



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0306528-6 A**



(22) Data de Depósito: 14/11/2003
(43) Data de Publicação: **11/04/2006**
(RPI 1840)

(51) Int. Cl⁷.:
A61L 27/30
C01B 33/24

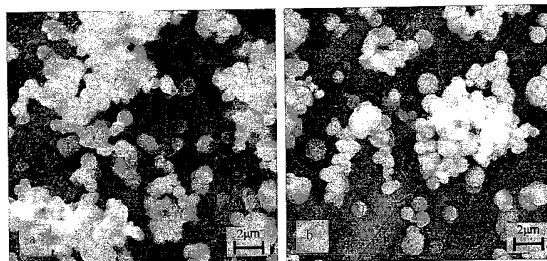
(54) Título: **PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE**

(71) Depositante(s): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (BR/DF)

(72) Inventor(es): Eliana Cristina da Silva Rigo, Anselmo Ortega Boschi

(74) Procurador: Eury Pereira Luna Filho

(57) Resumo: "PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE". Processo de recobrimento e crescimento biomimético com substituição do vidro bioativo (vidro G) por uma solução de silicato de sódio (T2 e T3) durante a etapa de nucleação, com o qual produz-se uma camada bioativa de recobrimento que se presta à revestir materiais poliméricos, metálicos e cerâmicos.



PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE.

Introdução

Dentre os diversos materiais empregados em implantologia, os metais merecem
 5 atenção especial em função de sua alta resistência mecânica. Entretanto, os metais são materiais biotoleráveis mas não capazes de ligar-se ao tecido ósseo. Por outro lado, materiais bioativos criam ligações químicas fortes com os tecidos ósseos mas não resistem a altas tensões mecânicas.

Quanto à implantação de hidroxiapatita (HÁ), esta somente é possível em
 10 situações de baixas tensões ou apenas quando presentes tensões de compressão. Esforços têm sido feitos para combinar a resistência mecânica dos metais e as propriedades biológicas da HA. Uma possibilidade para isto consiste em recobrir mecanicamente, com uma camada bioativa, o material bioinerte ou biotolerável de boa resistência, através da deposição de um
 15 material bioativo. Neste caso, a principal dificuldade consiste em obter uma boa união da camada bioativa com o substrato.

Breve descrição do estado da técnica

Nos últimos anos tem-se utilizado na obtenção de tais recobrimentos, diferentes
 20 métodos, entre os quais: íon *sputtering*, plasma spray, sol-gel, eletrólise e biomimético.

O plasma spray é o único que se utiliza comercialmente mas esse método apresenta algumas desvantagens em decorrência da alta temperatura de
 trabalho (10.000 °C), onde a HA decompõe-se em oxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$], α e β -TCP [α e β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$], e uma fase vítrea amorfa, alterando o processo de
 25 dissolução e biodegradação. Além disso a natureza da ligação HA-metal é puramente mecânica, falhando quando submetidos a cargas de tração devido à grande diferença entre os coeficientes de expansão térmica.

Recentemente Kokubo e colaboradores têm proposto um método para o
 recobrimento de substratos de natureza variada com uma camada de
 30 hidroxiapatita "biológica". O método consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética de composição iônica semelhante a do plasma sangüíneo (SBF) mais um vidro bioativo (vidro G). Após determinado

período o substrato é reimerso em uma solução 1,5 vezes mais concentrada (1,5 SBF) ^{(4), (5)}.

Objeto da invenção

5 Mediante o estudo das variáveis de processo sobre o mecanismo de crescimento biomimético, utilizando para isso a substituição do vidro bioativo (vidro G) por uma solução de silicato de sódio (T2 e T3) durante a etapa de nucleação, logrou-se inventar o processo que será descrito a seguir, com o qual produz-se uma camada bioativa de recobrimento que se presta à revestir materiais poliméricos, metálicos e cerâmicos.

10 Realização da invenção

Para o estudo do efeito das variáveis de processo, sobre o mecanismo de precipitação e crescimento de apatita pelo método biomimético, foi realizada substituição do vidro bioativo (vidro G) na primeira etapa do processo por uma solução aquosa de silicato de sódio (SS).

15 A caracterização da camada obtida pelo método biomimético foi feita através de:

- espectroscopia no infravermelho por reflectância difusa (DRIFT), identificação dos íons presentes na camada, bem como possíveis substituições iônicas.

- microscopia eletrônica de varredura (MEV), morfologia.

20 - difração de raios-X por incidência rasante (DR-X), identificação da fase presente na camada formada.

Foram empregadas soluções SBF, 1,5SBF, e solução de silicato de sódio (SS); e suas concentrações iônicas estão relacionadas na Tabela I, abaixo.

Tabela I. Concentrações iônicas das soluções empregadas (mmol.dm⁻³).

	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ²⁻	Cl ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	SiO ₃ ²⁻
SBF	142,0	5,0	2,5	1,5	4,2	147,8	1,0	0,5	-
1,5 SBF	213,0	7,5	3,8	2,3	6,3	221,7	1,5	0,75	-
SS	2,0	-	-	-	-	1,0	-	-	3,6

PLASM A	142,0	5,0	2,5	1,5	27,0	103,0	1,0	0,5	
--------------------	-------	-----	-----	-----	------	-------	-----	-----	--

As soluções foram preparadas dissolvendo-se NaCl, KCl, K_2HPO_4 , $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $NaHCO_3$, Na_2SO_4 e $(Na_2O)_{0,28} \cdot SiO_2$ de grau analítico em água destilada e deionizada. O pH de todas as soluções foram ajustadas a 7,25 à 37 °C com HCl 0,1M e tris(hidroximetil)aminometano $(CH_2OH)_3CNH_2$ 0,05M,

5 guardadas em frascos fechados de polietileno.

Reagentes	SBF (g)	1,5SBF (g)	SS (g)
$(Na_2O)_{0,28} \cdot SiO_2$			0,276
NaCl	7,996	11,994	
$NaHCO_3$	0,350	0,525	
KCl	0,224	0,336	
K_2HPO_4	0,174	0,261	
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0,305	0,458	
HCl 0,1M	10mL	15mL	até pH=6,00
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,368	0,552	
Na_2SO_4 (B19)	0,071	0,1065	
Tris 0,05M	até pH=7,25	até pH=7,25	até pH=7,25

Preparo do SBF e 1,5SBF:

Foram seguidos os seguintes procedimentos para o preparo do SBF e do 1,5SBF:

- (a) pesar as quantidades de NaCl, KCl, K_2HPO_4 , $NaHCO_3$, Na_2SO_4 e dissolver na metade do volume final de H_2O contida em um béquer;
- 10 (b) adicionar o volume indicado de HCl (0,1M) e homogeneizar;
- (c) dissolver o $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ e o $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ numa pequena quantidade de H_2O e adicionar aos poucos a solução anterior, sempre em agitação;
- (d) ajustar o pH com Tris 0,05M (pH=7,25);
- 15 (e) adicionar essa solução no balão volumétrico (1L), completar com H_2O e novamente medir o pH, caso ocorra uma alteração, ajustar utilizando HCl ou Tris.

Essa solução deverá ser guardada em frascos de polietileno com tampa, que serão etiquetados com o tipo de solução e a data de preparação.

Preparo do SS:

- 5 (a) pesar a quantidade de $(\text{Na}_2\text{O})_{0,28} \cdot \text{SiO}_2$ e dissolver na metade do volume final de H_2O contida em um béquer;
- (b) adicionar HCl 0,1M até que o pH fique próximo de 6, depois ajustar o pH com Tris (pH=7,25);
- (c) adicionar essa solução no balão volumétrico (1L), completar com H_2O e novamente medir o pH, caso ocorra uma alteração, ajustar utilizando HCl ou
- 10 Tris.

Essa solução também deverá ser guardada em frascos de polietileno com tampa.

Preparo de HCl 0,1M:

- 15 (a) adicionar 8,5 mL de HCl em um balão volumétrico de 1L com H_2O , agitar e completar o volume.

Essa solução deverá ser guardada em frascos de polietileno com tampa.

Preparo de Tris 0,05M:

- 20 (a) pesar 6,057 g de $(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$, dissolver na metade do volume final, homogeneizar e adicionar essa solução no balão volumétrico (1L), completar o volume com H_2O

Recobrimento dos substratos

Foram utilizadas duas condições distintas para avaliar o recobrimento biomimético.

Tratamento T2:

- 25 Substratos de Ti6Al4V com 3,0 cm de diâmetro foram colocados em um recipiente de polietileno e preenchidos com 25 cm^3 de solução de silicato de sódio (SS).

Tratamento T3:

- 30 Substratos de Ti6Al4V com 3,0 cm de diâmetro foram colocados em um recipiente de polietileno e preenchidos com $12,5 \text{ cm}^3$ de solução de silicato de sódio (SS) e $12,5 \text{ cm}^3$ de SBF.

Todos os substratos em seus respectivos recipientes foram colocados em

incubadora a 37 °C por 7 (sete) dias. Após o período de incubação, os substratos foram lavados por imersão em água destilada e deionizada e secos à temperatura ambiente.

Os substratos de cada tratamento (T2, T3) foram colocados cada um em frasco de polietileno com 25 cm³ de 1,5 SBF e voltaram para a incubadora por mais 6 (seis) dias à temperatura estabilizada de 37°C, renovando-se o 1,5 SBF a cada dois dias. Ao final dos tratamentos de 6 (seis) dias os substratos foram novamente lavados em água destilada e deionizada e secos à temperatura ambiente.

10 Resultados obtidos dos procedimentos de acordo com a invenção

Espectroscopia no infravermelho de reflectância difusa com transformada de Fourier (DRIFT)

Os substratos submetidos ao tratamento biomimético conforme descrito em anteriormente. Foram analisados através de espectroscopia no infravermelho por reflectância difusa (DRIFT) onde os resultados são apresentado na Figura 1, anexa.

Tanto para o tratamento T2 como T3 com reimersão em 1,5 SBF pode-se observar bandas largas, mas bem definidas nas regiões de 580 cm⁻¹ e 1050 cm⁻¹ características de vibrações PO₄³⁻, uma banda bem fraca na região de 870 cm⁻¹, uma banda fraca na região de 1410-1490 cm⁻¹ característica de CO₃²⁻, uma banda na região de 1650 cm⁻¹ característica de H₂O e uma banda larga na região de 3000-3600 cm⁻¹ características de OH⁻.

Com os resultados apresentados na Figura 1, constatamos que a solução de silicato de sódio (SS) propiciou formação de núcleos de apatita sobre o substrato nela imerso, através das ligações do tipo Si-OH, dessa forma esses núcleos puderam crescer quando reimersos na solução de 1,5SBF.

Anteriormente acreditava-se que o grupo P₂O₅ era um componente essencial para ocorrer a formação de uma camada de apatita sobre os materiais quando em contato com o meio vivo. Mas foi observado que vidros do tipo Na₂O-CaO-SiO₂ livres de P₂O₅ formavam uma camada de apatita sobre eles quando em contato com SBF.

Isso pode ser explicado da seguinte maneira: vidros do tipo Na₂O-SiO₂ ou CaO-

SiO₂ trocam seus íons Na⁺ ou Ca²⁺ por íons H₃O⁺ presentes no fluido, dessa forma, grupos Si-OH são formados sobre suas superfícies. Estes grupos Si-OH induzem a nucleação da apatita. A liberação de íons Na⁺ e Ca²⁺ acelera a nucleação da apatita pelo aumento do produto da atividade iônica. Formado o núcleo de apatita, este cresce espontaneamente consumindo os íons cálcio e fosfatos presentes no fluido, sendo que o fluido corpóreo é supersaturado com relação à apatita sob condições normais. O efeito catalítico do grupo Si-OH para a nucleação da apatita é fornecido pela observação de que até mesmo sílica gel pura preparada pelo método sol-gel forma a apatita quando em contato com SBF [6-9].

Microscopia eletrônica de varredura (MEC)

Os substratos submetidos ao tratamento biomimético conforme descrito em anteriormente. Foram analisados por microscopia eletrônica de varredura de acordo com a Figura 2, anexa. Para o tratamento T2 no curso de 7 (sete) dias e reimerso em 1,5 SBF (Figura 2 a) observa-se a formação de uma camada densa e sobre essa camada a formação de glóbulos. Essa morfologia foi similar para o substrato com o tratamento T3 no período de 7 (sete) dias (Figura 2 b).

Difração de Raios-X (DRX por incidência rasante)

Os substratos submetidos ao tratamento biomimético conforme descrito anteriormente foram analisados por difração de raios X por incidência rasante (DRX). Na Figura 3, anexa ao relatório, nos substratos com os tratamentos T2 e T3 observou-se pela técnica de DRX ocorrer apenas picos de difrações (35,3°, 38,4° e 40,4°), referentes ao substrato de Ti6Al4V e um alargamento nas regiões de 26° e 32°, pertencentes a fase hidroxiapatita (HA).

REIVINDICAÇÕES

- 1.- **PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE**, caracterizado pela formação de uma camada bioativa de revestimento que se presta a revestir materiais poliméricos, metálicos e cerâmicos, propiciando o crescimento biomimético neles quando imersos em SBF ou em contato com plasma sanguíneo *in vivo*, obtida com o banho dos substratos a recobrir em uma solução de silicato de sódio (SS).
- 5
- 2.- **PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE**, de acordo com a reivindicação 1, acima, caracterizado pela solução de silicato de sódio (SS) produzir nucleação por meio da precipitação e crescimento de apatita sobre os substratos a serem revestidos ou recobertos.
- 10
- 3.- **PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE** conforme a reivindicação 1, anterior, caracterizado pela formação de núcleos de apatita nos substratos ocorrer mediante as ligações do tipo Si-OH, que se verificam quando os substratos são reimersos na solução de 1,5 SBF ou postos em contato com plasma sanguíneo .
- 15
- 4.- **PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE**, caracterizado pela solução de silicato de sódio ser obtida, em primeiro lugar, pesando-se a quantidade de $(\text{Na}_2\text{O})_{0,28}.\text{SiO}_2$ e, a seguir, dissolvendo-se-a na metade do volume final de H_2O contida em um béquer; para logo adicionar HCl 0,1M até que o pH fique próximo de 6, e depois ajustar o pH com Tris (pH=7,25); e adicionar essa solução no balão volumétrico (1L), completando com H_2O ; em seguida novamente medir o pH, e, caso ocorra uma alteração, ajustar utilizando HCl ou Tris.
- 20
- 5.- **PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE**, caracterizado pelos substratos a revestir, segundo o processo inventado, serem colocados em incubadora a 37 °C por 7 (sete) dias; após esse período
- 25
- 30

de incubação, os substratos serem lavados por imersão em água destilada e deionizada e secos à temperatura ambiente, e após serem os substratos colocados cada um em frasco de polietileno com 25 cm³ de 1,5 SBF, retornando para a incubadora por mais 6 (seis) dias à temperatura estabilizada de 37°C, renovando-se o 1,5 SBF a cada dois dias; ao final do tratamento conduzido por 5 6 (seis) dias os substratos são novamente lavados em água destilada e deionizada e secos à temperatura ambiente.

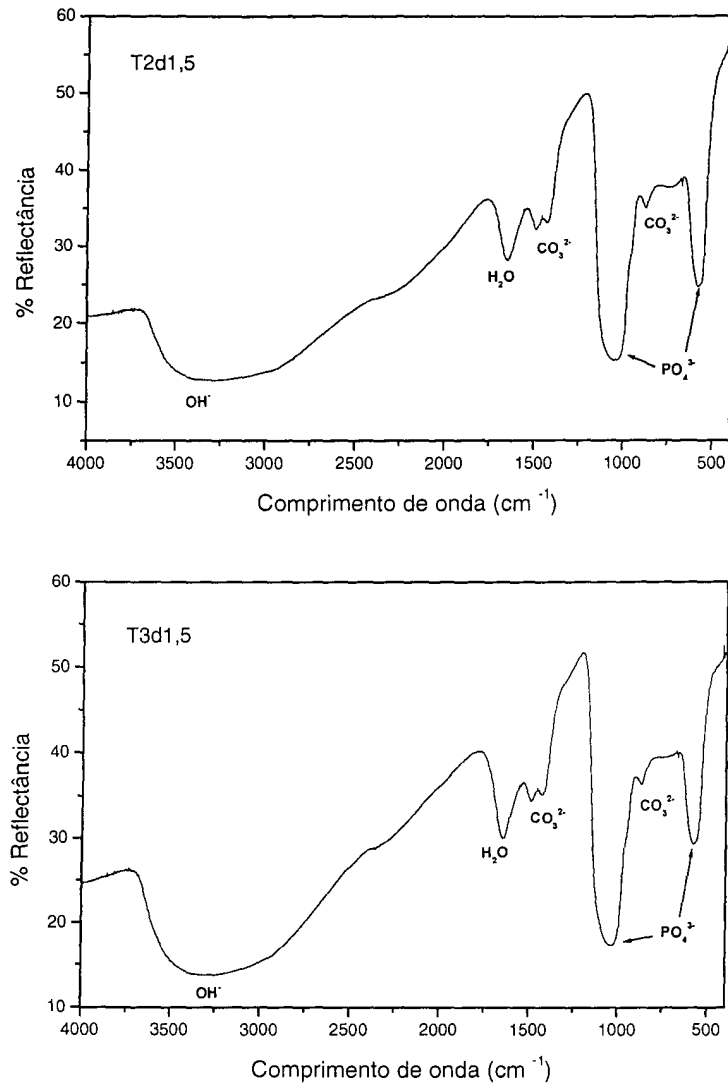


Figura 1

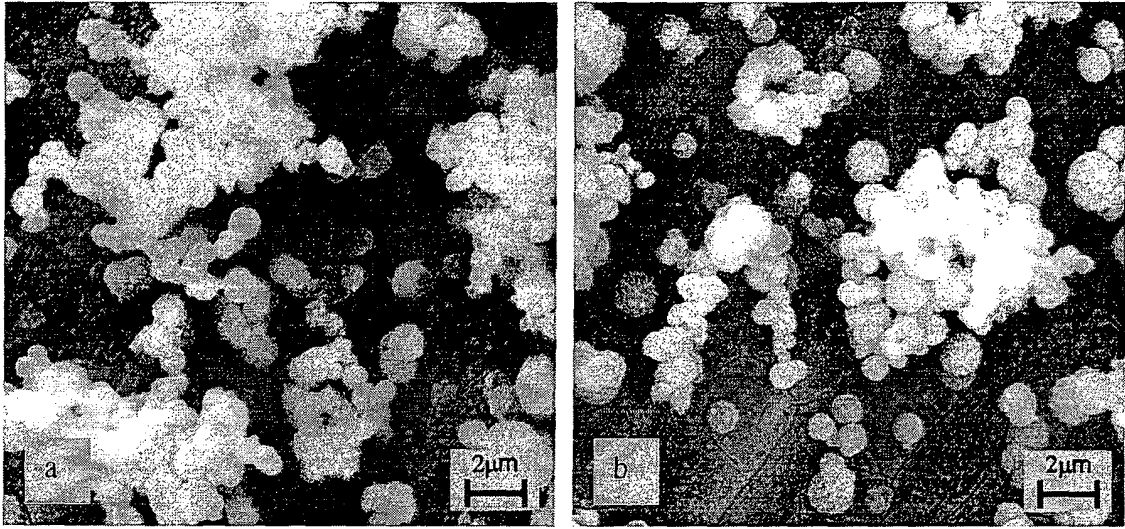


Figura 2

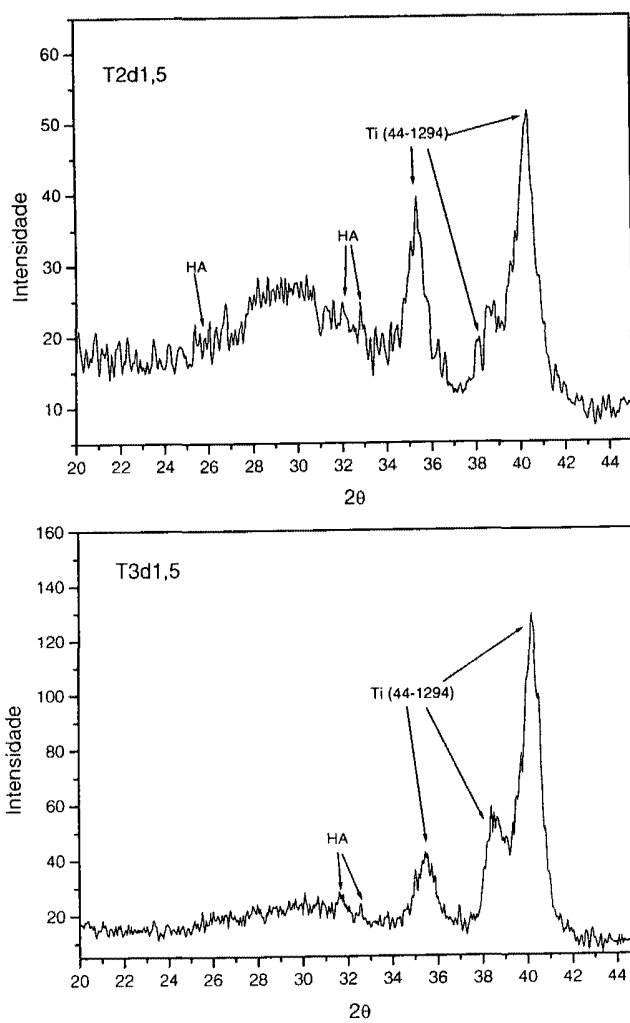


Figura 3

RESUMO

PROCESSO DE RECOBRIMENTO BIOMIMÉTICO UTILIZANDO SOLUÇÃO DE SILICATO DE SÓDIO COMO AGENTE NUCLEANTE

5 Processo de recobrimento e crescimento biomimético com substituição do vidro bioativo (vidro G) por uma solução de silicato de sódio (T2 e T3) durante a etapa de nucleação, com o qual produz-se uma camada bioativa de recobrimento que se presta à revestir materiais poliméricos, metálicos e cerâmicos