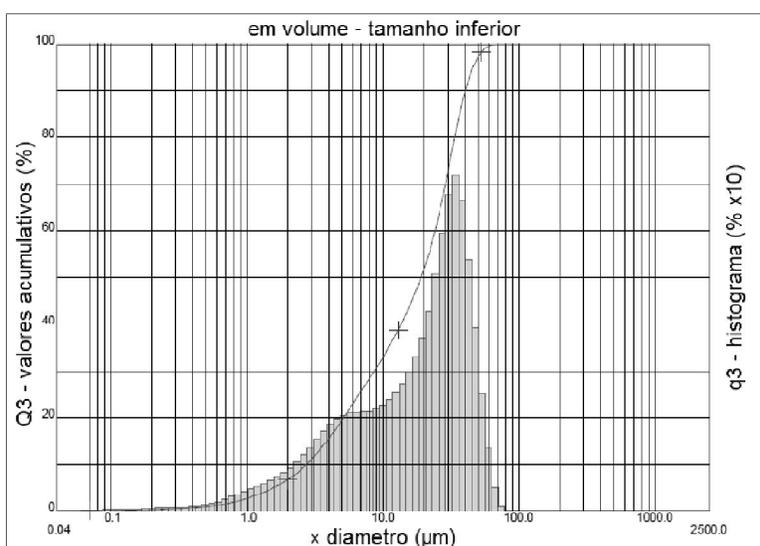


Figura 27. Histograma representando a distribuição de tamanho de partícula do Ca(OH)_2 na forma de pó empregado na elaboração dos compósitos mediante o método de Síntese Reativa.

Tabela 10. Resultados obtidos das técnicas aplicadas para a caracterização do Ca(OH)_2 .

Técnica de Caracterização	Resultado
Densidade (g/cm^3)	2,24
Tamanho de Cristalito – Eq. de Scherrer (nm)	152
Tamanho Médio de Partícula (μm)	20,41
Área Superficial Específica (m^2/g)	12,15

A Figura 28 apresenta micrografias obtidas por MEV dos pós de Ca(OH)_2 , nelas foi possível observar partículas formando aglomerados de tamanho micrométrico.

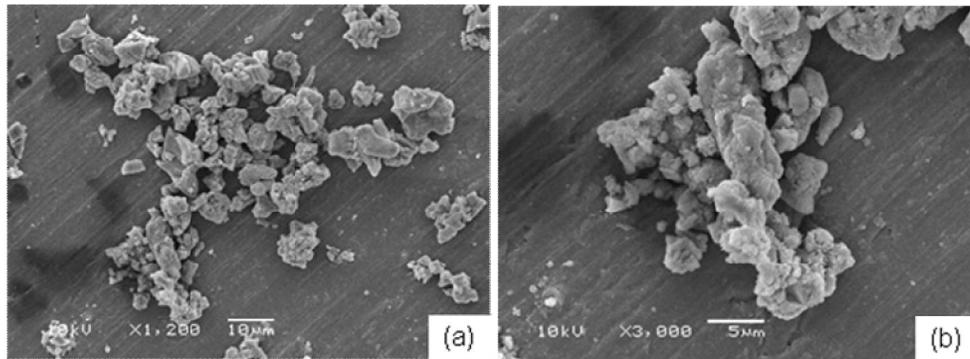


Figura 28. Micrografias obtidas por MEV do pó de Ca(OH)_2 empregado. Imagem tomada com aumento de 1200x (a), imagem com aumento de 3000x (b).

A Figura 29 apresenta difratogramas correspondentes às etapas do processo de elaboração do compósito com 20%(v/v) de Ca(OH)_2 mediante o método de Síntese Reativa.

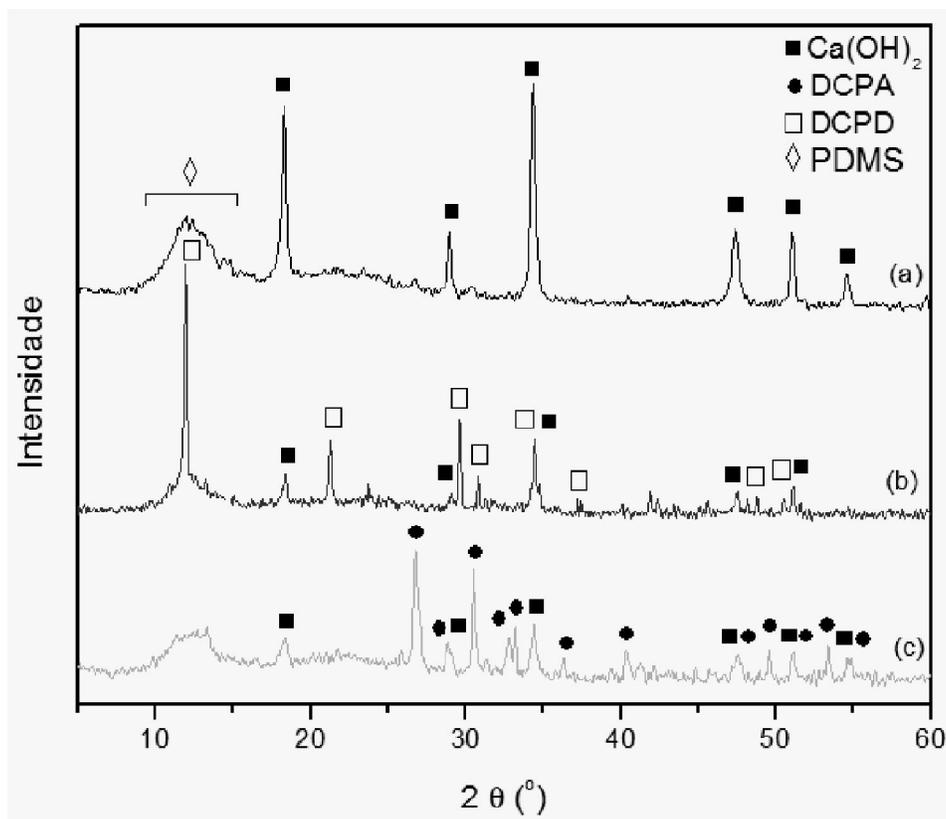
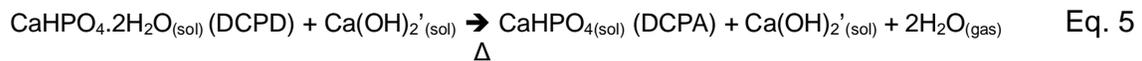


Figura 29. Difratogramas obtidos durante as etapas de elaboração do compósito de borracha elastomérica de silicone com a adição de 20%(v/v) de Ca(OH)_2 mediante o método de Síntese Reativa. (a) incorporação do Ca(OH)_2 à matriz elastomérica sem cura, (b) adição do H_3PO_4 e formação da fase DCPD, com a presença de Ca(OH)_2 remanescente e (c) compósito após cura, com a obtenção da fase DCPA, com a presença de Ca(OH)_2 remanescente.

O difratograma (a) corresponde ao elastômero de silicone sem cura, ao qual foi previamente incorporado o Ca(OH)_2 (JCPDS 01-076-0570), o (b) corresponde à etapa de adição de H_3PO_4 , o que levou à obtenção de fosfato dicálcico dihidratado (DCPD) (JCPDS 02-0085) com Ca(OH)_2 remanescente, tal reação pode ser representada da seguinte maneira;



Como mostrado no difratograma (c), após a etapa de reticulação do compósito a 185 °C, o DCPD sofreu desidratação, levando à obtenção de fosfato dicálcico anidro (DCPA) (JCPDS 01-0653), sendo que esta reação acontece a 80 °C (DOROZHKIN, 2009), dita reação de desidratação pode ser representada da seguinte forma:



O tamanho de cristalito do DCPD obtido foi de 24 nm (Equação de Scherrer). As figuras apresentadas a continuação mostram micrografias da fratura do compósito não curado com 20%(v/v) de Ca(OH)_2 (Figura 30) e do compósito curado obtido após a adição de H_3PO_4 (Figura 31). Em ambos casos, também são apresentados resultados da análise elementar, pontual e por área, feitas por EDS. No caso do compósito obtido após a adição de H_3PO_4 (Figura 31(b)), também são apresentados valores da relação Ca/P.

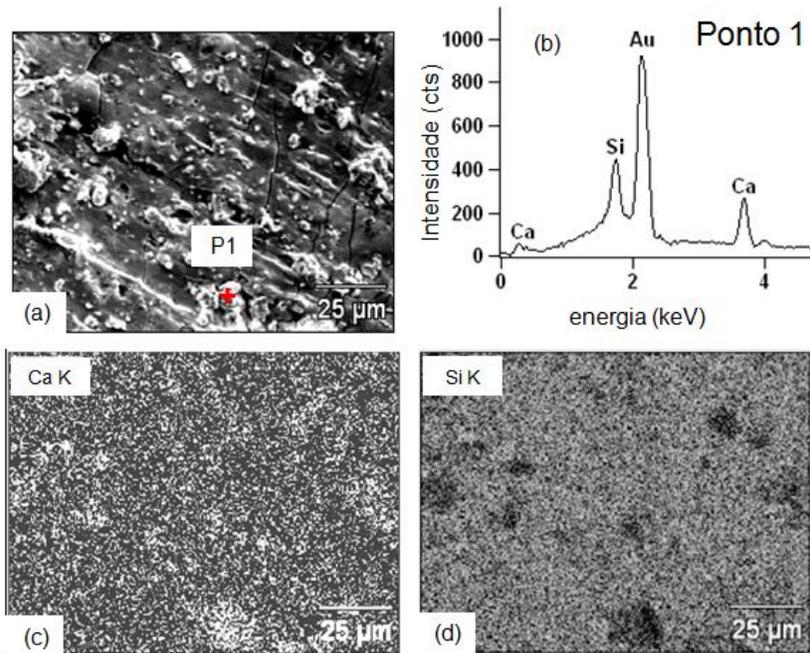


Figura 30. (a) Micrografia obtida por MEV da superfície de fratura do compósito de elastômero de silicone com a incorporação de 20%(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, (b) espectro da análise elementar qualitativa pontual do compósito, e espectros da análise elementar qualitativa por área da superfície de fratura do compósito, correspondentes aos elementos (c) Ca e (d) Si.

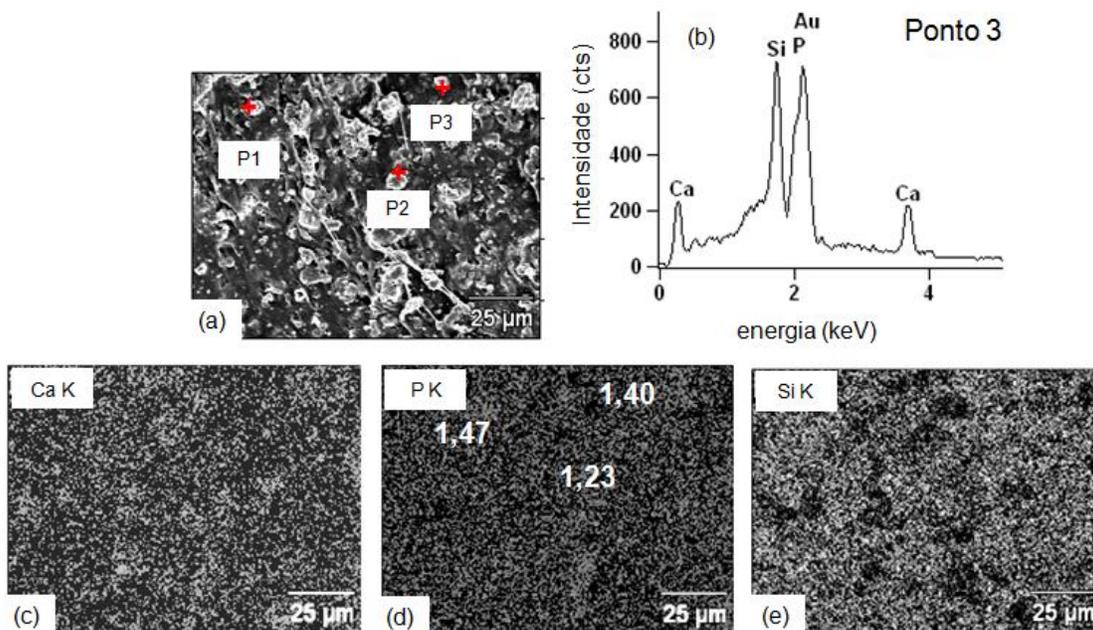


Figura 31. (a) Micrografia obtida por MEV da superfície de fratura do compósito de elastômero de silicone com a adição de 20%(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e H_3PO_4 , (b) espectro da análise elementar qualitativa pontual do compósito, e espectros da análise elementar qualitativa por área da superfície de fratura do compósito, correspondentes aos elementos (c) Ca, (d) P, apresentando as relações Ca/P encontradas, e (e) Si.

O espectro obtido mediante a análise elementar por área do compósito contendo 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 (Figura 30(c)) demonstrou que as partículas de Ca(OH)_2 encontraram-se homoganeamente distribuídas e dispersas na matriz elastomérica de silicone. Os espectros apresentados nas Figuras 31(c) e (d) demonstraram que as partículas de DCPA encontraram-se homoganeamente distribuídas e dispersas.

A Figura 31(d) apresenta valores da relação Ca/P de partículas de fosfato de cálcio após a adição de H_3PO_4 , estes valores encontram-se acima do valor correspondente à fase DCPA no estado puro (Ca/P = 1,0). Como mostrado no difratograma (c) da Figura 29, foi detectada certa quantidade de Ca(OH)_2 remanescente presente conjuntamente com a fase DCPA. A discrepância existente entre valores da relação Ca/P possivelmente deva-se à presença de regiões onde o Ca(OH)_2 não foi solubilizado na superfície da partícula, o que produziu o aumento local da reação Ca/P.

A Figura 32 apresenta micrografias mostrando a morfologia da superfície externa dos compósitos obtidos com a adição de 10, 20 e 30 % (v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Foi observada, para todas as formulações, a formação de partículas com um tamanho aproximado de 200 nm, homogeneamente distribuídas e dispersas na superfície dos compósitos. Por outro lado, o aumento da fração volumétrica de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ levou ao aumento do tamanho dos aglomerados formados por estas partículas.

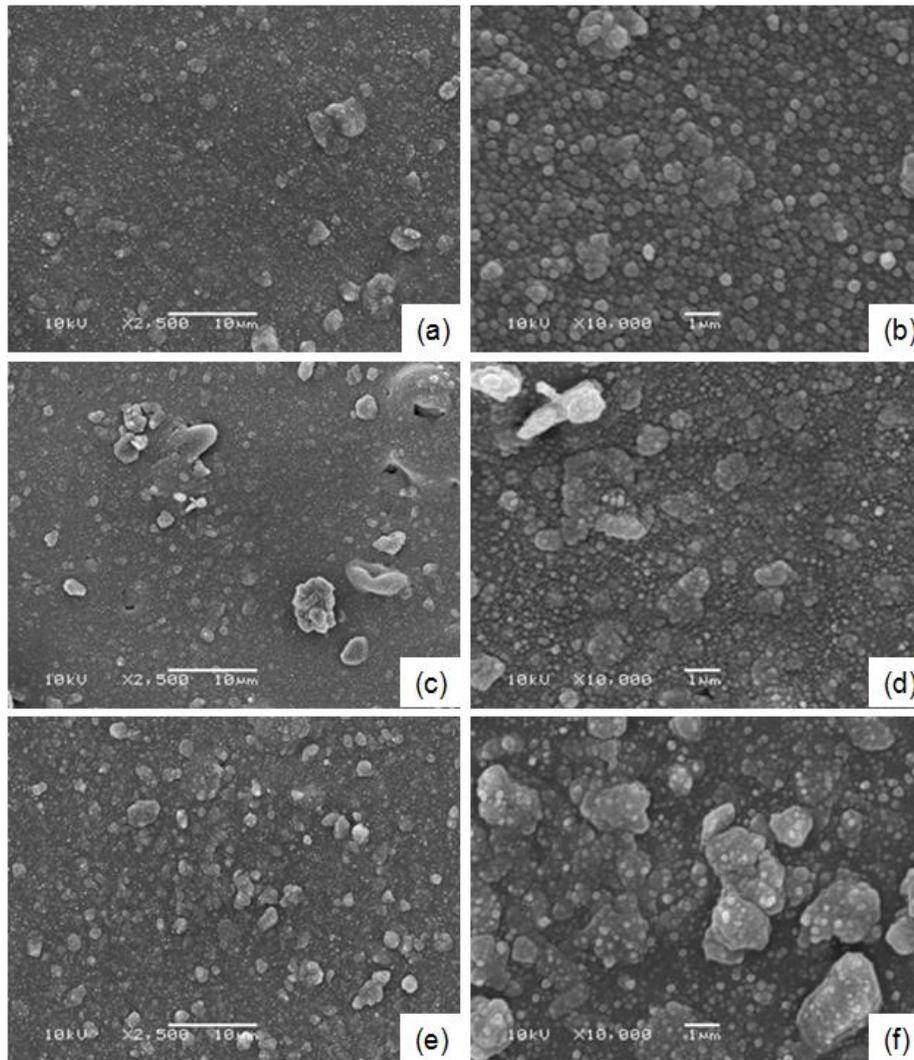


Figura 32. Micrografias obtidas por MEV mostrando a morfologia da superfície externa dos compósitos obtidos com (a) e (b) 10%, (c) e (d) 20% e (e) e (f) 30 % (v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

A Figura 33 apresenta difratogramas obtidos por DRX dos compósitos elaborados com a adição de frações volumétricas de Ca(OH)_2 de 10 - 30 % (v/v). Observou-se que a intensidades relativas dos picos correspondentes à fase DCPA aumentaram conforme a fração volumétrica de Ca(OH)_2 foi aumentada (difratogramas (a), (b) e (c)). Também foi constatado, nos difratogramas (d) e (e), a presença dos principais picos correspondentes à fase HAp (JCPDS 9-0432), o que faz supor que apenas para estas formulações cumpriram-se as condições necessárias para tal formação, isto será discutido a continuação com ajuda de outros resultados. Para todas as composições foi possível observar a formação da fase DCPA com quantidades remanescentes de Ca(OH)_2 (Equação 5), indicando que a reação de conversão $\text{Ca(OH)}_2 \rightarrow \text{DCPA}$ não foi completa.

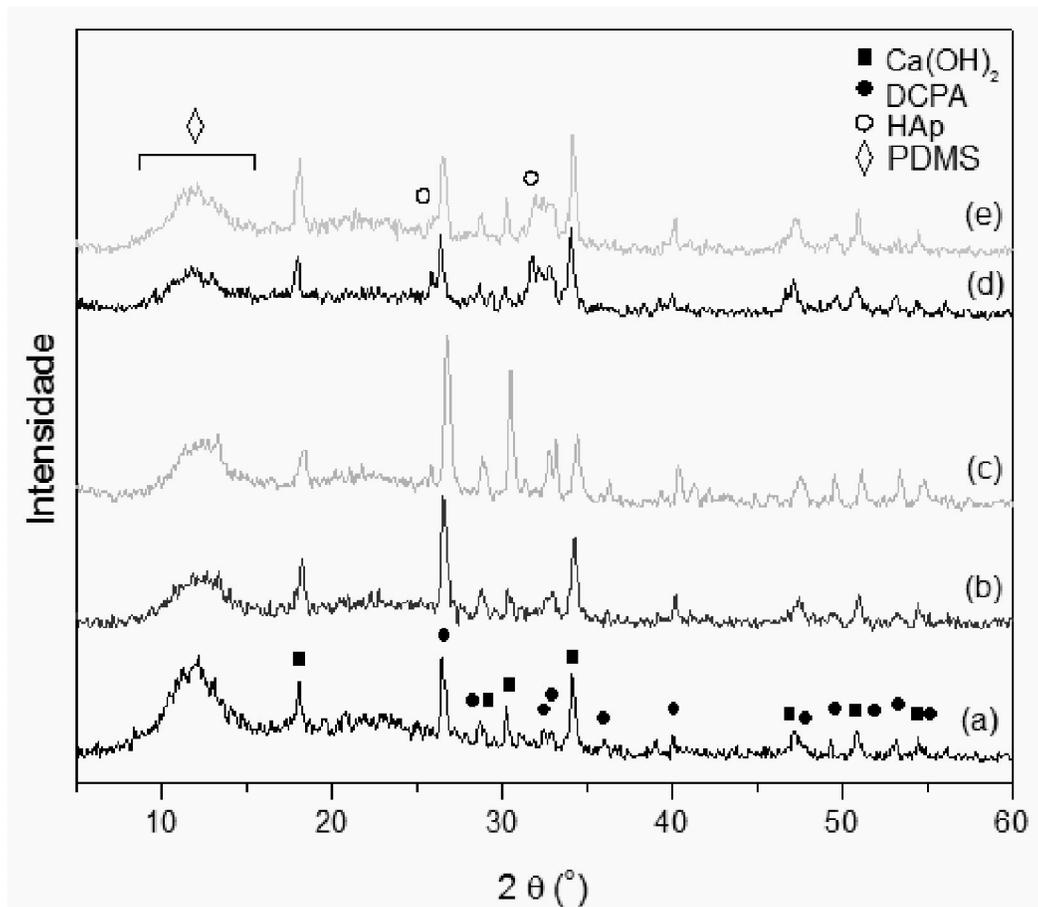


Figura 33. Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com (a) 10, (b) 15, (c) 20, (d) 25 e (e) 30 % (v/v) de Ca(OH)_2 .

A Figura 34 apresenta a curva de calibração elaborada com o intuito de quantificar o Ca(OH)_2 remanescente nos compósitos.

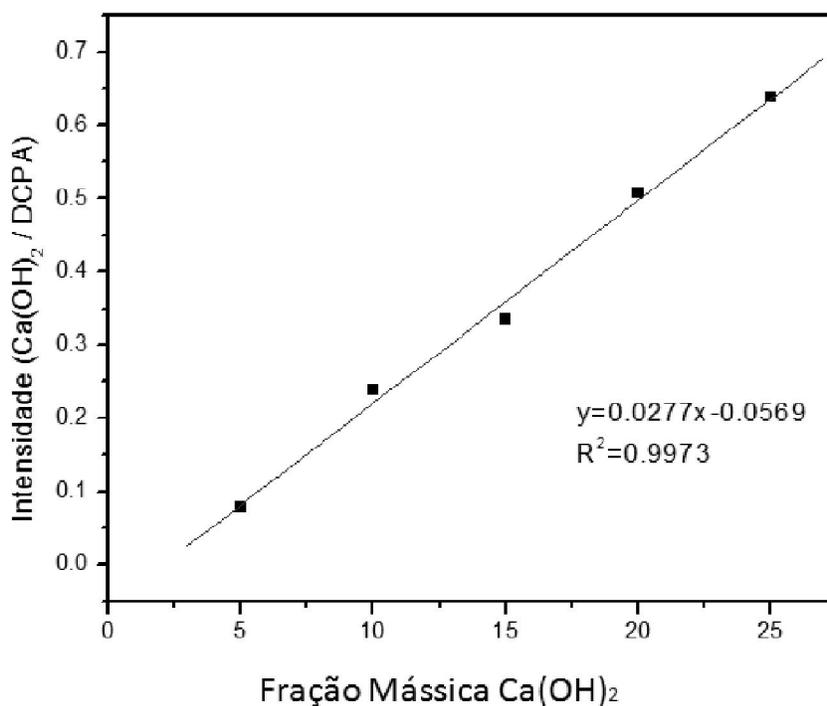


Figura 34. Curva de calibração elaborada com a incorporação de frações mássicas de 5-25 % (m/m) de Ca(OH)_2 e de 95-75 % (m/m) de DCPA.

A Tabela 11 apresenta os valores da fração de Ca(OH)_2 remanescente e do pH de compósitos com quantidades adicionadas de Ca(OH)_2 de 10, 20 e 30 % (v/v). Estes valores são apresentados como função da quantidade de H_3PO_4 adicionado, considerando como 100 % o volume estequiométrico calculado a partir da reação expressa na Equação 5. Estes resultados indicam que a fração mássica do Ca(OH)_2 remanescente esteve influenciada fortemente pela quantidade de H_3PO_4 adicionada, quanto maior esta quantidade, menor a fração mássica de Ca(OH)_2 remanescente.

Tabela 11. Valores da fração mássica de Ca(OH)_2 remanescente e de pH correspondentes aos compósitos com 10, 20,30 %(v/v) de Ca(OH)_2 , com quantidades de H_3PO_4 estequiométrico (Eq. 5) adicionadas de 80, 90 e 100%.

Formulação	Ca(OH)_2 remanescente no compósito %(m/m)	pH
PDMS + 10 %(v/v) Ca(OH)_2		
100% H_3PO_4	5,0	$5,99 \pm 0,43$
90% H_3PO_4	3,0	$6,04 \pm 0,26$
80% H_3PO_4	42,0	$6,37 \pm 0,04$
PDMS + 20 %(v/v) Ca(OH)_2		
100% H_3PO_4	4,0	$5,94 \pm 0,25$
90% H_3PO_4	4,0	$5,77 \pm 0,27$
80% H_3PO_4	16,0	$6,90 \pm 0,34$
PDMS + 30 %(v/v) Ca(OH)_2		
100% H_3PO_4	a	$8,05 \pm 0,23$
90% H_3PO_4	a	$8,78 \pm 0,11$
80% H_3PO_4	a	$9,12 \pm 0,10$

a: esta composição permitiu a formação de HAp (difratograma (e), Fig. 33), a presença desta fase impossibilita o cálculo do Ca(OH)_2 remanescente no compósito pelo método aqui proposto, pois leva à obtenção de um sistema com três fases (HAp/DCPD/Ca(OH)_2), tal sistema não pode ser reproduzido pela curva de calibração elaborada (DCPD/Ca(OH)_2), (Fig. 34).

Ainda assim, observa-se que para 100 % da quantidade estequiométrica de ácido adicionado, obteve-se um valor de aproximadamente 5 %(m/m) de Ca(OH)_2 remanescente, independente da fração volumétrica de Ca(OH)_2 adicionada. Isto possivelmente devido à natureza *in situ* desta reação, a qual foi realizada na presença da matriz elastomérica, isto pôde ter diminuído a taxa de difusão dos íons inorgânicos, sendo este um dos principais fatores para o controle da formação de cristais de fosfatos de cálcio (LI *et al.*, 2010).

Outros fatores que poderiam ter produzido tal resultado são a baixa solubilidade do Ca(OH)_2 e o estado de agregação das partículas de Ca(OH)_2 , como anteriormente demonstrado (Figura 28), o que pôde ter diminuído a sua reatividade, levando à obtenção de Ca(OH)_2 remanescente. Com relação aos valores de pH dos compósitos obtidos, é possível constatar que estes valores tenderam a aumentar como consequência do aumento do Ca(OH)_2 remanescente. Por outro lado, apenas a formulação com 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 atingiu valores de pH próximos a 9,5, condição necessária para a formação de HAp.

5.2.2 Análise Térmica

A Figura 35 apresenta termogramas obtidos durante a reação de reticulação do elastômero de silicone puro e dos compósitos obtidos com a incorporação de 10, 20 e 30 % (v/v) de Ca(OH)_2 .

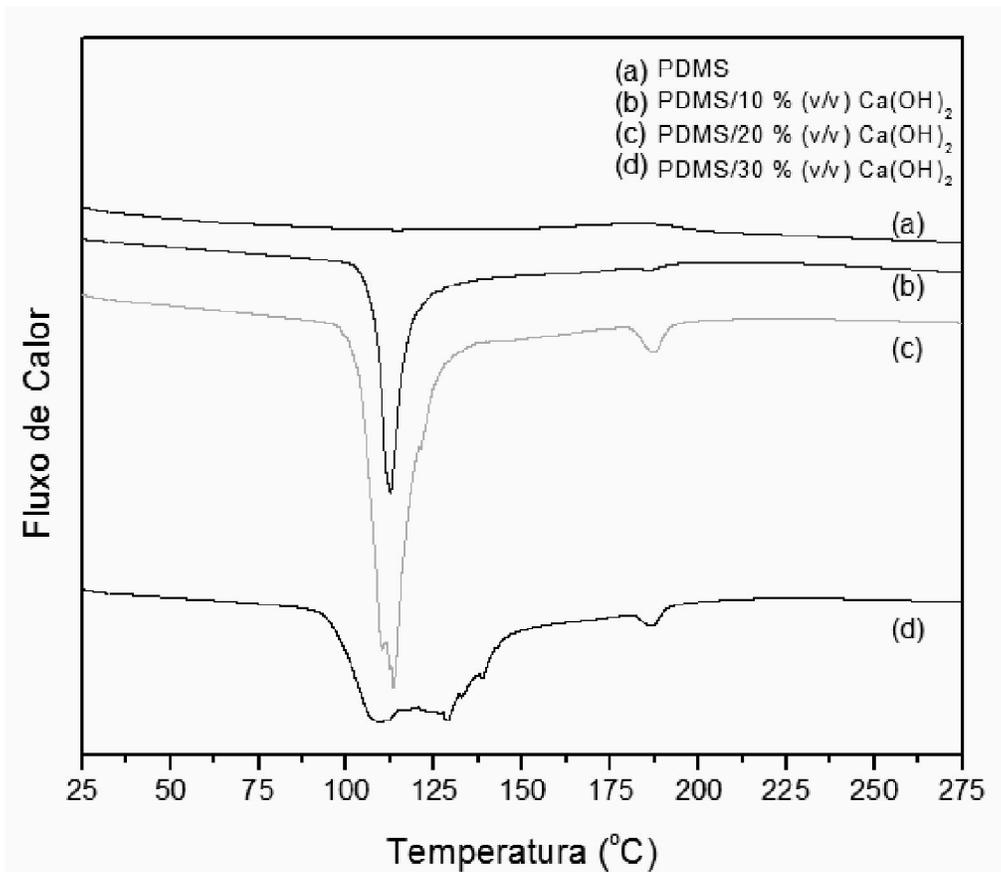


Figura 35. Termogramas obtidos por DSC do elastômero de silicone puro e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com a incorporação de 10, 20 e 30 % (v/v) de Ca(OH)_2 ao elastômero de silicone.

Foi observado que os termogramas dos compósitos foram caracterizados por um perfil semelhante, apresentando um pico entre 100 e 125 °C, correspondente à reação de desidratação do DCPD, levando à obtenção do DCPA. Nos difratogramas obtidos não foi possível detectar os picos correspondentes à reação exotérmica de reticulação da matriz elastomérica de PDMS.

5.2.3 Propriedades de Superfície

A Figura 36 apresenta os valores de ângulo de contato estático do PDMS sem cargas e dos compósitos obtidos com a incorporação de 10 - 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 ao PDMS. A adição de 25 e 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 à matriz elastomérica de silicone permitiu a diminuição dos valores de ângulo de contato estático do PDMS. O silicone sem cargas apresentou um ângulo de contato estático de $115,71^\circ \pm 0,90$, enquanto que o compósito PDMS/30%(v/v) Ca(OH)_2 apresentou um valor de $100,60^\circ \pm 2,30$, representando uma diminuição de $15,02\% \pm 0,16$.

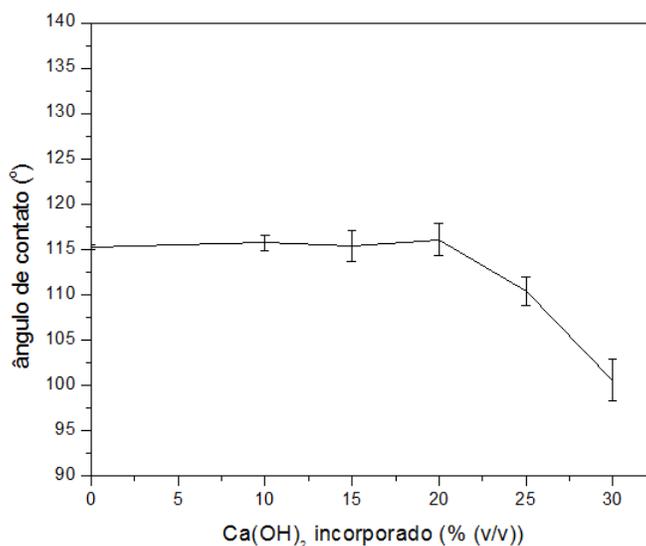


Figura 36. Resultados da medição do ângulo de contato estático da água sob a superfície dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 .

Os métodos reportados na literatura mais comumente utilizados para a modificação superficial de polímeros de silicone são o tratamento com plasma, corona e tratamentos a laser (ABASSI, MIRZADEH e KATBAB, 2011). Hillborg (HILLBORG e GEDDE, 1998) aplicou descargas corona sob a superfície do PDMS de maneira a avaliar variação da hidrofobicidade do polímero mediante medições do ângulo de contato de avanço e retrocesso.

Inicialmente, foi reportada a perda da hidrofobicidade da superfície, quando a mesma foi exposta ao tratamento por plasma. Exposições prolongadas às descargas corona levaram à formação de uma camada rica em silício (silício ligado a mais de dois átomos de oxigênio) de ~ 10 nm na superfície externa da amostra. As amostras mantidas em ar seco recuperaram a sua alta hidrofobicidade inicial.

Amostras submetidas a uma deformação mecânica pequena (< 1 %), após a aplicação do tratamento corona, exibiram uma recuperação da hidrofobicidade mais rápida que amostras similares não submetidas a tal deformação. Foi sugerido que a deformação, induzida mecânica ou termicamente, causou a formação de trincas na camada frágil de silício, o que facilitou o transporte de PDMS de baixa massa molecular para a superfície da amostra, resultando na recuperação da hidrofobicidade do material.

Wetzel e colaboradores (WETZEL *et al.*, 2010) estudaram a modificação do PDMS mediante o tratamento superficial não térmico com feixe de elétrons. Os pesquisadores reportaram a diminuição do ângulo de contato estático da água sob a superfície do PDMS (113°) como função da energia absorvida por unidade de massa de material tratado, expressa em Gray (Gy) (1 Gy = 1 Joule/kg), a amostra submetida a 6000 kGy apresentou um ângulo de contato estático de 82°, representando uma diminuição de 27 %, a qual resultou ser aproximadamente o dobro da redução obtida mediante o procedimento aqui proposto.

Recentemente foi constatado um interesse crescente com relação à recuperação da hidrofobicidade do PDMS e com relação ao desenvolvimento de revestimentos hidrofílicos a longo prazo para a superfície do PDMS. Vários métodos para superar esta recuperação hidrofóbica têm sido estudados, tais como; eliminação de espécies de baixa massa molecular, tratamentos com plasma de oxigênio, ultravioleta/ozônio, irradiação UV e descargas elétricas. Porém, estas técnicas apresentam várias desvantagens, incluindo um alto consumo de tempo, processos complexos, a necessidade de custosas instalações com equipamentos à vácuo, fornecimento de corrente contínua para a geração de alta tensão, problemas de segurança, e a necessidade de técnicos bem treinados (KIM e JEONG, 2011). A

Figura 37 apresenta os valores da energia superficial específica dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa. Como consequência dos resultados obtidos nas medições do ângulo de contato (Figura 36), apenas a adição de frações volumétricas de 25 e 30 % de Ca(OH)₂ teve influência na energia superficial específica dos compósitos. A adição de tais frações volumétricas levou ao aumento da energia superficial específica dos compósitos com relação ao PDMS sem cargas.

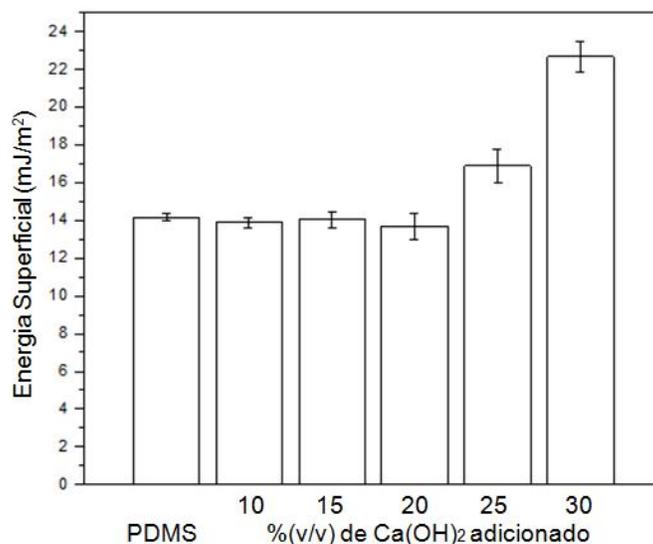


Figura 37. Valores da energia livre de superfície do PDMS e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH)₂.

Pinto e colaboradores (PINTO *et al.*, 2010) empregaram um tratamento de plasma de maneira a ativar a superfície do PDMS (PDMS/Plasma), sob a qual foi logo promovida a ligação de um surfactante sintético comercial (PDMS/Surf) ou de poli(etilenoglicol metil metacrilato) (PEGMA) (PDMS/PEGMA). Este tratamento teve como objetivo melhorar a hidrofobicidade e a repulsão celular e bacterial do PDMS a ser empregado como biomaterial. Os valores da energia livre superficial (mJ/m²) reportados foram os seguintes; PDMS, 12,71 ± 2,35; PDMS/Plasma, 94,31 ± 1,91; PDMS/Surf, 111,40 ± 3,81; PDMS/PEGMA, 85,49 ± 3,72. O valor de energia livre de superfície obtido na amostra PDMS/Surf resultou ser aproximadamente cinco vezes superior ao valor obtido mediante o tratamento aqui proposto.

O desempenho da Síntese Reativa, aplicada como tratamento para melhorar a hidrofobicidade do PDMS, medido em termos da diminuição do ângulo de contato estático do aumento da energia de superfície, resultou ser inferior ao desempenho de tratamentos físicos reportados na literatura. Ainda assim, o método aqui proposto para o aumento da hidrofobicidade do PDMS, baseado na introdução de partículas de fosfatos de cálcio na superfície do mesmo, resulta em uma alternativa simples e de baixo custo para tal propósito, com a vantagem de proporcionar uma solução a longo prazo, em contraste com os procedimentos aplicados atualmente, os quais invariavelmente levam à recuperação da hidrofobicidade do PDMS.

A Figura 38 apresenta perfis da rugosidade superficial dos compósitos obtidos, enquanto que a Figura 39 apresenta valores de rugosidade dos mesmos. Foi possível constatar que a adição das cargas aumentou os valores de rugosidade superficial Ra dos compósitos com relação ao PDMS. Com a adição de 15 - 25 %(v/v) de Ca(OH)_2 foi obtido um valor aproximadamente constante de $7,0 \mu\text{m}$, enquanto que com a adição de 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 , um valor de $10,9 \pm 1,5 \mu\text{m}$.

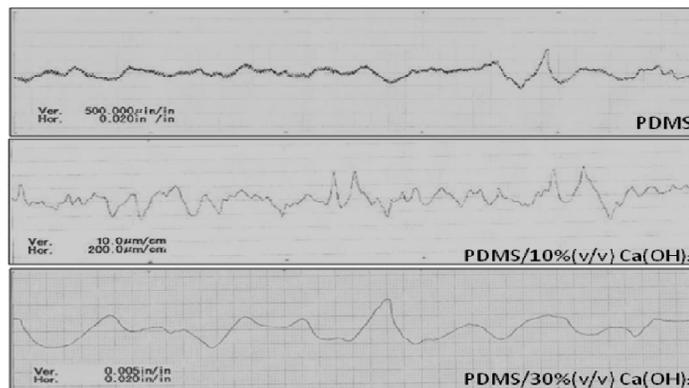


Figura 38. Perfis da rugosidade superficial do PDMS e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa com 10, 20 e 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 .

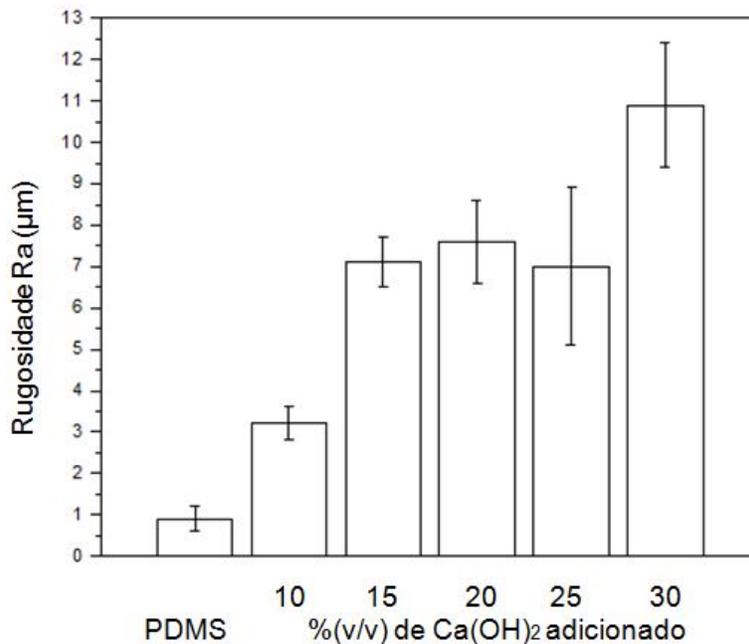


Figura 39. Valores de rugosidade superficial (Ra) do PDMS e dos compósitos obtidos com a incorporação de 10 %(v/v) – 30 %(v/v) de Ca(OH)_2 ao PDMS.

É de conhecimento que o comportamento celular na superfície do biomaterial é dependente das interações implante/célula, as quais estão relacionadas com as propriedades de superfície do implante. A hidrofobicidade superficial, rugosidade, textura, composição química, carga elétrica e morfologia influenciam fortemente as respostas das células em contato com o implante. Vários estudos têm demonstrado que o sucesso do implante depende não só das suas propriedades físico-químicas superficiais, tais como energia superficial, mas também depende da rugosidade (PONSONNETA *et al.*, 2003). Hallab e colaboradores (HALLAB *et al.*, 2001) demonstraram que a energia livre de superfície apresenta maior influência nas propriedades de superfície de um determinado material que a sua rugosidade de superfície, com relação à adesão e proliferação celular.

5.2.4 Ensaio de biocompatibilidade *in vitro*

A Figura 40 apresenta os difratogramas obtidos por DRX correspondentes aos compósitos elaborados mediante a Síntese Reativa com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão em SBF de até 7 dias.

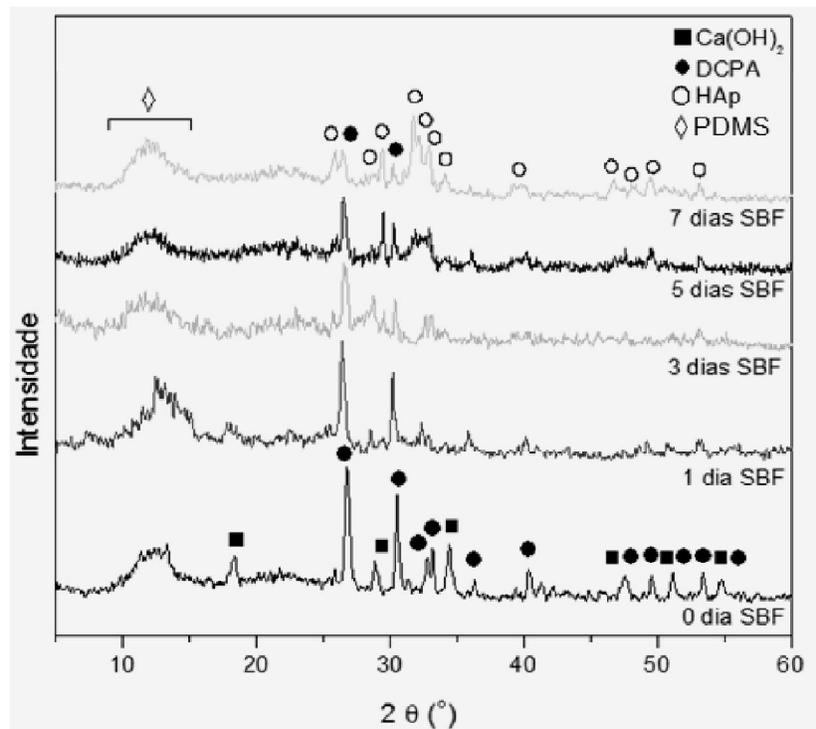


Figura 40. Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão em SBF de (a) 0, (b) 1, (c) 3 (d) 5 e (e) 7 dias.

Conforme o tempo de imersão em SBF foi aumentado, as intensidades relativas dos picos correspondentes as fases Ca(OH)_2 e DCPA diminuíram, isto provavelmente devido à solubilização destas fases no SBF. Para o tempo de imersão de 1 dia, já não foram detectados picos correspondentes ao Ca(OH)_2 , por outro lado, picos correspondentes à fase DCPA ainda foram detectados para 7 dias de imersão.

Também foi possível observar a presença e posterior aumento da intensidade relativa dos picos correspondentes à HAp, devido à reprecipitação desta fase a partir do SBF na superfície dos compósitos. O tamanho de cristalito da HAp obtido após 7 dias de imersão em SBF foi de 30 nm (Equação de Scherrer).

Os valores de pH das soluções nas quais os compósitos foram imersos são apresentados na Tabela 12. É possível constatar o aumento dos valores de pH das soluções nos quais os compósitos foram imersos para 1 dia de imersão, posteriormente os mesmos foram estabilizados, isto devido à solubilização das fases Ca(OH)_2 e DCPA como anteriormente mencionado. Desta maneira, foi possível obter valores de pH dentro da faixa de neutralidade recomendada para materiais implantáveis (DRIESSENS *et al.*, 1997).

Tabela 12. Valores de pH de compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 em função ao tempo de imersão em SBF.

Tempo de Imersão em SBF (dias)	pH
0	5,94 ± 0,25
1	7,39 ± 0,20
3	7,35 ± 0,35
5	7,07 ± 0,21
7	7,35 ± 0,27

Figura 41 apresenta micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos imersos em SBF por até 7 dias. Nas micrografias foi possível observar a formação e crescimento de cristais com a morfologia típica de cristais de HAp. Presume-se que o mecanismo para tal processo tenha sido a solubilização das fases Ca(OH)_2 e DCPA, as quais aparentam ter atuado como sítios de nucleação para a reprecipitação de HAp. Para 7 dias de imersão (Figuras 41(e) e (f)), foi possível constatar a formação de uma camada homogênea de cristais precipitados na superfície do compósito.

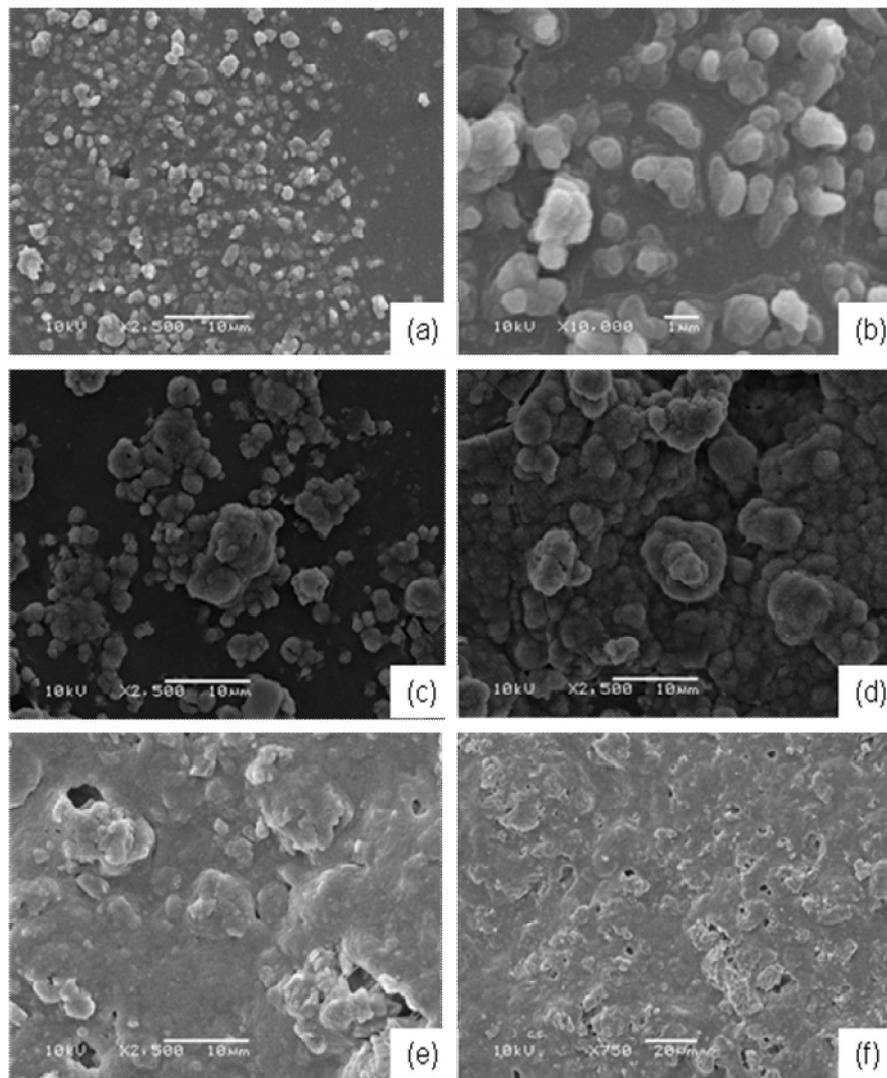


Figura 41. Micrografias obtidas por MEV da superfície do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão em SBF de (a) e (b) 1, (c) 3 (d) 5, (e) e (f) 7 dias.

As Figuras 42 e 43 apresentam micrografias da superfície e resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 % (v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, para tempos de imersão em SBF de 1 e 7 dias, respectivamente.

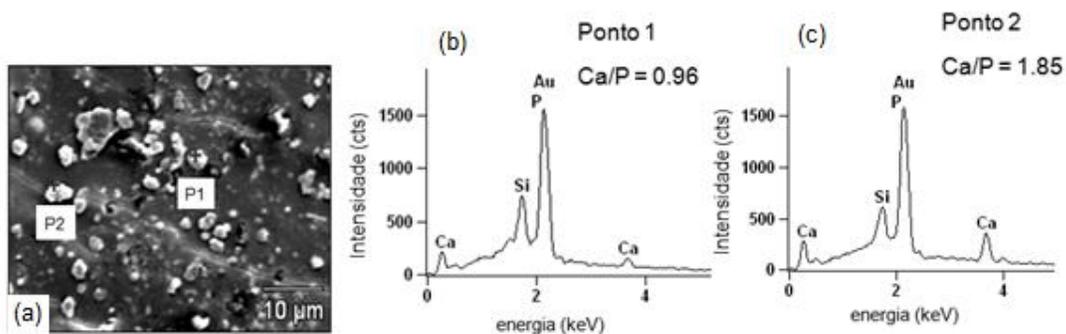


Figura 42. (a) Micrografia da superfície, (b) e (c) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 % (v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ com 1 dia de imersão em SBF.

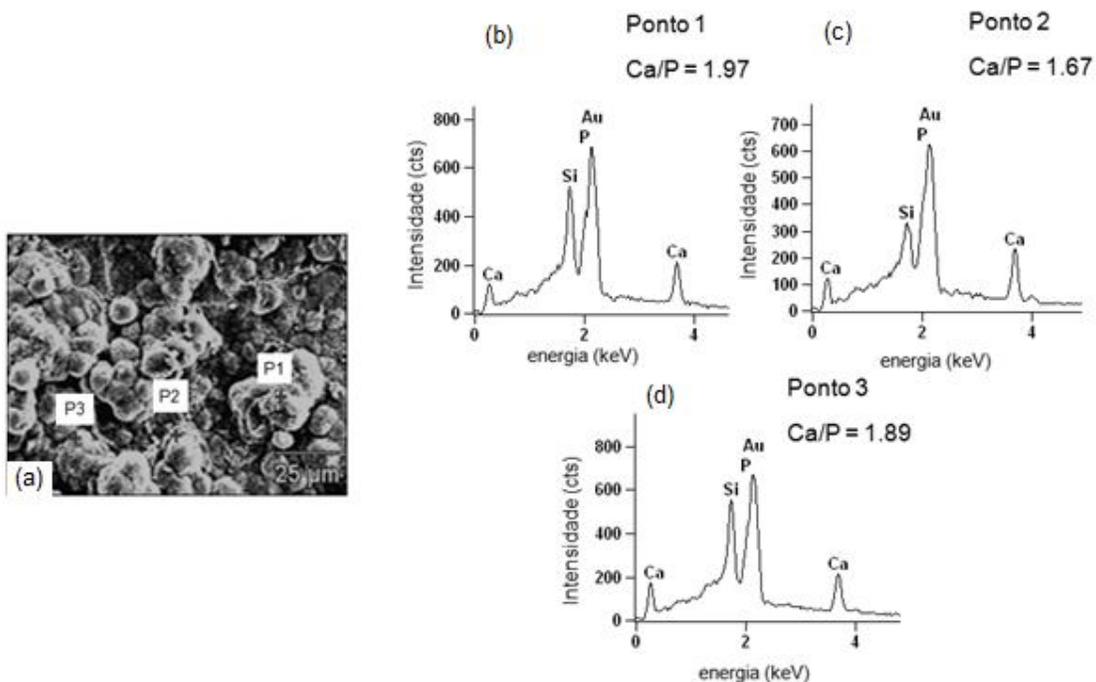


Figura 43. (a) Micrografia da superfície, (b), (c) e (d) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 % (v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ com 7 dias de imersão em SBF.

O espectro do Ponto 1 (Figura 42(b)), relativo ao composto com 1 dia de imersão em SBF, apresentou uma relação Ca/P próxima a 1,0, o que indicou a formação da fase DCPD. Por outro lado, o valor desta relação obtido no Ponto 2 (Figura 42(c)) indicou a presença de partículas com um alto conteúdo de Ca(OH)_2 remanescente ainda não solubilizado. Para 7 dias de imersão (Figura 43), os valores da relação Ca/P próximos a 1,67 (Figuras 43(b), (c) e (d)) indicaram a presença da fase HAp.

A Figura 44 apresenta os difratogramas correspondentes aos compostos com 20 % (v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão em uma solução aquosa de NaOH de até 7 dias.

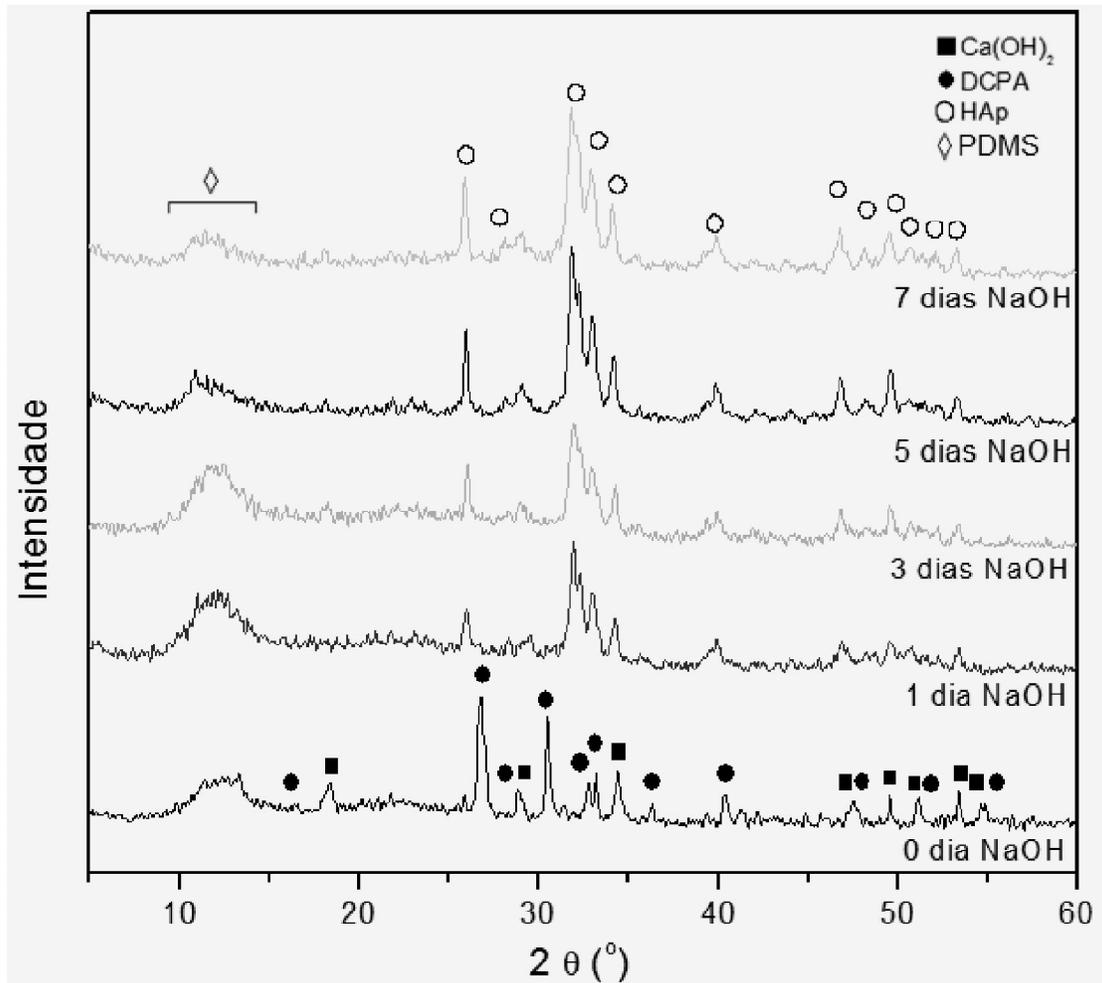
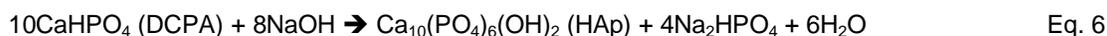


Figura 44. Difratogramas obtidos por DRX dos compostos com 20 % (v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão em uma solução aquosa de NaOH de até 7 dias.

Foi possível constatar que os picos correspondentes às fases Ca(OH)_2 e DCPA não foram identificados já para tempos de imersão de 1 dia. Conforme o tempo de imersão aumentou, a intensidade dos picos da fase HAp também aumentou. Isto devido à completa conversão daquelas fases em HAp, esta reação pode ser representada da seguinte maneira:



A HAp precipitada para 7 dias de imersão apresentou um tamanho de cristalito de 15 nm (Equação de Scherrer). Após os tempos de imersão reportados na solução aquosa de NaOH, os compósitos foram retirados, lavados e imersos em água por um período de aproximadamente 73 h para permitir a estabilização dos valores de pH, os mesmos são reportados na Tabela 13.

Os valores de pH obtidos imediatamente após a lavagem dos compósitos encontram-se fora da faixa recomendável para implantação. Estes resultados indicam que um tempo de 73 h de imersão em água foi necessário para a remoção do NaOH absorvido nos compósitos, levando à obtenção de valores de pH dentro da faixa recomendável para a implantação (DRIESSENS *et al.*, 1997).

Tabela 13. Valores de pH dos compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 após períodos de imersão de até 7 dias em soluções aquosas de NaOH.

Tempo de imersão em Na(OH) (dias)	pH após repouso em água	
	20 minutos	3 dias
1	10,60 ± 0,23	6,51 ± 0,62
3	10,53 ± 0,15	6,45 ± 0,20
5	10,86 ± 0,27	6,89 ± 0,52
7	10,22 ± 0,18	6,79 ± 0,10

A Figura 45 apresenta micrografias obtidas por MEV da superfície dos compósitos com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão na solução de NaOH de até 7 dias. A imersão dos compósitos na solução de NaOH levou à completa transformação das fases Ca(OH)_2 e DCPD em HAp, isto sem variações significativas da morfologia superficial dos mesmos. Não se observou a precipitação de uma camada de HAp devido à incapacidade da solução de fornecer íons Ca^{+2} ou PO^{-3} , necessários para o posterior crescimento dos cristais de HAp.

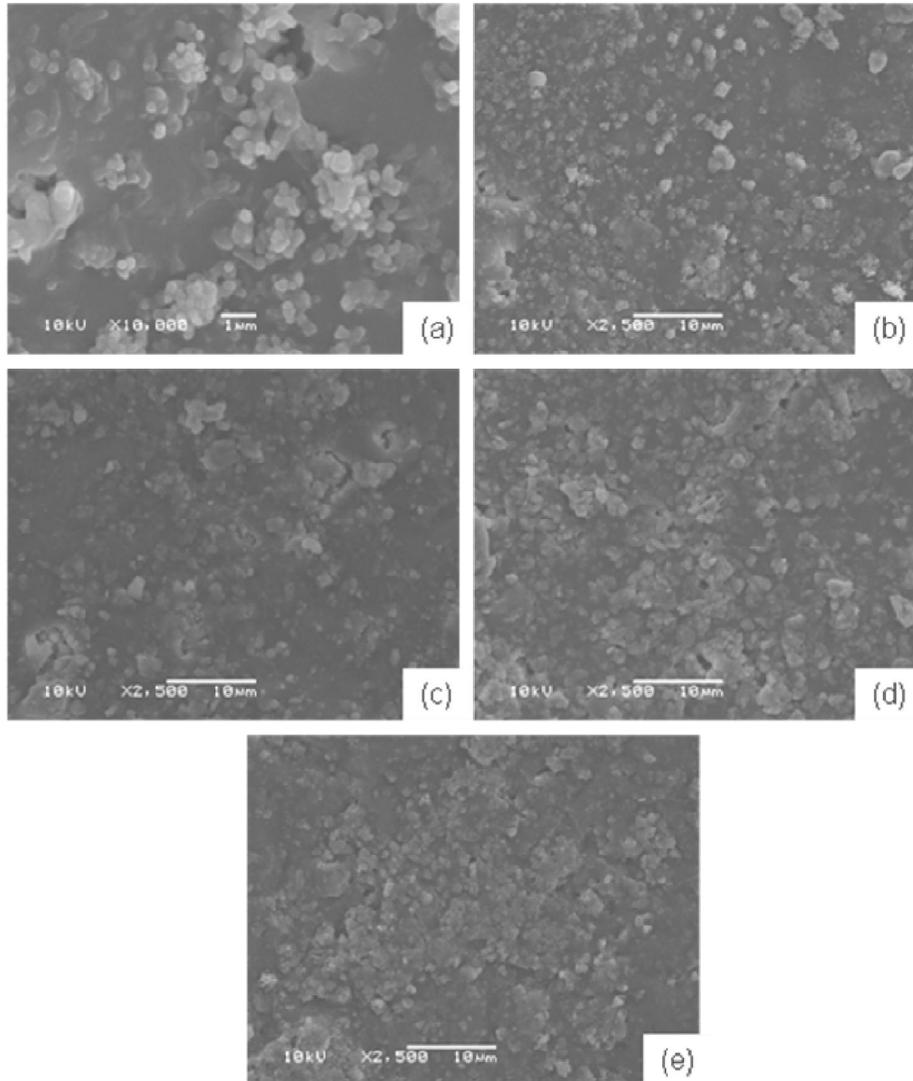


Figura 45. Micrografias obtidas por MEV da superfície do compósito com 20 %(v/v) de Ca(OH)_2 com tempos de imersão em uma solução aquosa de NaOH de (a) e (b) 1, (c) 3 (d) 5, (e) 7 dias.

As Figuras 46 e 47 apresentam micrografias da superfície e resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 %(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, para tempos de imersão na solução de NaOH de 1 e 7 dias, respectivamente.

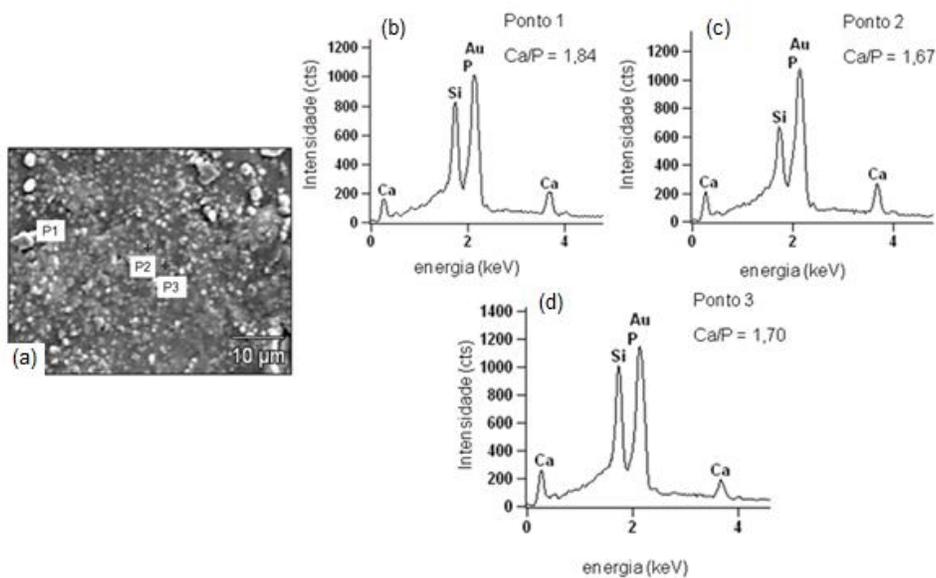


Figura 46. (a) Micrografia da superfície, (b), (c) e (d) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 %(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ com 1 dia de imersão na solução de NaOH.

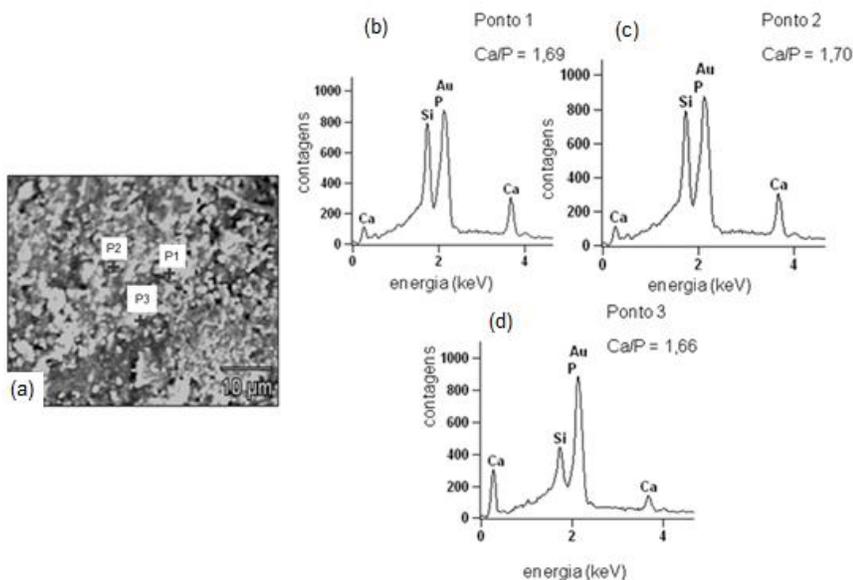


Figura 47. (a) Micrografia da superfície, (b), (c) e (d) resultados da análise elementar obtidos por EDS do compósito com 20 %(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ com 7 dias de imersão na solução de NaOH.

Os valores da relação Ca/P, próximos ao do valor da HAp (Ca/P = 1,67), obtidos para 1 dia de imersão em SBF (Figuras 46(b), (c) e (d)) indicam a conversão $\text{DCPA} \rightarrow \text{HAp}$, estes valores permanecem inalterados para 7 dias de imersão (Figuras 47(b), (c) e (d)).

Como visto no resultado anterior, a solução de NaOH tem a capacidade de efetuar a solubilização do Ca(OH)_2 . Tendo isto em conta, durante a elaboração dos compósitos, na etapa de homogeneização do sistema, foram adicionadas quantidades de uma solução aquosa de NaOH (5 M), empregando uma relação de 0,94 mol/g do compósito, de maneira a solubilizar o Ca(OH)_2 remanescente.

A Figura 48 apresenta difratogramas dos compósitos obtidos, enquanto que os valores de pH dos mesmos são reportados na Tabela 14.

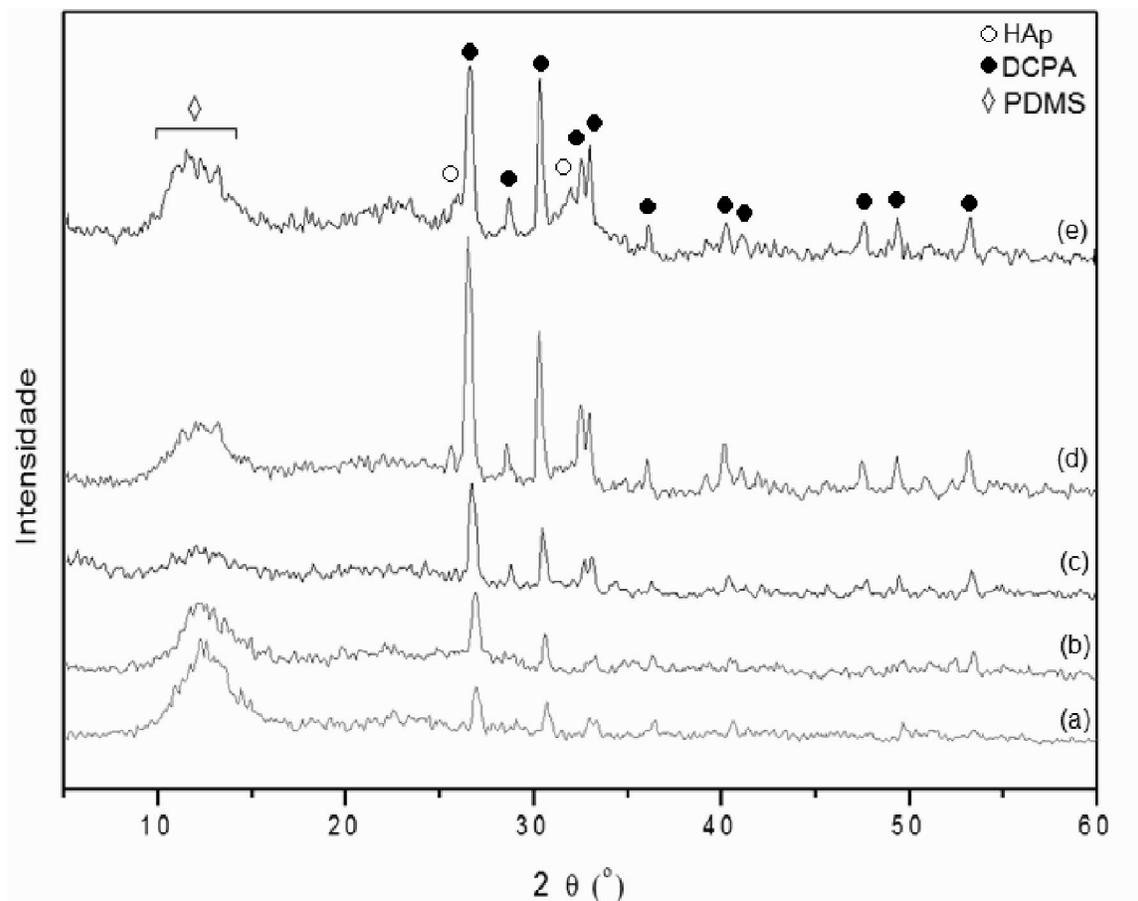


Figura 48. Difratogramas obtidos por DRX dos compósitos com (a) 10, (b) 15, (c) 20, (d) 25 e (e) 30 % (v/v) de Ca(OH)_2 , após a adição de quantidades de uma solução aquosa de NaOH.

Tabela 14. Valores de pH dos compósitos elaborados com 10-30 %(v/v) de Ca(OH)₂ como função da fração mássica de Ca(OH)₂ adicionada.

Amostra	pH
PDMS/10 %(v/v) Ca(OH) ₂	6,94 ± 0,03
PDMS/15 %(v/v) Ca(OH) ₂	7,49 ± 0,05
PDMS/20 %(v/v) Ca(OH) ₂	7,88 ± 0,26
PDMS/25 %(v/v) Ca(OH) ₂	7,79 ± 0,04
PDMS/30 % (v/v) Ca(OH) ₂	8,04 ± 0,03

Os difratogramas mostram a presença do DCPA, não foram detectados os picos correspondentes ao Ca(OH)₂, devido à solubilização na solução de NaOH e transformação em DCPA. No difratograma (e), correspondente ao compósito com 30 %(v/v) de Ca(OH)₂, foram detectados os principais picos correspondentes à HAp. Como visto na Tabela 15, apenas este compósito apresentou valores de pH básicos o suficiente para permitir a formação de HAp. Por outro lado, todos os compósitos apresentaram valores de pH dentro da faixa recomendável para materiais implantáveis (DRIESSENS *et al.*, 1997)..

5.2.5 Propriedades Mecânicas

A Figura 49 apresenta os valores da resistência mecânica à tração do PDMS e dos compósitos elaborados mediante a Síntese Reativa. A partir dos resultados apresentados foi possível constatar que os compósitos formados com a adição de 10 e 15 %(v/v) de Ca(OH)₂ não apresentaram variações significativas de resistência mecânica com relação do PDMS. Enquanto que os compósitos elaborados com 20 e 25 %(v/v) de Ca(OH)₂ apresentaram um aumento de resistência mecânica.

O compósito PDMS/25%(v/v)Ca(OH)₂ apresentou um aumento de 15 % da resistência mecânica com relação ao PDMS. Este aumento pode ser devido à formação de uma forte ligação interfacial matriz/reforço. Esta possibilita a efetiva transferência de tensão, da matriz para as cargas, levando ao aumento da resistência mecânica do compósito (FU *et al.*, 2008).

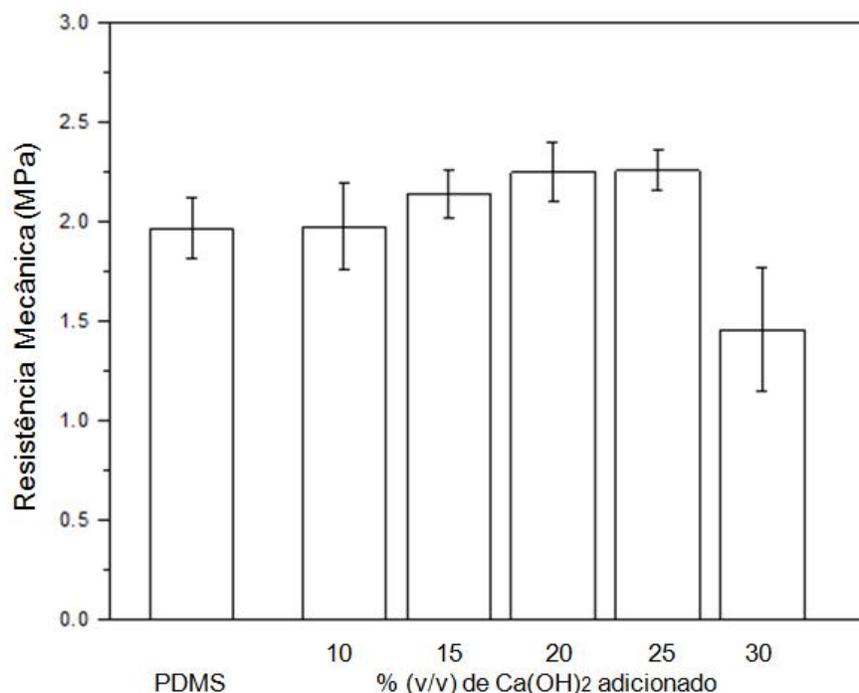


Figura 49. Resistência mecânica à tração do PDMS e dos compósitos de PDMS/Ca(OH)₂ elaborados mediante o método da Síntese Reativa.

No caso da adição de 30 % (v/v) de Ca(OH)₂, foi constatada a diminuição da resistência mecânica do compósito com relação ao PDMS. Tal diminuição pode ser devido do aumento do tamanho da partícula como consequência do aumento da fração volumétrica de Ca(OH)₂ adicionada. O aumento do tamanho da partícula diminui a área superficial disponível para a transferência de tensão da matriz para as cargas, resultando na diminuição da resistência mecânica (FU et al., 2008).

A Tabela 15 apresenta valores de deformação e de módulo elástico dos compositos.

Tabela 15. Propriedades mecânicas do PDMS e dos compósitos de PDMS/Ca(OH)₂ elaborados mediante o método da Síntese Reativa como função da fração mássica de Ca(OH)₂ adicionada.

.Amostra	Deformação (%)	Módulo Elástico (MPa)
PDMS	525,28 ± 36,97	0,63 ± 0,07
PDMS / 10 % (v/v) Ca(OH) ₂	529,12 ± 86,63	0,70 ± 0,22
PDMS / 15 % (v/v) Ca(OH) ₂	532,02 ± 58,87	0,72 ± 0,39
PDMS / 20 % (v/v) Ca(OH) ₂	529,46 ± 47, 81	0,76 ± 0,31
PDMS / 25 % (v/v) Ca(OH) ₂	515,67 ± 58,40	0,87 ± 0,10
PDMS / 30 % (v/v) Ca(OH) ₂	235,06 ± 87,38	3.23 ± 0,45

Como apresentado na Tabela 15, a deformação máxima dos compósitos manteve-se constante com relação ao PDMS, para frações entre 10 - 25 %(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Este comportamento, conjuntamente com o aumento da resistência mecânica e do módulo de elasticidade, pode ser interpretado como consequência da atuação de um mecanismo de tenacificação nos compósitos. No caso da adição de 30 %(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, observou-se a diminuição da deformação máxima dos compósitos obtidos. Isto pode ser devido à diminuição de eficiência da transferência de carga, como discutido anteriormente.

O módulo elástico dos compósitos aumentou monotonicamente com aumento das frações volumétricas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ adicionadas. As partículas de fosfato de cálcio apresentam valores de módulo de elasticidade superiores com relação ao PDMS. Sendo assim, a incorporação destas partículas ao PDMS levou à obtenção de compósitos apresentando valores de módulo de elasticidade superiores com relação ao PDMS.

A Fig. 50 apresenta micrografias obtidas por MEV da superfície de fratura dos compósitos. Nas micrografias, independente da fração volumétrica de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ adicionada, foi possível observar que apenas algumas partículas permaneceram incrustadas na matriz. A maioria delas aparece separada da matriz após a deformação. A Figura 50(c) mostra partículas aglomeradas nas quais acontece a interação partícula/partícula. Este tipo de interação não permite a transferência de tensão da matriz para as cargas, levando à baixa resistência mecânica do compósito, como observado na Figura 49.

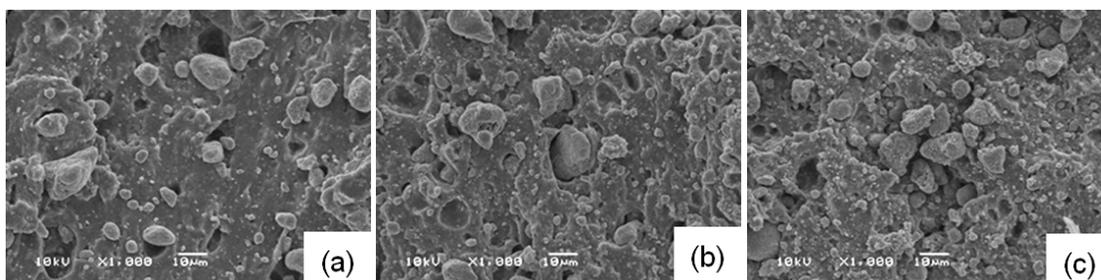


Figura 50. Micrografias obtidas por MEV da superfície de fratura dos compósitos com (a) 10 %(v/v), (b) 20 %(v/v) e (c) 30 %(v/v) de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

O *debonding* normalmente acontece devido à falta de aderência entre a partícula e a matriz (FU *et al.*, 2008). Porém, como visto na Tab 16, nos compósitos elaborados foi observado o aumento da resistência mecânica com a adição de uma apropriada fração volumétrica de Ca(OH)_2 . De fato, em compósitos com forte ligação matriz/carga a adição das partículas à matriz aumenta a sua resistência mecânica (FU *et al.*, 2008).

O *debonding* resulta em um importante mecanismo de tenacificação de polímeros carregados com partículas, pois permite a deformação das secções de cadeia do polímero entre as partículas que se foram separadas da matriz (RANADE *et al.*, 2006). Após o *debonding*, a tensão triaxial é liberada e as secções de cadeia do polímero nas vizinhanças das partículas rígidas comportam-se como se estivessem sob condições de tensão planar. O escoamento é mais favorecido nesta esta condição do que na condição triaxial, a qual favorece a fissura. Esta deformação plástica localizada pode dissipar uma grande quantidade de energia, aumentando consequentemente a tenacidade (WANG *et al.*, 2003).

A Tabela 16 apresenta os valores de dureza Shore A do PDMS e dos compósitos elaborados mediante a Síntese Reativa. Os compósitos apresentaram valores de dureza superiores com relação ao PDMS. É possível constatar o aumento monotônico da dureza dos compósitos em função do aumento da fração volumétrica de Ca(OH)_2 . Este aumento da dureza dos compósitos foi devido à formação de uma forte ligação interfacial polímero/matriz.

Tabela 16. Valores da dureza Shore A do PDMS e dos compósitos obtidos mediante a Síntese Reativa como função da fração mássica de Ca(OH)_2 adicionada.

.Amostra	Dureza Shore A
PDMS	31 ± 1
PDMS / 10 %(v/v) Ca(OH)_2	36 ± 1
PDMS / 15 %(v/v) Ca(OH)_2	40 ± 1
PDMS / 20 %(v/v) Ca(OH)_2	40 ± 1
PDMS / 25 %(v/v) Ca(OH)_2	42 ± 1
PDMS / 30 %(v/v) Ca(OH)_2	54 ± 1

5.2.6 Teste de viabilidade celular

A Figura 51 apresenta os percentuais de viabilidade celular obtidos no PDMS e no compósito PDMS/20%(v/v)Ca(OH)₂ elaborado mediante a Síntese Reativa. Foi observado que ambas amostras apresentaram um comportamento citotóxico. Porém, a viabilidade das células foi significativamente superior no compósito ($p < 0,05$) com relação ao PDMS. Tal resultado pode ser explicado da seguinte maneira, no ensaio realizado mediante o contato direto, a não adesão das células cultivadas à superfície do material ensaiado implica na morte das mesmas. É sabido que a superfície do silicone é hidrofóbica, o que não favorece o processo de adesão celular.

Sendo assim, a alta contagem de células mortas no PDMS pode ter sido causada pela não adesão celular à sua superfície hidrofóbica. Como visto nos resultados de energia de superfície apresentados anteriormente (Figura 37), a adição dos fosfatos de cálcio tende a aumentar a energia de superfície do PMDS, o que diminui o seu caráter hidrofóbico.

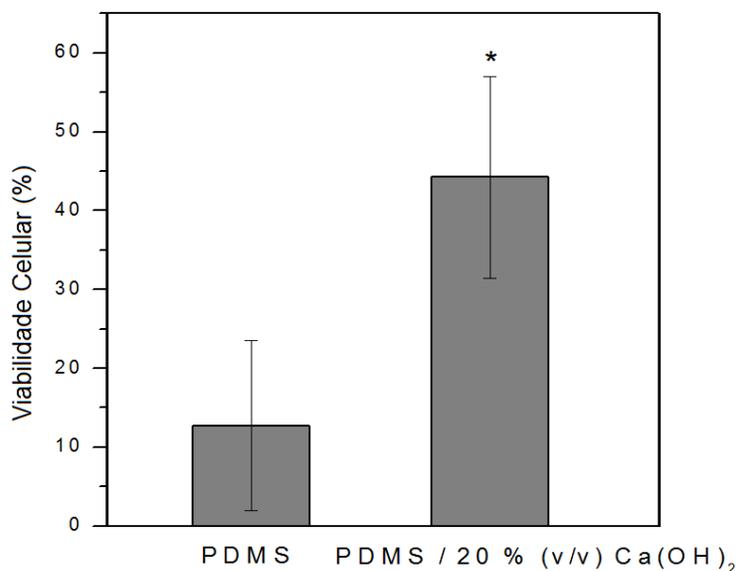


Figura 51. Resultados do teste de viabilidade celular realizado com o PDMS e com compósito PDMS/20 %(v/v) Ca(OH)₂. * $p < 0,05$ em comparação com o PDMS.

Este aumento da energia livre superficial observado no compósito pode ter favorecido a adesão celular no compósito, aumentando a contagem de células viáveis. De maneira a reduzir o efeito das propriedades de superfície do material avaliado na sua resposta biológica, ensaios serão realizados mediante o método extrativo.

Ruardy e colaboradores (RUARDY *et al.*, 1995) reportaram que a área de propagação celular do fibroblasto humano aumentou com a molhabilidade da superfície testada como substrato, o gradiente da molhabilidade das superfícies testadas iniciou com uma superfície hidrofóbica e finalizou com uma hidrofílica. Georgi e colaboradores (GEORGI, GRINNEL e GROTH, 1996) demonstraram um aumento da proliferação celular com o aumento da molhabilidade da superfície empregada como substrato. A importância relativa da molhabilidade superficial no espalhamento do fibroblasto foi estudada por Webb e colaboradores (WEBB, HLADY e TRESCO, 1998). Foi mostrado que a adesão e espalhamento celular foram significativamente maiores em superfícies hidrofílicas do que em superfícies hidrofóbicas, por outro lado, superfícies moderadamente hidrofílicas promoveram o maior nível de adesão celular.

6. CONCLUSÕES

Elaborou-se o compósito PDMS/FC mediante o Método Tradicional. Inicialmente, os fosfatos de cálcio foram sinterizados, posteriormente sofreram uma modificação superficial com soluções de TEOS, para logo serem incorporados, mediante a mistura física, ao elastômero de silicone, observando-se que:

- Tanto a reação de precipitação, para a síntese de hidroxiapatita, quanto a reação por combustão, para a síntese de α -fosfato tricálcico, permitiram a obtenção das fases desejadas com elevada cristalinidade e sem a presença outras fases como impurezas indesejadas. A síntese por precipitação da HAp permitiu a obtenção de valores superiores de área superficial específica, com relação à síntese por combustão do α -TCP. Ambos pós obtidos resultaram com um tamanho médio de partícula inferior a 10 μm e apresentaram cristalitos nanoestruturados;
- A modificação superficial dos fosfatos de cálcio com soluções de TEOS manteve a integridade das fases obtidas. Ambas partículas apresentaram-se homogeneamente distribuídas na matriz elastomérica, com uma dispersão pobre e formando aglomerados no caso do α -TCP, independentemente do tratamento superficial aplicado;
- A presença das cargas na matriz elastomérica diminuiu a entalpia de reticulação do PDMS. A modificação superficial das cargas tornou a reticulação do PDMS do compósito mais semelhante à reticulação do PDMS puro. As cargas modificadas apresentaram-se bem acopladas à matriz elastomérica;
- Foi possível diminuir os valores do ângulo de contato e aumentar os valores da energia de superfície do PDMS mediante a adição de fosfatos de cálcio não modificados. Por outro lado, a incorporação de fosfatos de cálcio modificados com soluções de TEOS aumentou os valores do ângulo de contato e diminuiu os valores da energia de superfície do PDMS. A adição de ambos fosfatos de cálcio levou ao aumento os valores da rugosidade superficial do PDMS, independentemente do tratamento superficial aplicado.

A avaliação *in vitro* do compósito PDMS/FC imerso em SBF por períodos de até 7 dias permitiu realizar as seguintes observações:

- Devido à formação de uma camada homogênea de cristais de HAp na superfície do compósito, pode-se estimar que o mesmo apresentará uma ótima bioatividade uma vez implantado *in vivo*, independentemente do fosfato de cálcio empregado como carga, ou do tratamento superficial aplicado ao mesmo.

A avaliação das propriedades mecânicas do compósito PDMS/HAp permitiu realizar as seguintes observações:

- A incorporação de partículas de HAp à matriz elastomérica aumentou a resistência mecânica à tração do PDMS. O compósito formado com a adição de 20 %(v/v) de HAp apresentou um aumento de 12 % de resistência mecânica com relação ao PDMS. A modificação superficial da HAp levou ao aumento da força interfacial entre a matriz e as partículas. O compósito formado com a adição de 20 %(v/v) de HAp, modificada com TEOS, apresentou um aumento de 22 % de resistência mecânica com relação ao PDMS;

- A incorporação de partículas de HAp modificadas à matriz elastomérica aumentou o módulo elástico do PDMS. Tanto a resistência mecânica quanto o módulo de elasticidade dos compósitos aumentaram como consequência do reforço da interface matriz/carga. As partículas de HAp modificadas permaneceram incrustadas à matriz elastomérica após a deformação.

Foi desenvolvida uma metodologia para a obtenção de compósitos PDMS/FC baseada no método biomimético, a Síntese Reativa, foram realizadas as seguintes observações:

- O método permitiu a obtenção de partículas nanoestruturadas de DCPD bem dispersas e distribuídas na matriz de PDMS. Porém, foi detectada a presença de uma fração mássica de 5 % de Ca(OH)₂ remanescente. Esta fração de Ca(OH)₂ remanescente pôde ser transformada em DCPD mediante a adição de uma solução de NaOH em quantidade adequada durante o processo de elaboração do compósito, posteriormente o mesmo resultou com valores de pH estabilizados;

- O método empregado de incorporação do fosfato de cálcio permitiu diminuir os valores do ângulo de contato e aumentar os valores da energia de superfície do PDMS. A adição dos fosfatos de cálcio levou ao aumento da rugosidade superficial do PDMS;

A avaliação *in vitro* do compósito PDMS/FC imerso em SBF ou em uma solução aquosa de NaOH, por períodos de até 7 dias, permitiu as seguintes observações:

- A etapa de imersão do compósito em SBF permitiu a completa solubilização do Ca(OH)_2 remanescente, enquanto que quantidades remanescentes de DCPD ainda foram detectadas para 7 dias de imersão. O processo de imersão em SBF permitiu a estabilização do pH do compósito. O compósito poderá apresentar uma ótima bioatividade uma vez implantado *in vivo*, como indicado pela formação de uma camada densa e homogênea de cristais de hidroxiapatita na superfície do mesmo;

- A etapa de imersão do compósito na solução aquosa de NaOH permitiu a completa solubilização do Ca(OH)_2 remanescente e do DCPD, já para 24 h de imersão. O processo de imersão por 7 dias na solução de NaOH, após um período de imersão por 72 h em água, permitiu a estabilização do pH do compósito;

- A incorporação de fosfatos de cálcio ao PDMS mediante o método da Síntese Reativa aumentou a resistência mecânica à tração do PDMS. O compósito elaborado com uma fração volumétrica de 25 %(v/v) de Ca(OH)_2 apresentou um aumento de 15 % da resistência mecânica com relação ao PDMS. O PDMS foi tenacificado e reforçado, simultaneamente, pelas partículas de fosfato de cálcio adicionadas. As partículas de fosfato de cálcio apresentaram uma forte ligação interfacial com a matriz elastomérica.

O teste de viabilidade celular realizado no compósito PDMS/FC permitiu chegar às seguintes conclusões:

- Apesar das amostras avaliadas do PDMS e do compósito terem sido caracterizadas como citotóxicas, o que acredita-se tenha sido consequência da influência das propriedades de superfície do PDMS e da escolha do método de avaliação empregado, a presença das partículas de fosfato de cálcio aumentou a adesão celular na superfície no PDMS.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar ensaios mecânicos com PDMS de grau médico para conferir os resultados obtidos com o PDMS comercial;
- Avaliar a incorporação de agentes de acoplamento a base de silanos no processo de elaboração de compósitos PDMS/FC mediante a Síntese Reativa;
- Estudar a influência do aumento da energia livre de superfície do PDMS na biocompatibilidade do material;
- Realizar ensaios de maneira a determinar a influência da modificação superficial na distribuição de cargas na superfície de partículas de fosfatos de cálcio;
- Estudar o mecanismo de acoplamento dos fosfatos de cálcio à matriz elastomérica de silicone;
- Avaliar a dispersão dos fosfatos de cálcio na matriz elastomérica de silicone mediante microscopia eletrônica de transmissão;
- Caracterizar a rugosidade dos compósitos por microscopia de força atômica;
- Avaliar as propriedades mecânicas dos compósitos mediante ensaios mecânicos tais como; resistência ao rasgamento, tenacidade à fratura, ensaio dinâmico mecânico.

REFERÊNCIAS

ABBASI, F.; MIRZADEH, H.; KATBAB, A. A. Modification of polysiloxane polymers for biomedical applications: a review, *Polymer International*, v. 50, p. 1279-1287, 2001.

ABBASI, F.; MIRZADEH, H.; KATBAB, A. A. *Polym. Int.*, v. 51, p. 882-888, 2002.

ABBASI, F.; MIRZADEH, H.; KATBAB, A.A. Modification of polysiloxane polymers for biomedical applications: a review, *Poly Int*, v. 50, p. 1279-1287, 2011

ANDERSON, J. M. Biocompatibility and Bioresponse to Biomaterials. In: ATALA, A. *et al.*, *Principles of Regenerative Medicine*. Elsevier Inc., 2008, cap. 40, p. 704-710.

AZIZ, T.; WATER, M.; JAGGER, R. *J. Dent.*, vol. 31, p. 213-216, 2003.

BASU, B.; KATTI, D.; KUMAR, A. *Advanced Biomaterials, fundamentals, processing and applications*, John Wiley and Sons, Inc., 2009.

BERMUDEZ, O.; BOLTONG, M. G.; DRIESSENS, F. C. M.; PLANELL, J. A. Development of some calcium phosphate cements from combinations of α -TCP, MCPM and CaO, *Journal of Material Science: Material in Medicine*, v. 5, p. 160-163, 1994.

BOBEAR, W. J. In: MORTON, M., *Rubber Technology*, Ed.; Van Nostrand Reinhold: New York, 1973. p. 368-406.

BOBYN, J. D.; MORTIMER, E. S.; GLASSMAN, A. H.; ENGH, C. A.; MILLER, J. E.; BROOKS, C. E. Producing and avoiding stress shielding: laboratory and clinical observations of noncemented total hip arthroplasty, *Clin. Orthop. Relat.*, v. 274, p. 79-96, 1992.

BRIAK-BEN, E.; ABDESLAM, H.; GINEBRA, M. P.; VERT, M.; BOUDEVILLE, P. Wet or dry mechanochemical synthesis of calcium phosphates? Influence of the water content on DCPD–CaO reaction kinetics, *Acta Biomater.*, v. 4, p. 378-386, 2008.

CALLISTER, W. D. *Materials Science and Engineering, An Introduction*, 7 ed. John Wiley & Sons, Inc., 2007.

CATANESE, J.; COOKE, D.; MAAS, C.; PRUITT, L. Mechanical properties of medical grade expanded polytetrafluoroethylene: the effects of intermodal distance, density,

- and displacement rate, *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 48, p. 187-192, 1999.
- CHANG, M. C.; KO, C. C.; DOUGLAS, W. H. Preparation of hydroxyapatite–gelatin nanocomposite, *Biomaterials*, v. 24, p. 2853-2862, 2003a.
- CHANG, M. C.; KO, C. C.; DOUGLAS, W.H. Conformational change of hydroxyapatite/gelatin nano composite by glutaraldehyde, *Biomaterials*, v. 24, p. 3087-3094, 2003.
- CHEN, H.; MICHAEL, A.; SHEARDOWN, H. Silicone elastomers for reduced protein adsorption, *Biomaterials*, v. 25, p. 2273–2282, 2004.
- CHEN, H.; YUANA, L.; SONGA, W.; DAN Z. Biocompatible polymer materials: Role of protein–surface interactions, *Progress in Polymer Science*, v. 33, p. 1059-1087, 2008.
- CHIBOWSKI, E. Surface free energy of a solid form contact angle hysteresis, *Adv. Colloid Interface Sci.* v. 103, p. 149, 2003.
- CIFTCIOGLU, N.; MCKAY, D. S. Overview of biomineralization and nanobacteria, *Lunar Planet. Sci.* XXXVI, 2005.
- COMELLES, J.; ESTÉVEZ, M.; MARTÍNEZ, E.; SAMITIER, J. The role of surface energy of technical polymers in serum protein adsorption and MG-63 cells adhesion, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 6, p. 44–51, 2010.
- CORAN, A. Y. In: EIRICH, F. R., *Science and Technology of Rubber*, Ed.; Academic: New York, 1978.
- COSTANTINO, P. D.; FRIEDMAN, C. D.; LANE, A. Synthetic biomaterials in facial plastic and reconstructive surgery, *Facial Plast. Surg.*, v. 9, p. 1-15, 1993.
- CULLITY, B.D. Elements of X-Ray diffraction, Addison-Wesley Publishing Company, Inc., Reading, Massachusetts, 1956.
- DALET, P.; PAPON, E.; VILLENAVE, J. J. Surface free energy of polymeric materials: relevancy of conventional contact angle data analysis, *J. Adhes. Sci. Technol.*, v. 13(8), p. 857, 1999.
- DeBOLT, L. C.; MARK, J. E. *J. Polym. Sci.*, Polym. Phys., v. 26, p. 989-995, 1988.
- DELLA VOLPE, C.; MANIGLIO, D.; BRUGNARA, M. et al. The solid surface free energy calculation I. In defense of multicomponent approach, *J. Colloid Interface Sci.*

v. 271, p. 434, 2004.

DOHERTY, P.; WILLIAMS, R. L. *Biomaterials–tissue interfaces*, v. 10, p. 525-533, 1992.

DOROZHUKIN, S. V. *Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine, Materials*, vol. 2, p. 399 – 498, 2009.

DRIESSENS, F. C. M. In: *Bioceramics Vol 8 - 4° Euro Ceramics*, 1998, Bologna/Italia. Anais. Faenza: Faenza Editrice, p. 77–83, 1997.

ERLICH, M. A.; PARHISCAR, A. N. Dorsal augmentation with silicone implants, *Facial. Plast. Surg.*, v. 19, p. 325 – 230, 2003.

ERMAN, B.; MARK, J. E. *Structures and properties of rubberlike networks*. New York: Oxford University Press; 1997.

FLORY, P. J. *Statistical Mechanics of Chain Molecules*. Interscience: New York, 1969.

FU, S. Y.; FENG, X.; LAUKE, B.; MAI, Y. W. Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate–polymer composites, *Composites: Part B*, v. 39, p. 933–961, 2008.

FUKUDA, T.; MIURA, Y.; MATSUMOTO, E. Bioinert surface to protein adsorption with higher generation of dendrimer SAMs, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 84, p. 280-284, 2011.

FURUZONO, T.; SONADA, K.; TANAKA, J. J. *Biomed. Mater. Res.*, v. 56, p. 9-16, 2001.

FURUZONO, T.; WANG, P. L.; KOREMATSU, A. *et al.* Physical and biological evaluations of sintered hydroxyapatite/silicone composite with covalent bonding for a percutaneous implant material, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v. 65B, p. 217-226, 2002.

GARBASSI, F.; MORRA, M.; OCCHIELLO, E. *Polymer Surfaces*. In: From Physics to Technology, first ed, Wiley, New York, 1998.

GEORGI, A.; GRINNEL, F.; GROTH, T. Studies on the biocompatibility of materials: fibroblast reorganisation of substratum-bound fibronectin on surfaces varying in wettability, *J. Biomed. Mater. Res.* v. 30, p. 385-391, 1996.

GINEBRA, M.P.; FERNÁNDEZ, E.; DEMAeyer E. A. P.; VERBEECK R. M. H.; BOLTONG, M. G.; GINEBRA, J.; DRIESSENS, F. C. M.; PLANELL, J. A. Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement. *Journal of Dental Research*, v. 76(4), p. 905-912, 1997.

HACKER, M. C.; MIKOS, A. G. Synthetic Polymers. In: ATALA, A.; LANZA, R.; THOMSON, J. A. e NEREM, R. M. *Principles of Regenerative Medicine*, v. 35, p. 604-635, 2007.

HALLAB, N.; BUNDY, K.; O'CONNOR, K.; MOSES, R.L.; JACOBS, J.J. Evaluation of metallic and polymeric biomaterial surface energy and surface roughness characteristics for directed cell adhesion, *Tissue Eng.*, v. 71, p. 55-71, 2001.

HASEGAWA, M.; SUDO, A.; SHIKINAMI, Y.; UCHIDA, A. Biological performance of a three-dimensional fabric as artificial cartilage in the repair of large osteochondral defects in rabbit, *Biomaterials*, v. 20, p. 1969-1975, 1999.

HENCH, L. L. Bioceramics. *J. Am. Ceram. Soc.*, v. 81, p. 1705-1728, 1998.

HENCH, L. L.; POLAK, J. M. Third-generation biomedical materials, *Science* v. 295, p. 1014-1017, 2002.

HENCH, L. L.; WILSON, J. *Introduction to bioceramics*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., p. 3-10, 1993.

HENDRIKS, J. G. E.; VAN HORN, J. R.; VAN DER MEI, H.C.; BUSSCHER, H. J. Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection. *Biomaterials*, vol. 25, p. 545-556, 2004.

HILLBORG, H.; GEDDE, U.W. Hydrophobicity recovery of polydimethylsiloxane after exposure to corona discharges, *Polymer*, v. 39(10), p. 1991-1998, 1998.

JACOBS, J. J.; SUMNER, D. R.; GALANTE, J. O. Mechanisms of bone loss associated with total hip replacement, *Orthop. Clin. North Am.*, vol. 24, p. 583-590, 1993.

JAIN, S. R.; ADIGA, K. C.; VERNEKER, V. R. P. A new approach to thermochemical calculations of condensed fuel-oxidizer mixture. *Combustion and flame*, v. 40, p. 71-79, 1981.

- JOVANOVIĆ, J.; ADNADJEVIĆ, B.; KICANOVIĆ, M.; USKOKOVIĆ, A. The influence of hydroxyapatite modification on the cross-linking of polydimethylsiloxane/HAp composites, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 39, p. 181–186, 2004.
- KATTI, K.; GUJJULA, P. Control of mechanical responses in in-situ polymer/hydroxyapatite composite for bone replacement. In: *Proceedings of the 15th ASCE Engineering Mechanism Conference*, Columbia University, New York, NY, June 2–5, 2002.
- KIM, H.T.; JEONG, O.C. PDMS surface modification using atmospheric pressure plasma, *Microelectronic Engineering*, v. 88, p. 2281-2285, 2011.
- KOHL, D. J.; BEAUCAGE, G. C. *Opinion Solid State Mats. Sci.*, v. 6, p. 183-194, 2002.
- KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*, v. 27, p. 2907–2915, 2006.
- KRISHNAN, A.; LIU, Y. H.; CHA, P.; ALLARA, D. L.; VOGLER, E. A. Scaled interfacial activity of proteins at a hydrophobic solid/aqueous–buffer interface, *J Biomed Mater Res*, v. 75A(2), p. 445-457, 2005.
- KUNZE, C.; FREIER, T.; HELWIG, E.; et al. Surface modification of tricalcium phosphate for improvement of the interfacial compatibility with biodegradable polymers, *Biomaterials*, v. 24, p. 967-974, 2003.
- LANGER, R. S.; PEPPAS, N. A. Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems, *Biomaterials*, vol. 2, p. 201-214, 1981.
- LANGSTAFF, S. D.; SAYER, M.; SMITH, T. J. N.; PUGH, S. M.; HESP, S. A. M.; THOMPSON, W. T. Resorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part I: Rational design, sample preparation and material characterization, *Biomaterials*, v. 20, p. 1727-1741, 1999.
- LEGEROS, R. Z. *Calcium phosphates in oral biology and medicine*; Karger: Basel, Switzerland, 1991; p. 201
- LEGEROS, R. Z.; LEGEROS, J. P. Dense hydroxyapatite. In: *An introduction to bioceramics*; HENCH, L. L., WILSON, J., Eds.; World Scientific: London, UK, 1993; p. 139-180.

LEICHTER, I.; BLOCH, B. Evaluation of the calcium phosphate ceramic implant by non-invasive techniques, *Biomaterials*, v. 13, p. 478-482, 1992.

LI, J.; ZHU, D.; YIN, J.; et al. Formation of nano-hydroxyapatite crystal in situ in chitosan–pectin polyelectrolyte complex network, *Materials Science and Engineering C*, v. 30, p. 795–803, 2010.

LIN, W.; ZHANG, J.; WANG, Z.; CHEN, S. Development of robust biocompatible silicone with high resistance to protein adsorption and bacterial adhesion, *Acta Biomaterialia*, vol. 7, p. 2053-2059, 2011.

LIOU, S.C.; CHEN, S.Y.; LIU, D. M. Synthesis and characterization of needlelike apatitic nanocomposite with controlled aspect ratios, *Biomaterials*, v. 24, p. 3981-3988, 2003.

LIU, T. Y.; CHEN, S. Y.; LIU, D. M.; LIOU, S. C. On the study of BSA-loaded calcium-deficient hydroxyapatite nano-carriers for controlled drug delivery, *J. Control. Release*, v. 107, p. 112-121, 2005.

LLOYD, A. W.; FARAGHER, R. G. A.; DENYER, S. P. Ocular biomaterials and implants, *Biomaterials*, v. 22; p.769-785, 2001.

LUKEVICS, E.; PUDOVA, O.; STURKOVICH, R. *Molecular Structure of Organosilicon Compounds*.Wiley: New York, 1989.

MANGANO, C.; PIATTELLI, A.; PERROTTI, V.; IEZZI, G. Dense hydroxyapatite inserted into postextraction sockets: a histologic and histomorphometric 20-year case report. *J. Periodontol.*, v. 79, p. 929-933, 2008.

MARK, J. E. In: ZEIGLER, J. M. e FEARON, F. W. G. *Silicon-Based Polymer Science. A Comprehensive Resource*, Ed.; American Chemical Society: Washington, DC, vol. 224, p. 47–68, 1990.

MARK, J. E.; ALLCOCK, H. R.; WEST, R. *Inorganic Polymers*, 2 edição, Oxford University Press, 2005.

METSGER, D.S.; DRISKELL, T.D.; PAULSRUD, J.R. Tricalcium phosphate ceramic – a resorbable bone implant: review and current status, *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 105, p. 1035-1038, 1982.

- MOBASHERPUR, I.; SOULATI HESHAJIN, M.; KAZEMZADEH, A.; ZAKERI, M. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 430, p. 330-333, 2007.
- MOLLAZADEH, S.; JAVADPOUR, J.; KHAVANDI, A. In situ synthesis and characterization of nano-size hydroxyapatite in poly(vinyl alcohol) matrix, *Ceramics International*, v. 33, p. 1579-1583, 2007.
- MONMA, H.; GOTO, M.; KOHMURA, T. Effect of additives on hydration and harness of tricalcium phosphate, *Gypsum and Lime*, v. 188, p. 11-16, 1984.
- NAKATANI, A.I.; HJELM, R.J.; GERSPACHER, M.; KRISHNAMOORTI, R. *Filled and nanocomposite polymer materials*, v. 661, 2001.
- NEUMANN, A. W.; GOOD, J. R.; HOPE, C. J.; SEJPAL, M. An equation-of-state approach to determine surface tensions of low-energy solids from contact angles, *J. Colloid Interface Sci.* v. 49(2), p. 291, 1974.
- NOH, Y.; ERWIN A.; VOGLER, B. Volumetric interpretation of protein adsorption: Mass and energy balance for albumin adsorption to particulate adsorbents with incrementally increasing hydrophilicity, *Biomaterials*, v. 27, 5801–5812, 2006.
- NOLL, W. *Chemistry and Technology of Silicones*. Academic Press., Orlando, FL, 1978.
- NURSE, R.W.; WELCH, J.B.; GUN, W. High-temperature phase equilibria in the system dicalcium silicate – tricalcium phosphate, *J. Chem. Soc.*, p. 1077-1083, 1959.
- OSTUNI, E.; GRZYBOWSKI, B. A.; MRKSICH, M.; ROBERTS, C. S.; WHITESIDES, G. M. Adsorption of proteins to hydrophobic sites on mixed self-assembled monolayers, *Langmuir*, v. 19(5), p. 1861-1872, 2003.
- OWENS, D. K.; WENDT, R.C. Estimation of the surface free energy of polymers, *J. Appl. Polym. Sci.* v. 13, p. 1741, 1969.
- PALMANTEER, K. E. Advances in silicone rubber technology. In: *Handbook of Elastomers*, Ed por BHOWMICK, A. K.; STEPHENS, H. L., DEKKER, M., New York, p. 581, 1988.
- PAUL, D. R.; MARK, J. E. Fillers for polysiloxane (“silicone”) elastomers, *Progress in*

Polymer Science, v. 35, p. 893–901, 2010.

PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 50, p. 27-46, 2000.

PINTO, S.; ALVESA, P.; MATOS, C.M.; SANTOS, A.C.; RODRIGUES, L.R.; TEIXEIRA, J.A.; GIL, M.H. Poly(dimethyl siloxane) surface modification by low pressure plasma to improve its characteristics towards biomedical applications, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 81, p. 20-26, 2010.

PLUEDDEMANN, E.P. *Silane Coupling Agents*, 2nd ed., Plenum Press, New York, 1991.

POLYZOIS, G. L. Evaluation of a new silicone elastomer for maxillofacial prostheses, *J. Prosthodont.*, v. 4(1), p. 38-41, 1995

PONSONNETA, L.; REYBIERA, K.; JAFFREZICA, N.; COMTEB, V.; LAGNEAUB, C.; LISSACB, M.; MARTELETA, C. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behavior, *Materials Science and Engineering C*, v. 23, p. 551-560, 2003.

RAJABI-ZAMANI, A. H.; BEHNAMGHDER, A.; KAZEMZADEH, A. Synthesis of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite powder via nanoalkoxide sol-gel method, *Materials Science and Engineering C*, v. 28, p. 1326-1329, 2008.

RANADE, R. A.; DING, J.; WUNDER, S. L.; BARAN, G. R. UHMWPE as interface toughening agent in glass particle filled composites, *Composites: Part A*, v. 37, p. 2017-2028, 2006.

RANGAVITTAL, N.; LANDA-CANOVAS, A. R.; GONZALES-CALBET, J. M.; VALLET-REGI, M. Structural study and stability of hydroxyapatite and betatricalcium phosphate: two important bioceramics, *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 51, p. 660-668, 2000.

RATNER, B. D. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*, Elsevier Academic Press, San Diego, 2004.

RAVAGLIOLI, A.; KRAJEWSKI, A. *Bioceramics: materials, properties, applications*. New York: Chapman & Hall, 1992.

RIGBI, Z. Reinforcement of rubber by carbon black. *Adv Polym Sci*, v. 36, p. 21–68,

1980.

RISHNA, R.; MAYER, J.; WINTER, E.; et al. Biomedical applications of polymer-composite materials a review, *Compos. Technol.*, v. 67, 1189-1224, 2001.

ROMO, T.; SCLAFANI, A. P.; SABINI, P. Use of porous high-density polyethylene in revision rhinoplasty and in the platyrrhine nose, *Aesthetic Plast Surg*, v. 22, p. 211-221, 1998.

RUARDY, T.G.; SCHAKENRAAD, J.M.; VAN DER MEI, H.C.; BUSSCHER, H.J. Adhesion and spreading of human skin fibroblasts on physicochemically characterized gradient surfaces, *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 29, p. 1415-1423, 1995.

SAHA, S.; PAL, S. Mechanical properties of bone cement: a review, *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 18, p. 435-462, 1984.

SANTOS, L. A. *Desenvolvimento de cimento de fosfato de calico reforçado por fibras para uso na area medico-odontologica*. 2002. Dissertação de Doutorado – Faculdade de Engenharia Mecanica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SASIKUMAR, S.; VIJAYARAGHAVAN, R. Solution combustion synthesis of bioceramic calcium phosphates by single and mixed fuels - A comparative study, *Ceramics International*, v. 34, p. 1373-1379, 2008.

SHANSONG, M.; MEI, T.; SHUNQING, T.; CHANGREN, Z. Improvement of blood compatibility of silicone rubber by the addition of hydroxyapatite, *Journal of Materials Science Letters*, v. 22, p. 343-344, 2003.

SHIHA, W.J.; CHENA, Y.F.; WANGB, M.C.; HONA, M.H. Crystal growth and morphology of the nano-sized hydroxyapatite powders synthesized from $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and CaCO_3 by hydrolysis method, *Journal of Crystal Growth*, v. 270, p. 211-218, 2004.

SINHA, A.; GUPTA, A. K.; PRAMANICK, A. K. et al. *Mater. Sci. Eng. C*, v. 29, p. 779, 2009.

SKRTIC, D.; ANTONUCCI, J. M.; EANES, E. D. Improved properties of amorphous calcium phosphate fillers in remineralizing resin composites, *Dent. Mater.*, v. 12, p. 295-301, 1996.

SPANOS, N.; DEIMEDE, V.; KOUTSOUKOS, P. G. Functionalization of synthetic polymers for potential use as biomaterials: selective growth of hydroxyapatite on sulphonated polysulphone, *Biomaterials*, v. 23, 947-953, 2002.

STARCH, M. S.; FIORI, J. E.; LIN, Z. Beyond rheology modification: hydrophilically modified silicone elastomers provide new benefits, *J Cosmet Sci* v. 54, p. 193-205, 2003.

SUCHANEK, W.; YOSHIMURA, M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *J. Mater. Res.*, v. 13, p. 94-117, 1998.

TAKAGI, S.; CHOW, L.C.; ISHIKAWA, K. Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements. *Biomaterials*, v. 19, p. 1593-1599, 1998.

THEIN-HAN, W. W.; SHAH, J.; MISRA, R. D. K. Superior in vitro biological response and mechanical properties of an implantable nanostructured biomaterial: Nanohydroxyapatite–silicone rubber composite, *Acta Biomaterialia*, v. 5, p. 2668-2679, 2009.

THIO, Y. S.; ARGON, A. S.; COHEN, R. E. Role of interfacial adhesion strength on toughening polypropylene with rigid particles, *Polymer*, v. 45, p. 3139-3147, 2004.

van OSS, C. J.; GOOD, R. J.; CHAUDHURY, M. K. The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in “hydrophobic interactions” between biopolymers and low energy surfaces, *J. Colloid Interface Sci.*, v. 111(2), p. 378, 1986.

VEIS, A. *Science*, v. 307, p. 1419, 2005.

VOGLER, E. A. Interfacial chemistry in biomaterials science. In: Berg J, editor. *Wettability*. New York: Marcel Dekker; 1993. p. 184–250.

VOGLER, E. A. Water and the acute biological response to surfaces. *J Biomater Sci-Polym*, v. 10(10), p. 1015–1045, 1999.

VOLKMER, T. M., BASTOS, L., CALDAS, V.; SANTOS, L. A.; Obtenção de fosfato tricálcico via síntese de combustão em solução variando a quantidade de combustível. In: 52° Congresso Brasileiro de Cerâmica, 2008, FLORIANÓPOLIS. *Anais. 52° Congresso Brasileiro de Cerâmica 2008*, p.1-12.

VOLKMER, T. M.; CALDAS, V.; SANTOS, L. A. Síntese de fosfatos de cálcio nanométricos pelo processo de combustão variando-se as proporções entre glicina e nitrato. In: 18° Congresso Brasileiro de Ciência de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2008, Porto de Galinha – PE. *Anais. 18° Congresso Brasileiro de Ciência de Engenharia e Ciência dos Materiais 2008*, p. 1-12.

VOLKMER, T. M.; BASTOS L. L.; SOUSA, V. C.; SANTOS, L. A. Obtainment of α -tricalcium phosphate by solution combustion synthesis method using urea as combustible, *Key Engineering Materials*, v. 396, p. 591-594, 2009.

VORONKOV, M. G.; MILESHKEVICH, V. P.; YUZHELEVSKII, Y. *The siloxane bond*. New York: Consultants Bureau, 1978.

WANG, P.; LI, C.; GONG, H.; JIANG, X.; WANG, H.; LI, X. Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process, *Powder Technology*, v. 203, p. 315-321, 2010.

WANG, K.; WU, J.; YE, L.; ZENG, H. Mechanical properties and toughening mechanisms of polypropylene/barium sulfate composites, *Composites: Part A*, v. 34, p. 1199–1205, 2003.

WARRICK, E. L.; PIERCE, O. R.; POLMANTEER, K. E.; SAAM, J. C. *Rubber. Chem. Technol.*, v. 52, p. 437, 1979.

WEBB, K.; HLADY, V.; TRESCO, P.A. Relative importance of surface wettability and charged functional groups on NIH 3T3 fibroblasts attachment, spreading, and cytoskeletal organisation, *J. Biomed. Mater. Res.* v. 241, p. 422-430, 1998.

WEN, J.; LI, Y.; ZUO, Y.; ZHOU, G.; LI, G.; JIANG, L.; XUB, W. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/silicone rubber composite, *Materials Letters* n. 62, p. 3307-3309, 2008.

WEN, J.; MARK, J. E. Synthesis, structure, and properties of poly(dimethylsiloxane) networks reinforced by in situ precipitated silica–titania, silica–zirconia, and silica–alumina mixed oxides, *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 58, p. 1135–45, 1995.

WETZEL, C.; SCHÖNFELDER, J.; SCHWARZ, W.; FUNK, R. Surface modification of polyurethane and silicone for therapeutic medical technics by means of electron beam, *Surface & Coatings Technology*, v. 205, p. 1618-1623, 2010.

- WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility, *Biomaterials*, n. 29, p. 5897–5909, 2009.
- WILLIAMS, D. F. Definitions in biomaterials. *Progress in Biomedical Engineering*, v. 4, 1987.
- WILLIAMS, D. F. The relationship between biomaterials and nanotechnology. *Biomaterials*, v. 29(12), p. 1737–1738, 2008.
- WILLIAMS, D. F. *The Williams dictionary of biomaterials*. Liverpool. UK: Liverpool University Press; 1999.
- XU, A. W.; MA, Y. R.; COLFEN, H. J. *Mater. Chem.*, v. 17, p. 415, 2007.
- XUE, L.; GREISLER, H. P. Biomaterials in the development and future of vascular grafts, *J. Vasc. Surg.*, v. 37, p. 472-480, 2003.
- YIN, X.; STOTT, M.J.; RUBIO, A. α - and β -tricalcium phosphate: a density functional study, *Phys. Rev. B*, v. 68, p. 205-211, 2003.
- YOKOYA, S. Studies on biocompatibility of apatite-silicone composite material and investigation of its clinical application, *Journal of the Stomatological Society*, v. 58(1), p. 32-58, 1991.
- ZENKIEWICZ, M. Comparative study on the surface free energy of a solid calculated by different methods, *Polymer Testing*, v. 26, p. 14–19, 2007.
- ZHOU, C.; Y.I., Z. Blood-compatibility of polyurethane/liquid crystal composite membranes, *Biomaterials*, v. 20, p. 2093-2099, 1999.
- ZISMAN, W. A. Relation of equilibrium contact angle to liquid and solid constitution, *ACS Adv. Chem. Ser.*, v. 43, 1961.
- TAS, A. C.; KORKUSUZ, F.; TIMUCIN, M.; et al. An investigation of the chemical synthesis and hightemperature sintering behaviour of calcium hydroxyapatite (HA) and tri-calcium phosphate (TCP) bioceramics, *J. Mater. Sci.: Mater. in Medic.*, v. 8, p. 91-96, 1997.

APÊNDICE

TRABALHOS ORIGINADOS DA TESE

TRABALHO PUBLICADO

BAREIRO, O.; SANTOS, L.A., Poly(dimethylsiloxane)/calcium phosphates composites: effect of the fillers modification on the cross-linking and surface energy. Anais do 8º International Latin American Conference on Powder Technology, Florianópolis, SC, Brasil, 2011.

RESUMO DE TRABALHO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

BAREIRO, O.; SANTOS, L.A., Poly(dimethylsiloxane)/tetraethyl orthosilicate modified hydroxyapatite composites: mechanical properties and biocompatibility evaluation. 56 º Congresso da Associação Brasileira de Cerâmica, Curitiba, PR, Brasil, 2011.

BAREIRO, O.; SANTOS, L.A., Poly(dimethylsiloxane)/tetraethyl orthosilicate modified hydroxiapatite composites: surface energy, roughness and mechanical performance. 7 º Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Natal, RN, Brasil, 2012.

BAREIRO, O.; SANTOS, L.A., A novel method to prepare poly(dimetil siloxane)/calcium phosphate composites using the biomimetic approach. 7 º Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Natal, RN, Brasil, 2012.

PATENTE

BAREIRO, O.; SANTOS, L.A., Compósito de Fosfato de Cálcio Nanoestruturado e Borracha de silicone, Processo de Produção de Compósito de Fosfato de Cálcio Nanoestruturado e Borracha de silicone e Uso de Compósito de Fosfato de Cálcio Nanoestruturado e Borracha de Silicone na Produção de Compostos Para Substituição de Tecido Orgânico.