

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PLACAS PARA
FIXAÇÃO DE FRATURA ÓSSEA PRODUZIDAS COM
BIOCOMPÓSITOS DE POLI (ÁCIDO LÁTICO-CO-ÁCIDO
GLICÓLICO) (PLGA) E FOSFATOS DE CÁLCIO (Ca/P)**

Mestranda: Thaianne Maria Balestreri Knopf dos Santos
Orientador: Dr. Ing. Márcio Celso Fredel
Coorientador: Dr. Águedo Aragonés

FLORIANÓPOLIS
2018

Thaiane Maria Balestreri Knopf dos Santos

**FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PLACAS PARA
FIXAÇÃO DE FRATURA ÓSSEA PRODUZIDAS COM
BIOCOMPÓSITOS DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO-CO-ÁCIDO
GLICÓLICO) (PLGA) E FOSFATOS DE CÁLCIO (Ca/P)**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Engenharia de
Materiais da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr.-Ing. Márcio Celso
Fredel

Coorientador: Dr. Águedo Aragoes

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santos, Thaianne Maria Balestreri Knopf dos
Fabricação e caracterização de placas para fixação
de fratura óssea produzidas com biocompósitos de
poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) e
fosfatos de cálcio (Ca/P) / Thaianne Maria
Balestreri Knopf dos Santos ; orientador, Márcio
Celso Fredel, coorientador, Águedo Aragones, 2018.
137 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais,
Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

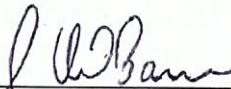
1. Ciência e Engenharia de Materiais. 2.
Biomateriais. 3. Biocompósitos. 4. PLGA. 5. Fosfatos
de cálcio. I. Fredel, Márcio Celso. II. Aragones,
Águedo. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais. IV. Título.

Thaiane Maria Balestreri Knopf dos Santos

**FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PLACAS PARA
FIXAÇÃO DE FRATURA ÓSSEA PRODUZIDAS COM
BIOCOMPÓSITOS DE POLI (ÁCIDO LÁTICO-CO-ÁCIDO
GLICÓLICO) (PLGA) E FOSFATOS DE CÁLCIO (Ca/P)**

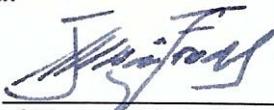
Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre e aprovada em sua forma final pelo Programa Pós-Graduação em Engenharia de Materiais

Florianópolis, 18 de outubro de 2018.



Prof. Guilherme Mariz de Oliveira Barra, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



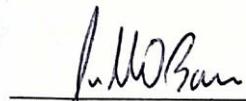
Prof. Dr. Ing. Márcio Celso Fredel
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Dr. Aguedo Aragones
Coorientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof^a Ana Paula Testa Pezzin, Dr.^a.
Universidade da região de Joinville



Prof. Guilherme Mariz de Oliveira Barra, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Aos meus pais, Carmem e Luiz, por
todo o esforço que empenharam em
minha educação, por todo carinho e
motivação na minha caminhada
pessoal e profissional. Amo vocês e
sou eternamente grata por tudo!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao Prof. Márcio Celso Fredel, Dr. Ing., pela oportunidade de trabalhar ao longo destes anos dentro do laboratório CERMAT, pelos conhecimentos e exigências feitos por ele a fim de realizar um ótimo trabalho.

Ao meu coorientador, Dr. Águedo Aragones, obrigada por todo empenho na aquisição de recursos, materiais e parcerias para a realização deste trabalho, e por toda sua calma e disponibilidade em ajudar na resolução dos problemas e condução deste trabalho.

Agradecimentos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo aporte financeiro dado a este projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, em especial para o coordenador Prof. Dr. Guilherme Mariz de Oliveira Barra e o servidor Rogério Antônio Campos por todo o suporte oferecido durante o mestrado.

À Universidade Federal de Santa Catarina e a todos os professores envolvidos no processo de aprendizagem da Pós-Graduação de Ciência e Engenharia de Materiais, pelas lições e experiências aprendidas ao longo destes anos.

Aos colaboradores dos laboratórios da UFSC: Grupo de Estudo em Materiais Poliméricos (POLIMAT), Laboratório de Caracterização Microestrutural (LCM), Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN), Laboratório Multiusuário de Espectrometria de Massas (CEBIME), Laboratório de Polímeros e Compósitos (POLICOM) e Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (VITROCER), pela realização das análises e ensaios apresentados neste trabalho.

A empresa SCiTec, Palhoça – SC, obrigada pela disponibilidade, execução e engajamento ao realizar o ensaio de flexão em 4 pontos seguindo as normas estipuladas.

Ao Instituto SENAI de Inovação em Sistemas de Manufatura e Processamento a Laser (SENAI-ISI LASER), Joinville-SC, principalmente ao colaborador Fernando Kasten, por todo empenho e auxílio no processo de microinjeção das placas produzidas neste mestrado.

Aos colegas de curso e trabalho, envolvidos com o laboratório CERMAT, agradeço pela convivência, troca de experiências e auxílio nas atividades deste mestrado, e principalmente a descontração durante o

trabalho no laboratório, que tornaram mais leves os dias caóticos e exaustivos.

Aos amigos que convivi cotidianamente durante estes anos e que foram o conforto e a alegria durante minha jornada, muito obrigada a todos, cada um possui um significado especial em minha vida. Em especial agradeço minha amiga Lara Barros Rebouças, que além das caminhadas na beira-mar, maratona de séries, me ajudou com diversas discussões sobre o trabalho, e principalmente, pela companhia.

Agradeço a minha família e amigos, que mesmo distantes, acompanharam meus trabalhos, incentivando a busca por novas conquistas, todo o apoio e carinho comigo.

Por último, ao meu pai, Luiz Knopf dos Santos, por todo o trabalho e apoio para conseguir estudar e alcançar meu sucesso profissional. Agradeço a maior incentivadora das minhas conquistas, a pessoa que sempre me deu os melhores conselhos em todas minhas decisões, minha mãe, Carmem Maria Balestreri, sem você nada seria possível, você é um exemplo de caráter e de perseverança, a motivação para seguir em frente nos meus estudos e nos meus sonhos.

Obrigada!

*“... Standing on a hill in my mountain of dreams
Telling myself it's not as hard, hard, hard as it
seems.”
Going to California – Led Zeppelin*

RESUMO

Os problemas de estrutura óssea vêm aumentando mundialmente devido ao aumento da longevidade da população mundial e a elevação de casos de fraturas, em sua maioria em acidentes automobilísticos e de trabalho. Devido a isso existem inúmeras pesquisas para o desenvolvimento de novos biomateriais com desempenho melhores na regeneração do tecido ósseo. Atualmente, os polímeros bioreabsorvíveis, com destaque para o poliláctico (PLA), têm sido utilizados na fabricação de dispositivos para recuperação de fraturas ósseas. Comercialmente, existem várias placas e parafusos para fixação de fraturas do tecido ósseo feitas com PLA, porém, seu longo tempo de degradação e falta de integração deste material com a estrutura óssea vem despertando o interesse de pesquisadores na utilização de polímeros com degradação mais rápida, como o PLGA e em conjunto com biocerâmicas, a fim de melhorar a bioatividade, formando uma integração com tecido ósseo. Com base nisso, neste trabalho foram fabricadas placas de fixação de fratura óssea com matriz polimérica PLGA e combinações de 5 e 10% em massa das biocerâmicas de β -tricálcio fosfato (β -TCP), nano-hidroxiapatita (n-HA), fosfato de cálcio com substituição iônica de magnésio (Mg-Ca/P) e de estrôncio (Sr-Ca/P) processados através de microinjeção. Os resultados mostraram que a introdução de biocerâmicas modificou as propriedades térmicas e mecânicas dos biocompósitos. Os resultados obtidos por termogravimetria (TGA) demonstraram que houve uma variação na massa da cerâmica inserida em relação aos valores esperados (5% e 10% em massa) em todos os grupos de biocompósitos. Em geral, os valores de T_g obtidos por análise dinâmico-mecânica (DMA) aumentaram em quase todos os biocompósitos e, também, ocorreu aumento do módulo de armazenamento (E') dos biocompósitos para quase todos os grupos de cerâmicas inseridas, com exceção de 5% de n-HA, indicando um incremento na rigidez dos biocompósitos. Nos ensaios de flexão, os biocompósitos obtiveram uma grande dispersão nos valores médios de carga de fratura, apresentando valores menores em relação ao PLGA puro. Houve dificuldades no processamento de biocompósitos com Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, fator que pode ser atribuído à falta de homogeneidade no processo de mistura do material.

Palavras-chave: biomateriais, biocompósitos, PLGA, fosfatos de cálcio.

ABSTRACT

The bone structure problems have been increasing worldwide due to increase in longevity of the world population and cases of fractures, mostly in automobiles and work accidents. Due to this, there are numerous researches for development of new biomaterials with better performance in regeneration of bone tissue. Currently, bioresorbable polymers, especially the polylactic acid (PLA), have been used in the manufacture of devices for recovery of bone fractures. Commercially, there are several plates and screws for fixation of fractures of bone tissue made with PLA, however, its long time of degradation and lack of integration of this material with the bone structure has aroused the interest of researchers in the use of polymers with faster degradation, such as PLGA and in conjunction with bioceramics, in order to improve bioactivity, forming an integration with bone tissue. Based on this, in this work were manufactured bone fracture fixation plates with PLGA polymer matrix and combinations of 5 and 10% by mass of β -tricalcium phosphate (β -TCP), nano-hydroxyapatite (n-HA), calcium phosphate with ionic substitution of magnesium (Mg-Ca/P) and strontium (Sr-Ca/P) processed by microinjection. The results showed that the introduction of bioceramics modified thermal and mechanical properties of biocomposites. The results obtained by thermogravimetry (TGA) showed that there was a variation in mass of the inserted ceramic in relation to expected values (5% and 10% in mass) in all groups of biocomposites. In general, the T_g values obtained by dynamic-mechanical analysis (DMA) increased in almost all the biocomposites and, also, there was an increase in the storage modulus (E') of the biocomposites for almost all groups of biocomposites, with the exception of 5% of n-HA, indicating an increase in the stiffness of biocomposites. In the flexural tests, the biocomposites obtained a great dispersion in the average values of fracture load, presenting lower values in relation to pure PLGA. There were difficulties in processing of biocomposites with Mg-Ca/P and Sr-Ca/P, a factor that can be attributed to the lack of homogeneity in material mixing process.

Keywords: biomaterials, biocomposites, PLGA, calcium phosphates.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Triângulo conceitual que ilustra a interação sinérgica das ciências biológicas e de engenharia, na concepção de biomateriais. O esquema também demonstra a abordagem multidisciplinar da ciência e tecnologia dos biomateriais.....	35
Figura 2 - Ilustrações de vários implantes e dispositivos utilizados para substituir ou melhorar a função dos tecidos doentes ou órgãos perdidos.	36
Figura 3 - Disciplinas envolvidas na ciência dos biomateriais e o caminho necessário para a fabricação de um dispositivo médico.....	42
Figura 4 - Estrutura química do poli(ácido lático-co-ácido glicólico), e os monômeros de ácido lático e ácido glicólico. Na estrutura do PLGA n representa o número de unidades de ácido lático e m o número de unidades de ácido glicólico.....	43
Figura 5 - (a) poliácido lático, (b) polilactídeo, e as formas dos estereoisômeros do lactídeo.	44
Figura 6 - Meia-vida de homopolímeros e copolímeros de PLA e PGA.	45
Figura 7 - Apresentação esquemática dos comportamentos de degradação de vários polímeros de PLGA com degradação hidrolítica.....	46
Figura 8 - Diagrama esquemático representando os fenômenos que ocorrem na superfície da HA após o implante: (1) início do procedimento de implante, onde começa a solubilização na superfície da HA, (2) continuidade da solubilização na superfície da HA, (3) é alcançado o equilíbrio entre soluções fisiológicas e a superfície modificada de HA (mudanças na composição na superfície da HA não significa que uma nova fase de DCPA ou DCPD se formou na superfície), (4) adsorção de proteínas e/ou outros compostos bioorgânicos; (5) adesão celular (6) proliferação celular; (7) início da formação do novo osso (8) novo osso formado.....	54
Figura 9 - Estruturas cristalinas do (a) α -TCP e (b) β -TCP. Grupos de PO_4^{3-} estão representados por tetraedros para maior clareza.	56
Figura 10 - Estruturas cristalinas da hidroxiapatita: de baixa temperatura a estrutura monoclínica $\text{P}2_1/\text{b}$ (a) e (b) e a estrutura hexagonal $\text{P}6_3/\text{m}$ de alta temperatura (c) e (d).....	59
Figura 11 - Organização hierárquica da estrutura do osso.	59
Figura 12 - Atuação de íons bioinorgânicos em alvos específicos, relevantes no papel como agentes terapêuticos revelados por pesquisas atuais.	63

Figura 13 - Rota metabólica de bioreabsorção dos poli(α -hidróxi ácidos) (PLA, PGA e PLGA).	67
Figura 14 - Sistemas de osteossíntese maxilofacial utilizando materiais bioreabsorvíveis disponíveis comercialmente a base de PLLA: sistemas (a) GRAND FIX®; (b) FIXORB-MX® e (c) GRAND FIX®. Placas bioreabsorvíveis craniofaciais feitas com PLGA 85:15 (PURASORB® PLG 8531) processados por injeção em (d) baixa temperatura e (e) alta temperatura, ilustrando o efeito visual causado pela degradação em: 0, 15, 30, 60 e 120 dias, da esquerda para a direita, respectivamente.	69
Figura 15 - Ciclo de moldagem.	71
Figura 16 - Fluxograma das etapas do projeto de mestrado.	73
Figura 17 - Fluxograma dos processos envolvidos nas sínteses das biocerâmicas de β -TCP, n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P.	74
Figura 18 - Aparato utilizado na síntese de solução precipitação da hidroxiapatita e dos fosfatos de cálcio com substituição iônica de magnésio e estrôncio.	78
Figura 19 - a) foto ilustrada das amostras maturadas por 48 horas; b) figura de uma das amostras após a filtragem; c) foto de uma amostra após 24 horas na estufa a 100 °C.	79
Figura 20 - Fluxograma das etapas de processamento dos biocompósitos.	79
Figura 21 - Ilustração das etapas de formação do <i>masterbatch</i> : (a) imagem da mistura de PLGA e cerâmica, vazada na placa de petri antes da secagem, (b) mistura aposta a secagem, formando o filme de <i>masterbatch</i> e, (c) <i>masterbatch</i> triturado que foi misturado aos grânulos de PLGA na microinjeção.	81
Figura 22 - Desenho mecânico da placa de biocompósito fabricada e suas dimensões.	81
Figura 23 - Difratoograma de raio-x do filme de PLGA puro.	85
Figura 24 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de β -TCP com a devida identificação de fases presentes (β -TCP - PDF 01-072-7587).	86
Figura 25 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de n-HA com a devida identificação de fases presentes (HA - PDF 00-009-0432).	87
Figura 26 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de Mg-Ca/P com a devida identificação de fases presentes (HA - PDF 01-076-0694, brushita - PDF 01-072-0713 e monetita - PDF 01-077-0128).	88
Figura 27 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de Sr-Ca/P com a devida identificação de fases presentes (HA - PDF 01-076-0694, brushita - PDF 01-011-0293 e monetita - PDF 01-070-1425).	88
Figura 28 - Espectro de FTIR do filme de PLGA puro.	89

Figura 29 - Espectro de FTIR das biocerâmicas: n-HA, β -TCP, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P.....	91
Figura 30 - Distribuição do tamanho de partícula das biocerâmicas de fosfato de cálcio, feito em triplicata: (a) β -TCP; (b) n-HA; (c) Mg-Ca/P e (d) Sr-Ca/P.....	93
Figura 31 - Micrografias das análises de MEV e TEM das biocerâmicas.....	95
Figura 32 - Eventos térmicos que ocorrem em apatitas (flourapatita, cloroapatita, hidroxiapatita, apatitas carbonatadas e bioapatita) sob aquecimento, mostrando mudança de fase (cloroapatita), perda de grupos estruturais, decomposição ou fusão (indicado por um círculo preto)....	96
Figura 33 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do β -TCP.....	97
Figura 34 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do n-HA.....	98
Figura 35 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do Mg-Ca/P.....	98
Figura 36 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do Sr-Ca/P.....	99
Figura 37 - Fotografia das placas microinjetadas com os biocompósitos e o PLGA puro.....	101
Figura 38 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA puro como matéria-prima, PLGA grânulo e, processado pela microinjeção, PLGA Placa.....	102
Figura 39 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% β -TCP e 10% β -TCP.....	103
Figura 40 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5%n-HA e 10%n-HA.....	104
Figura 41 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5%Mg-Ca/P e 10%Mg-Ca/P.....	104
Figura 42 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5%Sr-Ca/P e 10%Sr-Ca/P.....	105
Figura 43 - Curvas obtidas por DSC do PLGA puro como matéria-prima, PLGA grânulo e processado pela microinjeção, PLGA Placa.....	107
Figura 44 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% β -TCP e 10% β -TCP.....	109

Figura 45 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% n-HA e 10% n-HA.	110
Figura 46 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% Mg-Ca/P e 10% Mg-Ca/P.	110
Figura 47 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% Sr-Ca/P e 10% Sr-Ca/P.	111
Figura 48 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% β -TCP e 10% β -TCP.	112
Figura 49 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% n-HA e 10% n-HA.	113
Figura 50 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% Mg-Ca/P e 10% Mg-Ca/P.	113
Figura 51 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% Sr-Ca/P e 10% Sr-Ca/P.	114
Figura 52 - Ensaio de flexão em 4 pontos do PLGA Placa.	116
Figura 53 - Gráficos dos ensaios de flexão em 4 pontos dos biocompósitos: (a) 5% β -TCP; (b) 10% β -TCP; (c) 5% n-HA; (d) 10% n-HA; (e) 5% Mg-Ca/P; (f) 10% Mg-Ca/P; (g) 5% Sr-Ca/P e (h) 10% Sr-Ca/P.	117
Figura 54 - Gráfico obtido por meio dos resultados alcançados na análise de variância (ANOVA) com um único fator.	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicações clínicas dos biomateriais.....	40
Tabela 2 - Fatores que afetam o comportamento da degradação hidrolítica de poliésteres biodegradáveis.....	47
Tabela 3 - Valores de propriedades térmicas, mecânicas e degradação de diversos polímeros derivados de PLA e PGA.....	49
Tabela 4 - PLA, PGA, PLGA, PLDLA, PLDDLA em aplicações biomédicas.....	50
Tabela 5 - Ortofosfatos de cálcio existentes e suas principais propriedades.....	52
Tabela 6 - Composição e parâmetros estruturais de fases inorgânicas dos tecidos calcificados humanos adultos. Devido à considerável variação encontrada em amostras biológicas, são dados valores típicos nestes casos.....	55
Tabela 7 - Proporções de reagente usados na síntese de β -TCP.....	75
Tabela 8 - Proporções de reagente usados na síntese de n-HA.....	76
Tabela 9 - Proporções de reagente usados na síntese de Mg-Ca/P.....	77
Tabela 10 - Proporções de reagente usados na síntese de Sr-Ca/P.....	77
Tabela 11 - Composição em % em massa e siglas das amostras usadas no trabalho.....	80
Tabela 12 - Atribuições das bandas de absorção do infravermelho para o PLGA.....	90
Tabela 13 - Atribuições das bandas de absorção do infravermelho para as biocerâmicas de β -TCP, n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P.....	91
Tabela 14 - Dados das análises de distribuição de tamanho de partícula realizados com as biocerâmicas.....	93
Tabela 15 - Dados da análise de TGA das biocerâmicas, com as faixas de temperatura e % de perda de massa de cada evento durante o ensaio, e valores de % de massa de resíduo de cerâmica ao final do ensaio (1400 °C).....	100
Tabela 16 - Dados da análise de TGA do PLGA, na forma de grânulo e placa, e dos biocompósitos apresentando as temperaturas inicial, final e máxima de degradação, % de perda de massa e % de resíduo ao final do ensaio (600 °C).....	103
Tabela 17 - Dados do % resíduos, oriundos da curva de TG dos biocompósitos, o % resíduos calculados, levando em consideração a % de perda de massa das cerâmicas até 600 °C e % de variação entre o % de resíduos calculados e os inseridos nos biocompósitos (5 e 10%).....	106
Tabela 18 - Dados da análise de DSC do PLGA (grânulo e placa) e dos biocompósitos, com os valores de temperatura de transição vítrea (T_g),	

temperatura de fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m), temperatura de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c) e o grau de cristalinidade (α).	107
Tabela 19 - Dados da análise de DMA do PLGA Placa e dos grupos de biocompósitos com valores do módulo de armazenamento E' , inicial e a 50°C , e a temperatura de transição vítrea (T_g).	114
Tabela 20 - Dados dos ensaios de flexão em 4 pontos realizados nas placas de PLGA e biocompósitos com valores de carga máxima (N) para cada placa ensaiada, total, média e desvio padrão de cada grupo testado...	116
Tabela 21 - Dados obtidos na análise de variância com um único fator.	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α -TCP – α -tricálcio fosfato
 $\beta\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – β -tricálcio fosfato
 β -TCMP – β -tricálcio magnésio fosfato
 β -TCP – β -tricálcio fosfato
 ΔH_c – Entalpia de cristalização
 ΔH_m – Entalpia de fusão
Å – Angstrom
 μm – micrômetro
nm – nanômetro
ACP – Fosfato de cálcio amorfo, apatita
ATP – Trifosfato de adenosina
BPM – Proteínas ósseas morfogenéticas
C – Carbono
Ca – Cálcio
 CaCO_3 – Carbonato de cálcio
 CaHPO_4 – Fosfato de cálcio bibásico anidro ou hidrogenofosfato de cálcio
 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – Nitrato de cálcio tetra hidratado
CaO – Óxido de cálcio
Ca/P – Fosfatos de cálcio
 CO_2 – Dióxido de carbono
 CO_3^{2-} – Carbonato
CDHA – Hidroxiapatita deficiente de cálcio
D- – Dextrógiro
D, L- – Meso lactídeo
DCPA ou DCP – Fosfato dicálcio anidro, monetita
DCPD – Fosfato monocálcio anidro, brushita
DLS – Espalhamento de luz dinâmica
DMA – Análise dinâmico-mecânica
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DRX – Difração de raios-X
DSC – Calorimetria diferencial de varredura
 E' – Módulo de armazenamento
 E'' – Módulo de perda
EDS – Espectroscopia de energia dispersiva
ETO – Óxido de etileno
FA – Fluorapatita
FDA – Food and Drug Administration
FTIR – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

GA – Ácido glicólico
GMP - Good Manufacturing Practice
HA – Hidroxiapatita
HCl – Ácido clorídrico
H₂O – Água
HPO₄²⁻ - Hidrogenofosfato
L- – Levógiro
LA – Ácido láctico
MCPA ou MCP – Fosfato de monocálcio anidro
MCPM – Fosfato de monocálcio monohidratado
MET – Microscopia eletrônica de transmissão
MEV – Microscopia eletrônica de varredura
Mg-Ca/P – Fosfatos de cálcio com substituição iônica de magnésio
Mg(NO₃)₂.6H₂O – Nitrato de magnésio hexahidratado
(NH₄)₂HPO₄ – Fosfato de amônio dibásico
NH₄OH – Hidróxido de amônio
nHA/PLLA – Compósitos de nanohidroxiapatita e poli(L-ácido láctico)
OA – Oxiapatita, voelckerita
OH – Hidroxila
P – Fósforo
PBS – Poli(succinato de butileno)
PC – Policondensação direta
PDLA - Poli(D-ácido láctico)
PDLLA ou PLDLLA - Poli (ácido L-láctico-co-ácido D,L-láctico)
PE – Polietileno
PEO – Polióxido de etileno
PGA – Poli(ácido glicólico)
pH – Potencial hidrogeniônico
PLA – Poli(ácido láctico)
PLLA – Poli(L-ácido láctico)
PLGA – Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)
PMMA – Polimetil-metacrilato
PO₄³⁻ – Fosfato
PO₃¹⁻ – Fosfito
PO₇⁴⁻ – Pirofosfato
RNA – Ácido ribonucleico
ROP – Ring Opening Polymerization ou Polimerização por abertura do anel
Sr – Estrôncio
Sr-Ca/P – Fosfatos de cálcio dopados com estrôncio
SrHA – Hidroxiapatita dopada com estrôncio

$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ – Nitrato de estrôncio

TGA – Análise termogravimétrica

TCP – Tricálcio fosfato

TTCP – Fosfato tetracálcio, hilgenstokita

$\tan \delta$ – Tangente de perda ou módulo de amortecimento

T_c – Temperatura de cristalização

T_g – Temperatura de transição vítrea

T_m – Temperatura de fusão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	31
1.1	OBJETIVOS	33
1.1.1	Objetivo Geral.....	34
1.1.2	Objetivos Específicos.....	34
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	34
2.1	Biomateriais	35
2.2	Poli (ácido lático- <i>co</i> -ácido glicólico) (PLGA)	43
2.3	Fosfatos de Cálcio (Ca/P).....	51
2.3.1	β -Tricálcio Fosfato (β -TCP).....	55
2.3.2	Hidroxiapatita (HA)	58
2.3.3	Substituição Iônica em fosfatos de cálcio	61
2.3.3.1	Substituição iônica com estrôncio (Sr-Ca/P)	62
2.3.3.2	Substituição iônica com magnésio (Mg-Ca/P).....	64
2.4	Biocompósitos.....	65
2.5	Microinjeção	70
3	MATERIAIS E MÉTODOS	73
3.1	Sínteses dos Fosfatos de Cálcio	73
3.1.1	β -Tricálcio Fosfato	75
3.1.2	Hidroxiapatita nanoestruturada (n-HA)	75
3.1.3	Fosfatos de Cálcio dopados com Estrôncio e Magnésio	76
3.2	Fabricação dos biocompósitos	79
3.2.1	Mistura dos materiais	80
3.2.2	Microinjeção dos biomcompósitos.....	81
3.3	Caracterizações	82
3.3.1	Análise termogravimétrica (TGA)	82
3.3.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	82
3.3.3	Difração de raio-x (DRX)	82

3.3.4	Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico (DLS)	83
3.3.5	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	83
3.3.6	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	83
3.3.7	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	83
3.4	Ensaio Mecânicos.....	84
3.4.1	Análise dinâmico-mecânica (DMA).....	84
3.4.2	Flexão em 4 pontos	84
4	ANÁLISES E RESULTADOS	85
4.1	Matérias-primas	85
4.1.1	Difração de raio-x (DRX)	85
4.1.2	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	89
4.1.3	Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz (DLS).....	92
4.1.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET)	94
4.1.5	Análise termogravimétrica (TGA) das biocerâmicas.....	95
4.2	Biocompósitos	100
4.2.1	Microinjeção	100
4.2.2	Análise termogravimétrica (TGA) do PLGA e biocompósitos.....	102
4.2.3	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	106
4.2.4	Análise dinâmico-mecânica (DMA)	112
4.2.5	Flexão em 4 pontos	116
5	CONCLUSÕES	120
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	122
7	REFERÊNCIAS.....	123

1 INTRODUÇÃO

Os problemas de estrutura óssea vêm aumentando mundialmente devido ao aumento da longevidade da população mundial e a elevação de casos de fraturas, em sua maioria em acidentes automobilísticos e de trabalho. Atrelado a isso, e em busca do aumento na qualidade de vida dos seres humanos, a demanda atual nas pesquisas para produção de novos biomateriais tem se expandido, principalmente na aplicação para órgãos, tecidos humanos e implantes ortopédicos principalmente na aplicação para órgãos, tecidos humanos e implantes ortopédicos (FREITAS *et al.*, 2013; AMINI, LAURENCIN e NUKAVARAPU, 2012).

A maioria dos tecidos vivos, como os ossos, cartilagens e pele são formados por uma combinação de duas fases de materiais constituintes, uma fase de reforço, em forma de fibras ou partículas, e uma fase contínua, denominada matriz, formando um compósito. No caso dos ossos e dentes, essencialmente estes são constituídos de duas fases: uma matriz orgânica composta de colágeno (16%) e uma fase de reforço inorgânica (50-60% em massa) de cristais de hidroxiapatita, o restante da composição refere-se a cimentos bioativos (proteínas, polissacáridos, mucopolissacarídeos - 2%) e água (22%) (RAMAKRISHNA *et al.*, 2004; MURUGAN e RAMAKRISHNA, 2005).

Baseado na composição dos tecidos vivos, o desenvolvimento de biocompósitos visa produzir materiais cujas respostas físico-químicas, mecânicas e biológicas resultantes permitam que estes sejam aplicados *in vivo* mimetizando os tecidos naturais. Neste contexto, há vários estudos voltados ao desenvolvimento de biocompósitos de poli(ácido láctico) (PLA) com fosfatos de cálcio, no intuito de atrelar a biodegradabilidade do polímero com as características bioativas da parte cerâmica (LAM *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2012; SHIKINAMI, e OKUNO, 1999; SHIKINAMI e OKUNO, 2001)

Nas décadas recentes, há um crescente interesse na aplicação de polímeros biodegradáveis, tais como poliácido láctico e glicólico, devido às vantagens que estes biopolímeros oferecem na fabricação de dispositivos para regeneração óssea. Entre as vantagens destes materiais temos a degradação que ocorre de forma conjunta com formação do novo osso, não havendo a necessidade de uma segunda cirurgia para sua retirada e utilização de radiografias na avaliação pós-operatória e,

consequentemente, diminuindo as chances de contaminação e infecções no local do implante (MEYER *et al.*, 2012).

O poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), assim como os polímeros gerados pelos monômeros de ácido lático e ácido glicólico, apresenta uma grande variedade de aplicações na área biomédica devido à sua rápida taxa de degradação, os produtos gerados pela sua degradação não são tóxicos e são metabolizados por processos naturais do organismo. Entretanto, quando utilizado de forma pura esses produtos tornam o meio ácido, podendo ocasionar reações adversas ao paciente. Desta maneira, muitas pesquisas têm buscado desenvolver compósitos com estes polímeros e outros materiais, como as biocerâmicas, que amenizem os efeitos de sua degradação e possam agregar melhores propriedades físico-químicas e mecânicas aos implantes (JOSE *et al.*, 2009; REZWAN *et al.*, 2006).

Entre as biocerâmicas, os fosfatos de cálcio são destaque para aplicação na área biológica e em conjunto com polímeros, principalmente pelo uso da hidroxiapatita (HA) e o β -tricálcio fosfato (β -TCP), que desde a década de 1980 demonstraram excelência quando aplicados na remodelação e reconstrução de defeitos ósseos (OGOSE *et al.*, 2005; DOROZKHIN, 2010; KUMTA *et al.*, 2005). No entanto, os fosfatos de cálcio são frágeis, exibem baixa resistência à fadiga e reabsorção lenta (exceto β -TCP, que tem uma degradação mais rápida (AMBARD e MUENINGHOFF, 2006; SAKKA, BOUAZIZ e AYED, 2013).

Além dessas características, a estrutura dos fosfatos de cálcio possuem alta estabilidade e flexibilidade, o que permite a substituição de íons metálicos em sua estrutura pela substituição de elementos como o estrôncio (Sr) e magnésio (Mg), estudos mostraram que a incorporação de íons de Mg e Sr em fosfatos de cálcio melhorou as propriedades mecânicas dos fosfatos de cálcio (RABELO NETO, *et al.*, 2015). Pesquisas revelaram que a inserção de Sr inibe a atividade dos osteoclastos, aumenta o número de osteoblastos, auxiliando e estimulando a formação óssea. O magnésio também atua na proliferação de osteoblastos e atua conjuntamente na ruptura do crescimento ósseo, fratura óssea e osteopenia (XU *et al.*, 2018; RABELO NETO, *et al.*, 2015; BIGI *et al.*, 2007; BOANINI, GAZZANO e BIGI, 2010).

Quando inseridas conjuntamente com polímeros, as biocerâmicas intensificam a atividade de fosfatase alcalina óssea, fator importante para a diferenciação de osteoblastos, que dita o processo de regeneração no interior do organismo (IGNJATOVIĆ *et al.*, 2007). Além disso, a presença das cerâmicas fosfocálcicas modifica o pH ao redor do tecido hospedeiro neutralizando o pH na região, contribuindo na diminuição da

acidez proveniente dos produtos da degradação dos polímeros e contribuem para uma liberação mais regular dos fragmentos do polímero e, principalmente, diminuindo respostas adversas (JOSE *et al.*, 2009; REZWAN *et al.*, 2006).

No desenvolvimento de biocompósitos como dispositivos para fixação de fratura óssea, muitos estudos e produtos comerciais aprovados focaram seus estudos no uso de poli(L-ácido láctico) (PLLA), como matriz polimérica utilizando β -TCP e HA em sua composição (KANNO *et al.*, 2018; SHIKINAMI, e OKUNO, 1999; SHIKINAMI e OKUNO, 2001; SANTOS *et al.*, 2012). No entanto, algumas reações adversas foram relatadas usando PLLA como intensidade insuficiente de material, reações de corpo estranho e tardia resposta do tecido frente à degradação (KANNO *et al.*, 2018). Com base nisso, alternativas ao PLLA têm sido estudadas, como PLGA e poli(D-ácido láctico) (PDLA), devido à rápida degradação desses polímeros. Estudos demonstraram que o uso de PLGA 82:18 na fabricação de placas e parafusos não mostrou citotoxicidade, nem genotoxicidade em testes *in vitro*, indicando a segurança destes dispositivos e resistência mecânica adequados para osteossíntese em locais anatômicos sem carga (PARK *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2017).

Neste trabalho, com o objetivo de unir as características do PLGA e dos fosfatos de cálcio, foram fabricadas placas de fixação de fratura óssea com matriz polimérica PLGA e combinações de 5 e 10% em massa das biocerâmicas de β -tricálcio fosfato (β -TCP), nano-hidroxiapatita (n-HA), fosfato de cálcio com substituição iônica de magnésio (Mg-Ca/P) e de estrôncio (Sr-Ca/P) processados por microinjeção. As matérias-primas utilizadas na fabricação dos biocompósitos foram caracterizadas em termos de suas composições de fase, morfologia, distribuição de tamanho de partícula e perda de massa com o aumento da temperatura. No intuito de avaliar as propriedades dos biocompósitos, foram analisadas as características físico-químicas (estabilidade térmica, cristalinidade e temperaturas de transição) e as propriedades mecânicas (carga máxima de flexão e módulo de armazenamento). O objetivo deste trabalho foi caracterizar os materiais aplicados e avaliar a influência das propriedades térmicas e mecânicas dos biocompósitos pela inserção de biocerâmicas de fosfato de cálcio na matriz polimérica do PLGA 82:18.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi fabricar e caracterizar placas para fixação de fratura óssea composta de PLGA e 5 e 10% em massa de biocerâmicas de fosfatos de cálcio, produzidos pelo processo de microinjeção, avaliando a interação e modificações causadas nos biocompósitos pela introdução das cerâmicas na matriz polimérica.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar a síntese de fosfatos de cálcio dopados com estrôncio e magnésio, do β -tricálcio fosfato e da nanohidroxiapatita;
- Fabricar biocompósitos de PLGA com fosfatos de cálcio pelo processo de microinjeção, com concentrações mássicas de 5 e 10% de cada biocerâmica;
- Caracterizar os pós dos fosfatos cálcio pelas técnicas de difração de raio-x (DRX), espalhamento de luz dinâmica (DLS), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET);
- Caracterizar o polímero puro (PLGA) pelas técnicas de análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), FTIR e DRX;
- Analisar as modificações termofísicas causadas pelas cerâmicas nos biocompósitos pelas técnicas de TGA e DSC;
- Analisar as propriedades mecânicas e viscoelásticas dos biocompósitos através de ensaio dinâmico-mecânico (DMA) e ensaio de flexão em 4 pontos.

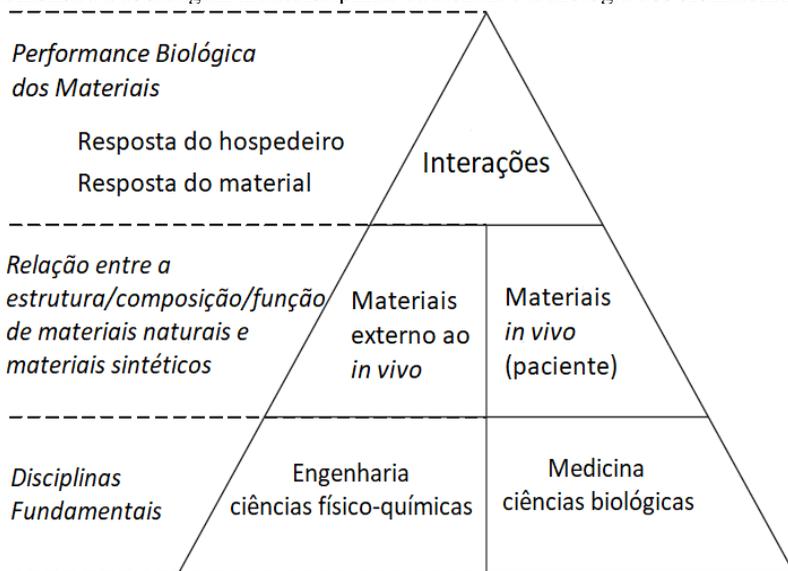
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biomateriais

Biomateriais podem ser definidos como materiais usados para fabricar dispositivos com o objetivo de substituir uma parte ou função do corpo de uma maneira segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável (PARK e LAKES, 2007). A principal diferença entre os biomateriais e as outras classes de materiais é sua capacidade de permanecer em um ambiente biológico sem danificar o ambiente e sem ser danificado nesse processo (BASU, KATTI e KUMAR, 2009).

O campo de estudo dos biomateriais abrange diversas áreas, de forma multidisciplinar, o que exige no seu desenvolvimento a interação sinérgica da ciência dos materiais, mecânica, biologia, química, medicina e odontologia (BASU, KATTI e KUMAR, 2009). Na Figura 1 mostra a interação destas áreas no desenvolvimento, performance e propriedades de um biomaterial.

Figura 1 - Triângulo conceitual que ilustra a interação sinérgica das ciências biológicas e de engenharia, na concepção de biomateriais. O esquema também demonstra a abordagem multidisciplinar da ciência e tecnologia dos biomateriais.



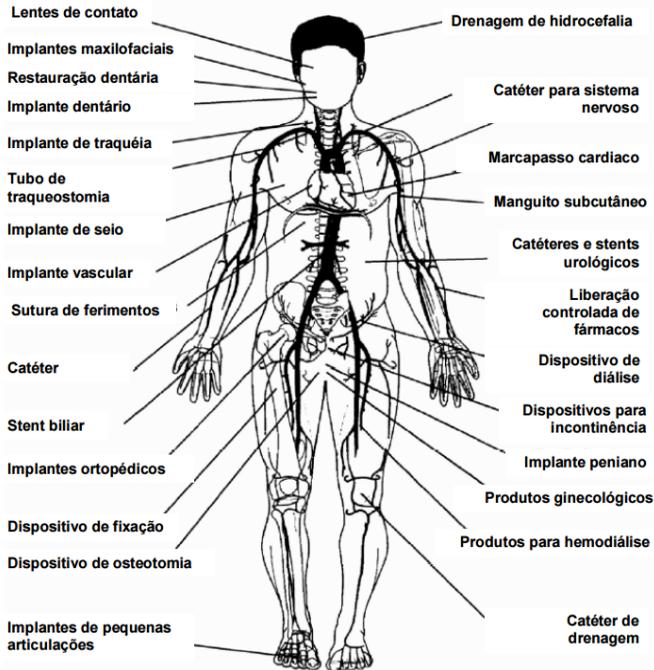
Fonte: Adaptado de BLACK, 2005, p. 11.

Os biomateriais podem ser formados por apenas uma substância ou por duas ou mais substâncias, sendo estas ou de natureza sintética ou natural. Quando implantados no corpo humano estes materiais podem ser

empregados de forma temporária no intuito de melhorar ou substituir inteiramente ou parcialmente tecidos e órgãos, ou podem ser desenvolvidos de forma permanente para substituir tecidos perdidos ou danificados (PARK, 1984). Os biomateriais podem atuar no organismo de forma protésica, diagnóstica ou terapêutica.

Para dispositivos de aplicações em tecidos moles, os materiais se propõem a aumentar ou redefinir o tecido, como o uso de implantes mamários e faciais. Em aplicações ortopédicas e odontológicas, os materiais são componentes de implantes estruturais, utilizando próteses de juntas e implantes de raiz de dentes, ou são usados para reparar defeitos ósseos quando aplicados como parafusos e pinos inseridos no osso. Os exemplos comuns de biomateriais incluem suturas, enchimentos dentários, agulhas, cateteres, placas ósseas, entre outros, como pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 - Ilustrações de vários implantes e dispositivos utilizados para substituir ou melhorar a função dos tecidos doentes ou órgãos perdidos.



Fonte: FERNANDES, 2009, adaptado de HILL, 1998.

Segundo Park e Lakes (2007), o sucesso de um biomaterial ou um implante é altamente dependente de três fatores: as propriedades e

biocompatibilidade do material, o estado de saúde do paciente, bem como a competência do cirurgião que implanta e monitora progresso da recuperação do paciente.

Idealmente, os biomateriais não devem induzir qualquer alteração ou provocar uma reação indesejada nos tecidos vizinhos ou distantes. Um aspecto importante da resposta do hospedeiro envolve a formação de uma ligação estrutural e biológica entre o material e os tecidos do hospedeiro. Quando a biocompatibilidade é baixa, os materiais podem causar reações teciduais sistêmicas ou locais. As respostas sistêmicas podem ser tóxicas ou alérgicas e desencadeadas pelos produtos de corrosão metálica e degradação do polímero, liberação de micropartículas dos materiais e presença de contaminantes (BASU, KATTI e KUMAR, 2009).

As interações entre o biomaterial e o organismo são inevitáveis, assim, faz-se necessário o uso de materiais que interajam com os tecidos de forma mais favorável ao hospedeiro. Devido a isso, ao se aplicar um biomaterial a um tecido vivo uma série de propriedades devem ser consideradas, pois estas propriedades somadas ao ambiente mecânico influenciam na velocidade e extensão do processo de reabsorção do material, assim como na indicação ou restrição da sua aplicação clínica. As principais características que influenciam na escolha do biomaterial são:

- a) *Biocompatibilidade*: é capacidade do material de rapidamente se integrar ao organismo sem ocasionar reações inflamatórias;
- b) *Biofuncionalidade*: a habilidade de um dispositivo funcionar com resposta apropriada em uma aplicação específica;
- c) *Propriedades físico-químicas*: são encarregadas pela integração dos biomateriais ao tecido. As propriedades físicas são específicas à área de superfície ou formato (bloco, partícula), à porosidade (denso, macro ou microporoso) e à cristalinidade (cristalino, semicristalino ou amorfo) do produto. As propriedades químicas incluem a composição química, a substituição iônica e as impurezas dos elementos (PATERNO JUNIOR, 2015).

Os biomateriais podem ser classificados de três formas: segundo sua função, seu mecanismo de ação e sua origem.

Quando analisamos os biomateriais segundo sua origem, os materiais são categorizados como: enxertos autógenos, quando o material é obtido do próprio paciente; Aloenxerto ou enxertos homogêneos, o material é proveniente de um doador da mesma espécie (exemplo a

doação de um órgão humano); xenoenxerto ou enxerto heterogêneo, provém de doadores de outra espécie (como exemplo osso de origem bovina); e por último, os aloplásticos são materiais de origem sintética (DIMOVA *et al.*, 2016; BEN-NISSAN, 2012).

Considerando como critério de classificação a interação do biomaterial com o tecido adjunto separamos os biomateriais em:

- a) *Biotoleráveis*: são materiais tolerados pelo organismo que não estabelecem uma osseointegração verdadeira (não são capazes de se ligarem, assim ocorre à formação de uma camada fibrosa, isolando o material dos tecidos adjacentes). Esta camada é formada pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros, por parte do material implantado. A espessura da camada define a tolerância do tecido ao material, dessa forma quanto mais espessa a camada de tecido fibrosa produzida, menor será a tolerância do tecido em relação ao material (OLIVEIRA, 2003);
- b) *Bioinertes*: são materiais também tolerados pelo organismo, mas com a formação de envoltório fibroso de espessura mínima ou praticamente inexistente nos tecidos do hospedeiro. Esta pequena ou inexistente camada fibrosa deve-se as quantidades baixas de produtos químicos liberados pelo material implantado (OLIVEIRA, 2003);
- c) *Bioreativos*: são materiais em cuja superfície ocorre à formação de uma fina e aderente camada de óxido. Quando esta camada passa por um tratamento de ativação de superfície desses óxidos o material adquire bioatividade com o meio (ALVES, 2011);
- d) *Bioativo*: são materiais que possuem a capacidade de interagir com os tecidos vizinhos e estabelecer osseointegração direta provocando reações que favoreçam o desenvolvimento de processos como: fixação de implantes, biocolonização, regeneração de tecidos anfitriões ou biodegradação do material (PEREIRA, VASCONCELOS e ORÉFICE, 1999)
- e) *Bioabsorvíveis*: são materiais que apresentam degradação através da diminuição de tamanho e que são reabsorvidos *in vivo*. Estes materiais são eliminados por rotas metabólicas do organismo, sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Os produtos

gerados por estas reações são atóxicos e são eliminados normalmente pelo organismo do paciente, e sua eliminação é total sem efeitos colaterais residuais. Como exemplo de materiais bioabsorvíveis temos os poli (α -hidróxi ácidos), como PLA e poli(ácido glicólico) PGA (BARBANTI, ZAVAGLIA e DUEK, 2005; SOUZA, 2011);

- f) *Bioabsorvíveis*: são materiais se dissolvem em fluidos corpóreos sem qualquer clivagem da cadeia macromolecular ou diminuição de massa molecular, como é o caso da lenta dissolução de implantes solúveis em fluidos orgânicos. Quando um material bioabsorvível tem suas macromoléculas excretadas pelo organismo este classifica-se também como bioreabsorvível (BARBANTI, ZAVAGLIA e DUEK, 2005). Como exemplo temos o polióxido de etileno (PEO).

Ao observarmos o biomateriais do ponto de vista dos mecanismos de ação, as propriedades biológicas do material, teremos os seguintes conjuntos:

- a) *Osteoindutores*: são materiais que possuem a habilidade de induzir células mesenquimais indiferenciadas a se diferenciarem em osteoblastos (células jovens formadora dos ossos) (SANADA *et al.*, 2003) devido à presença de proteínas ósseas morfogenéticas (BPM) entre seus componentes;
- b) *Osteocondutores*: são materiais que facilitam a atuação das células ósseas no preenchimento de todos os espaços entre as extremidades ósseas, atuando também, como um espaçador, reduzindo a possibilidade de os tecidos crescerem ao redor do local do enxerto;
- c) *Osteogênico*: é a capacidade de estimular a formação do osso diretamente a partir de osteoblastos, feito geralmente por materiais orgânicos. Assim, o crescimento ósseo se dá em função das células viáveis, transferidas dentro do osso;
- d) *Osteopromotores*: caracterizado pelo uso de meios físicos que promovem o isolamento anatômico de um local (através de membranas e filtros), separando células com características distintas, como fibroblastos (células do tecido conjuntivo formadoras dos tecidos fibrosos do organismo) e osteoblastos. Na regeneração tecidual guiada

os materiais osteopromotores buscam impedir que fibroblastos proliferem para dentro da região do defeito ósseo em detrimento dos osteoblastos que proliferam mais lentamente (SANADA *et al.*, 2003).

Os biomateriais podem ser fabricados utilizando metais, cerâmicas, polímeros e compósitos, a seleção de qual classe de material ou a mistura destas serão feitas, dependerá da aplicação do biomaterial, como mostrado na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

Tabela 1 - Aplicações clínicas dos biomateriais.

Biomaterial	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
Polímeros			
Poliétileno (PE)	Elasticidade, fácil fabricação, baixa densidade	Baixa resistência mecânica, degradação dependente do tempo	Suturas, artérias, veias, maxilofacial, cimento ósseo, tendão artificial, oftalmologia
Politetrafluoretileno (PTFE)			
Poliéster			
Poliuretano (PU)			
Polimetil-metacrilato (PMMA)			
Silicone			
Metais e ligas			
Aço inoxidável	Alta força de tensão, alta resistência ao desgaste, energia de deformação alta	Baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, perda das propriedades mecânicas com tecidos conectivos moles, baixa elasticidade, alta densidade	Fixação ortopédica (parafusos, pinos, placas, fios, hastes), implantes dentários artificiais
Liga de titânio			
Liga de cobalto-cromo			
Cerâmicas e vidros			
Alumina	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia química, alta resistência a compressão	Baixa força de tensão, baixa resistência mecânica, baixa elasticidade, alta densidade	Ossos, juntas, dentes, válvulas, tendões, vasos sanguíneos e traqueias artificiais
Zircônia			
Carbônio			
Fosfatos de cálcio			
Porcelana			
Vidros bioativos			
Compósitos			
Fibra de carbono – resina termofixa	Boa biocompatibilidade, resistência a corrosão, alta força de tensão	Material de fabricação incompatível	Válvula cardíaca artificial, implantes de juntas de joelho
Fibra de carbono – resina termoplástica			
Carbono-carbono			
Fosfato de cálcio-colágeno			

Fonte: KAWACHI *et al.*, 2000.

O processo de desenvolvimento de um biomaterial inicia-se com a identificação da necessidade de um biomaterial para uma dada aplicação, podendo ser o tratamento de uma doença, a substituição de um órgão ou o uso como cosmético. Após isso, começa o projeto e síntese das matérias-primas, que passam por diversos testes (quanto à composição, estrutura, propriedades mecânicas, toxicologia, biorreação ao material, bioestabilidade) e, com base nos resultados é feita a escolha dos materiais que apresentarem propriedades apropriadas. A seguir realiza-se a fabricação, seguida da esterilização e embalagem do biomaterial que é, então, encaminhado para testes mais detalhados de toxicologia,

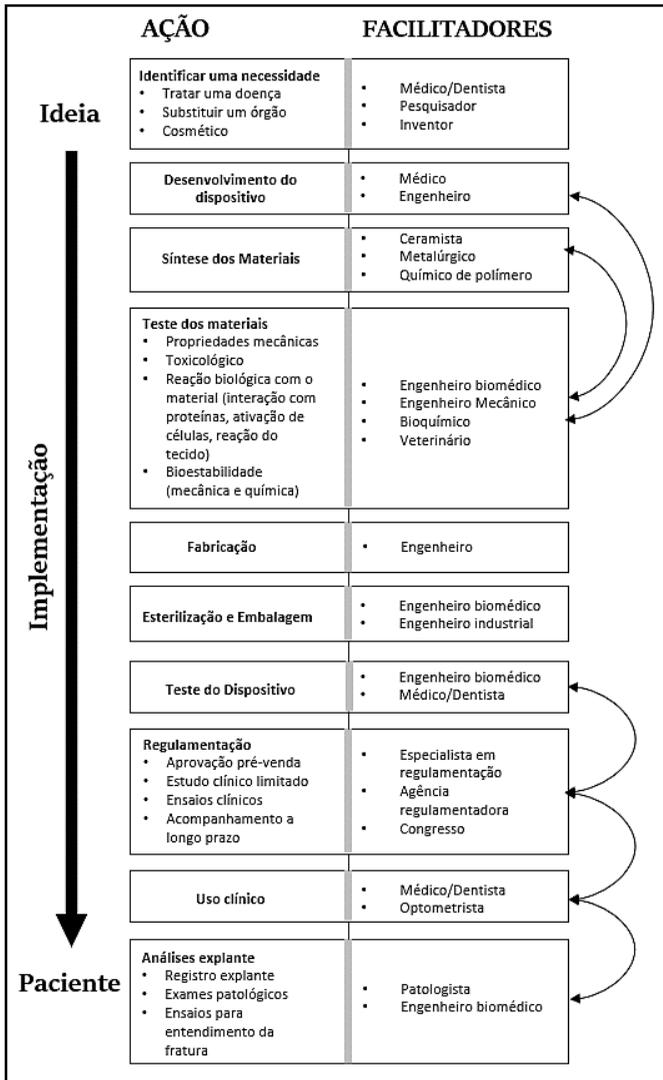
biointeração *in vitro* e *in vivo*. Em seguida, é necessária a pré-aprovação no mercado seguindo os aspectos regulatórios, através de estudos clínicos iniciais, à triagem clínica e ao acompanhamento de longo prazo. A elaboração do dispositivo continua após aprovação e uso clínico do biomaterial, com a análise e registro de explantes extraídos de pacientes visando o entendimento de eventuais falhas para sua correção (PIRES, BIERHALZ e MORAES, 2015). A sequência de desenvolvimento de um biomaterial e os agentes envolvidos nesse processo pode ser vista na Figura 3.

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas e aplicadas para avaliar a adequação de um novo material em aplicações biomédicas, no intuito de simular o desempenho do material após sua inserção no corpo humano. Essas técnicas compreendem testes *in vitro* e testes *in vivo*, esses testes podem fornecer informações úteis a respeito da interação do material com o ambiente fisiológico e dos possíveis riscos associados à sua aplicação, permitindo assim, identificar os materiais que não apresentam características adequadas à utilização em estudos clínicos (NOZAKI *et al.*, 2012).

Os testes *in vitro* são utilizados para avaliar os materiais e identificar aqueles que apresentam comportamento citotóxico, selecionando apenas os mais adequados para os testes *in vivo*, minimizando assim o número de animais experimentais. Normalmente são realizados testes de bioatividade em líquido corporal simulado (SBF) e estudos em cultura de células. Os estudos em cultura de células normalmente compreendem testes de citotoxicidade, medições bioquímicas de atividade celular, avaliação de proliferação, crescimento e morfologia celular.

Passada a fase dos testes *in vitro*, se o material apresentar resultados positivos, ou seja, não ocorrerem reações tóxicas e/ou lesivas, os biomateriais são então submetidos aos testes *in vivo* embasados em normas técnicas e éticas. Os testes *in vivo* são realizados com animais, no intuito de prever se o dispositivo apresenta risco potencial para os pacientes. Para isto, os animais devem ser selecionados de acordo com a aplicação do dispositivo, considerando-se a anatomia e a bioquímica semelhante à situação de aplicação humana (NOZAKI *et al.*, 2012). Além disso, o protocolo de ensaio deve ser determinado com base em leis que regem o uso de animais em laboratório, garantindo assim que os mesmos sejam tratados eticamente (RATNER *et al.*, 2004).

Figura 3 - Disciplinas envolvidas na ciência dos biomateriais e o caminho necessário para a fabricação de um dispositivo médico.



Fonte: adaptado de RATNER *et al.*, 2004.

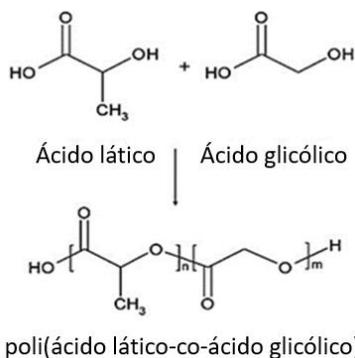
A parte final de acompanhamento do biomaterial se dá pela avaliação de explantes, ou seja, dispositivos que são retirados de pacientes por apresentarem alguma disfunção, por exemplo, a soltura mecânica,

formação de calos ósseos, inflamações, que alteram a funcionalidade do implante no local. Estes materiais são avaliados por engenheiros e patologistas no intuito de compreender as possíveis causas da falha do biomaterial, e corrigi-las para aplicações futuras.

2.2 Poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA)

O poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA), também denominado como poli(lactídeo-co-glicolídeo) e chamado de poliglactina, é um copolímero linear de cadeia saturada que pode ser preparado com diferentes proporções dos monômeros ácido lático (LA) e o ácido glicólico (GA) (Figura 4) ligados por ligações éster (GENTILE *et al.*, 2014).

Figura 4 - Estrutura química do poli(ácido lático-co-ácido glicólico), e os monômeros de ácido lático e ácido glicólico. Na estrutura do PLGA n representa o número de unidades de ácido lático e m o número de unidades de ácido glicólico.



FONTE: adaptado de GENTILE, *et al.*, 2014.

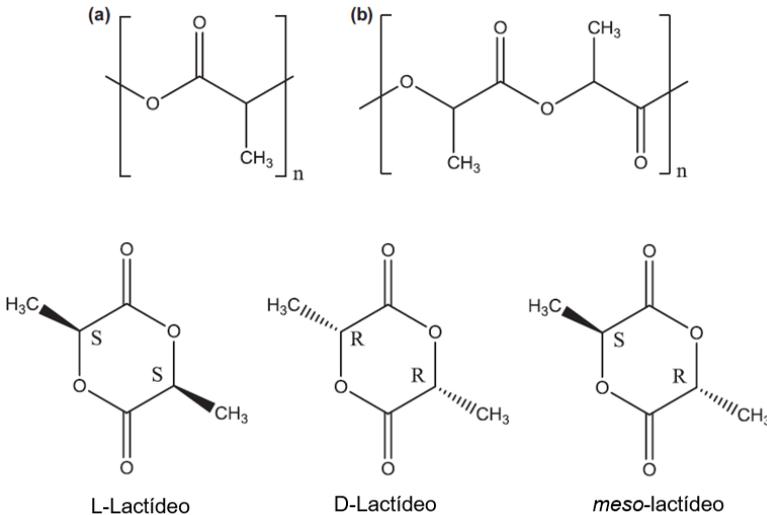
A variação na proporção dos monômeros utilizada na polimerização do PLGA possibilita a formação de diversos copolímeros, denotando um caráter versátil ao PLGA, e tornando-o útil a uma grande gama de aplicações (PELEIAS JUNIOR, 2013).

Ambos os monômeros pertencem a classe dos poli(α -éster) que são polímeros termoplásticos com ligações éster alifáticas hidroliticamente instáveis em sua estrutura. Embora todos os poliésteres sejam teoricamente degradáveis, sendo a esterificação um processo quimicamente reversível, apenas os poliésteres alifáticos com cadeias alifáticas razoavelmente curtas entre as ligações ésteres podem degradar-se ao longo do período necessário para a maioria das aplicações

biomédicas. A degradação de biomateriais poliméricos envolve a clivagem de suas ligações de forma hidrolítica ou enzimática, e conforme este modo de degradação estes polímeros são classificados (NAIR e LAURENCIN, 2007). A maioria dos polímeros sofrem naturalmente a degradação enzimática, entretanto, os poli(α -hidroxiéster) degradam-se hidroliticamente, devido aos grupos funcionais presentes nesses polímeros, que são suscetíveis à hidrólise como ésteres, ortoésteres, anidridos, carbonatos, amidas, uretanos, ureias, etc. (LI, 1999).

A molécula do ácido láctico (α -ácido 2-hidroxiipropiânico, LA) é usada como matéria prima na síntese do PLGA. Esta molécula é um isômero antípoda óptico enantiomorfo ou molécula quiral, que possui dois estereoisômeros L- (levogiro) e D- (dextrogiro) ácido láctico (Figura 5), que se diferem pelo efeito da luz polarizada (ALBERTON, 2014). As formas levogira e dextrogira conferem estruturas semicristalinas e a forma racêmica (D, L-) amorfa. Comumente, na fabricação de PLGA é utilizada uma mistura dos estereoisômeros, a forma racêmica em proporções iguais (meso-lactídeo, como na Figura 5).

Figura 5 - (a) poliácido láctico, (b) polilactídeo, e as formas dos estereoisômeros do lactídeo.

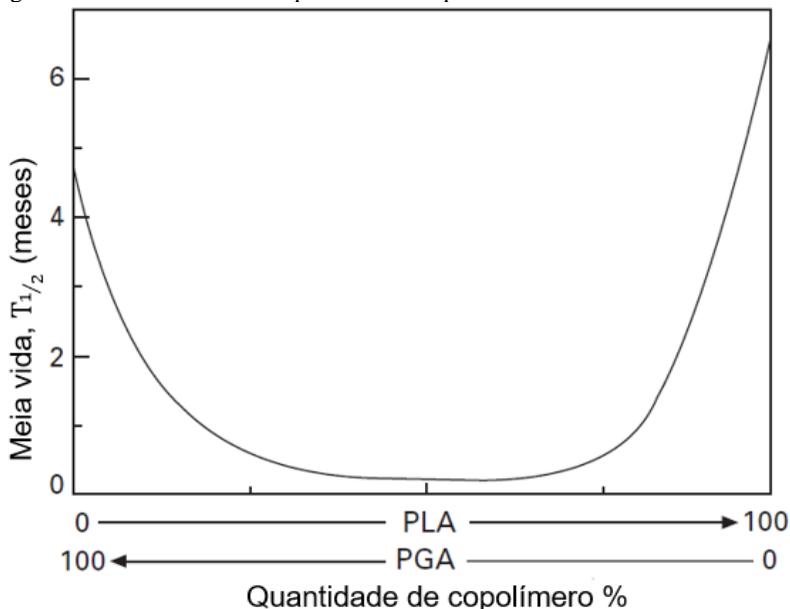


Fonte: adaptado de NIAOUNAKIS, 2015.

O ácido glicólico (ou ácido hidroxiacético, GA), também matéria-prima do PLGA, assim como o LA é um α -hidróxi ácido, entretanto, sua estrutura é menor, desprovida de quaisquer grupos laterais metilo, apresentando uma estrutura altamente cristalina, em contraste com

ácido lático. O grupo metila, presente no ácido lático, proporciona ao LA maior hidrofobicidade, tornando o PLGA mais hidrofóbico quando maior a razão de ácido lático em sua composição. Além disso, quanto maior a quantidade de LA menor será a quantidade de água absorvida, diminuindo assim a velocidade de degradação do copolímero, pois a principal razão pela qual estes polímeros são degradáveis em meio biológico está relacionada à presença de grupamentos polares em suas estruturas, favorecendo a interação química com enzimas e ocasionando ataques hidrolíticos. Vale ressaltar que não existe uma relação linear entre a composição do copolímero e as propriedades mecânicas e de degradação dos materiais (MIDDLETON e TIPTON, 2000), fato que pode ser visto na Figura 6, que apresenta como as quantidades de copolímeros de PLA e PGA alteram a meia-vida de degradação dos polímeros de PLGA.

Figura 6 - Meia-vida de homopolímeros e copolímeros de PLA e PGA.

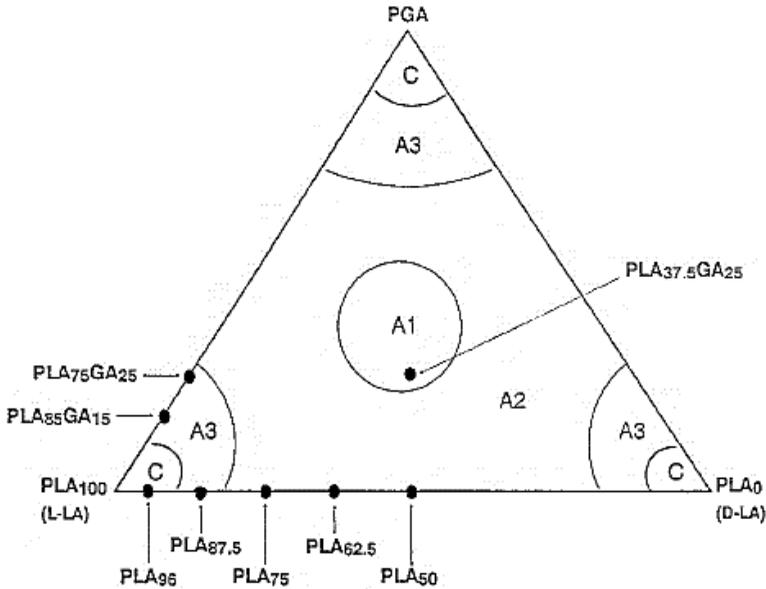


Fonte: adaptado de MIDDLETON e TIPTON, 2000.

A Figura 7, elaborada por Li, 1999, mostra esquematicamente o comportamento de degradação de diversos tipos de PLGA. O triângulo apresentado é dividido em dois tipos de zonas: as zonas C são compostas de polímeros intrinsecamente semicristalinos, enquanto as zonas A intrinsecamente amorfos. Para polímeros nas zonas C, preparados no

estado amorfo através da têmpera, a degradação será pela cristalização de subprodutos de degradação. Caso a preparação em estado semicristalino for feita por recozimento, a degradação será caracterizada pela degradação preferencial de domínios amorfos. Nos polímeros amorfos, três subzonas podem ser distinguidas: A1, A2 e A3. Para polímeros A1, a degradação levará a estruturas ocas que permanecem amorfas devido à alta irregularidade das estruturas da cadeia polimérica. Para os polímeros A2, a degradação também leva a estruturas ocas, porém essas cristalarão parcialmente e dependem da estrutura cristalina inicial. Para os polímeros A3 não se obtêm estruturas ocas, tanto a superfície como o interior irão cristalizar. Vale ressaltar que a degradação de dispositivos pequenos de polímeros amorfos não produzirá estruturas ocas, mas serão observadas alterações morfológicas semelhantes às que ocorrem em dispositivos maiores (LI, 1999).

Figura 7 - Apresentação esquemática dos comportamentos de degradação de vários polímeros de PLGA com degradação hidrolítica.



Fonte: LI, 1999.

A massa molecular e o grau de cristalinidade também podem influenciar nas propriedades mecânicas, na capacidade de hidrólise e na velocidade de degradação do polímero (CAMPOS, 2013). Outros fatores que modificam a taxa de degradação do PLGA são a composição, massa molecular, cristalinidade, pH do meio, presença de aditivos como sais,

surfactantes e agentes plastificantes e tamanho, forma e porosidade dos dispositivos (CAMPOS, 2013; JAIN, 2000; SHIRAZI *et al.*, 2014). Um resumo de todos os fatores que afetam a degradação desses polímeros pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2 - Fatores que afetam o comportamento da degradação hidrolítica de poliésteres biodegradáveis.

Fatores que afetam a degradação hidrolítica de poliésteres biodegradáveis

- Permeabilidade em água e solubilidade (hidrofilicidade/hidrofobicidade)
 - Composição química
 - Mecanismos de hidrólise (não-catalítica, auto catalítica, enzimática)
 - Aditivos (ácido, base, monômeros, solventes, drogas)
 - Morfologia (cristalinidade, amorfo)
 - Dimensões do dispositivo (tamanho, formato, razão superfície e volume)
 - Porosidade
 - Temperatura de transição vítrea (vítreo, borrachoso)
 - Massa molecular e distribuição do peso molecular
 - Fatores físico-químicos (troca iônica, força iônica, pH)
 - Esterilização
 - Local de implantação
-

Fonte: adaptado de ANDERSON e SHIVE, 1997.

A temperatura de transição vítrea (T_g) é outra propriedade que favorece sua aplicação em seres humanos. Devido a T_g do PLGA ser em torno de 40 – 55 °C, acima da temperatura corporal de 37 °C, este se mantém de forma vítrea no corpo, mantendo a estrutura relativamente rígida de suas cadeias. Assim, essa propriedade confere significativa resistência mecânica ao material, permitindo seu uso em sistemas de liberação de fármacos e como *scaffolds* (CAMPOS, 2013; JAIN, 2000; BARBANTI, ZAVAGLIA e DUEK, 2005).

Para a fabricação do PLGA com as características desejadas acima, é necessário ter um bom controle do processo de fabricação. Duas maneiras são descritas para converter ácido lático e ácido glicólico no copolímero PLGA, sendo uma indireta pela abertura dos dímeros cíclicos do ácido lático (lactídeo) e do ácido glicólico (glicolídeo), conhecida como polimerização por abertura do anel (*ring opening polymerization*, ROP). A outra reação é direta pela reação de policondensação direta (PC) dos ácidos lático e glicólico. Apesar de a policondensação direta ser a rota mais simples, esta síntese gera polímeros com baixo peso molecular, enquanto a ROP produz polímeros com alto peso molecular e, conseqüentemente, melhores propriedades mecânicas. Entretanto, o baixo

peso molar é uma característica boa quando aplicado na liberação controlada de fármacos (ERBETTA *et al.*, 2012; AVGOUSTAKIS, 2008).

Propriedades como a resistência mecânica, o comportamento de turgescência, a capacidade de se submeter a hidrólise e subsequentemente a taxa de biodegradação do polímero são diretamente influenciados pelo grau de cristalinidade do PLGA, que é dependente do tipo e proporção molar dos componentes monoméricos individuais da cadeia de copolímero (MAKADIA e SIEGEL, 2011).

A solubilidade do PLGA é afetada pela proporção ácido glicólico presente no copolímero. PLGA, que contendo menos que 50% de ácido glicólico é solúvel em solventes orgânicos mais comuns, tais como os hidrocarbonetos halogenados (clorofórmio e diclorometano), acetato de etilo, acetona, dioxano e tetra-hidrofurano, enquanto o PLGA com mais de 50% de GA é insolúvel nesses solventes e usado na caracterização e tratamento de PLGA com alto teor de glicolil (AVGOUSTAKIS, 2008).

As propriedades mecânicas (resistência, tenacidade e elasticidade) do PLGA dependem da razão de lactídeo e glicolídeo, massa molecular e processamento. Polímeros cristalinos, tais como poli(L-lactídeo) e poli(ácido glicólico), exibem uma significativa maior resistência mecânica se comparado com o polímero amorfo poli(D,L-lactídeo) e o amorfo e pouco cristalino PLGA (AVGOUSTAKIS, 2008; VERT *et al.*, 1981), como pode ser visto na Tabela 3.

O PLGA, assim como os polímeros gerados pelos monômeros de ácido láctico e ácido glicólico, apresenta uma grande variedade de aplicações na área biomédica, podendo ser utilizado na fabricação de dispositivos para a fixação óssea, implantes ortopédicos, suturas, membranas, reconstrução de ligamentos e em dispositivos para liberação de fármacos (GENTILE *et al.*, 2014; AVGOUSTAKIS, 2008; MOTTA, 2002). Esta variedade de produtos fabricados a partir do PLGA deve-se as suas características e à sua aprovação pela FDA (*Food and Drug Administration* - o órgão responsável pelo controle dos alimentos, medicamentos, cosméticos, equipamentos médicos), facilitando a implementação de novos materiais contendo o PLGA. Algumas das aplicações do PLGA e seus derivados estão exemplificadas na Tabela 4.

Tabela 3 - Valores de propriedades térmicas, mecânicas e degradação de diversos polímeros derivados de PLA e PGA.

Polímero	Propriedades Térmicas		Propriedades Mecânicas			Degradação	Referências
	Fusão (T _m) (°C)	Transição Vítrea (T _g) (°C)	Módulo de Elasticidade (GPa)	Resistência à Tração (MPa)	Elongação (%)	Tempo (meses)	
PLA	150-162	45-60	0,35-3,5	21-60	2,5-6		(JIMÉNEZ, PELTZER e RUSECKAITE, 2015; VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002)
PLLA	170-200	55-65	2,7-4,15	15,5-150	3-10	>24	(VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002; AVGOUSTAKIS, 2008)
PDLA	Amorfo	50-60	1-3,4,5	27,6-50	2-10	12-18	(VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002; AVGOUSTAKIS, 2008)
PLDLLA 96:4	165	55	3,5	59	7	24	(FARAH, ANDERSON e LANGER, 2016)
PLDLLA 90:10	150	56	1,03-3,41	53,4-80,9	4,6-41,2	20-24	(MURARIU e DUBOIS, 2016; GARLOTTA, 2001)
PLDLLA 85:15	Amorfo	56	1,63-1,88	60,7-68,6	56-63,8	20	(MURARIU e DUBOIS, 2016; LI, 1999)
PLDLLA 80:20	Amorfo	56	2,10-2,94	51,7-84,1	5,7-32	12-18	(MURARIU e DUBOIS, 2016)
PLDLLA 70:30	Amorfo	55-60	3,3-4	20,5-34,1	-	12-18	(MURARIU e DUBOIS, 2016; WUISMAN e SMIT, 2006)
PLDLLA 50:50	Amorfo	50	-	-	-	<3	(FAKIROV, 2015)
PGA	220-230	35-45	5-7	60-99,7	1,5-20	6-12	(VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002; AVGOUSTAKIS, 2008; JENKIS e STAMBOULIS, 2012; ARMENTANO <i>et al.</i> , 2010)
PLGA 10:90	200	40	8,4	89	24	1-2	(AVGOUSTAKIS, 2008; SIN, RAHMAT e RAHMAN, 2012)
PLGA 50:50	Amorfo	40-50	1-4,34	41,4-55,2	2-10	2	(AVGOUSTAKIS, 2008; MIDDLETON e TIPTON, 2000)
PLGA 75:25	Amorfo	50-55	1,38-4,13	41,4-55,2	2,15-10	4-5	(AVGOUSTAKIS, 2008; VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002; MIDDLETON e TIPTON, 2000)
PLGA 82:18	Amorfo	50-55	1,4-2,8	41-55	3-10	3-6	(AVGOUSTAKIS, 2008; VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002)
PLGA 85:15	Amorfo	50-55	1,4-2,8	41-55	3-10	3-6	(AVGOUSTAKIS, 2008; VAN DE VELDE e KIEKENS, 2002; MIDDLETON e TIPTON, 2000)
PLGA 90:10	Amorfo	50-55	-	-	-	<3	(ARMENTANO <i>et al.</i> , 2010)

Tabela 4 - PLA, PGA, PLGA, PLDLA, PLDDLA em aplicações biomédicas.

Polímero	Área de aplicação	Produtos
Poli(lactídeo) (PLA)	Cirurgias ortopédicas, cirurgias orais e maxilofaciais	Takiron: Osteotrans TM MX, Fixsorb TM MX (screws, nails, pins) Gunze: Grandfixs®, Neofixs® (parafusos, pregos, pinos) Arthrex: Bio-Tenodesiss® (parafuso de interferência), Bio-Corkscrews® (âncora de sutura) Conmed Linvatec: SmartScrews®, SmartNails®, SmartTacks®, SmartPins®, BioScrews® Stryker: Biosteons®, Biozips® (parafuso de interferência, âncora) Zimmer: Bio-Stataks® (âncora de sutura), stent prostático, âncora de sutura, plugue de cimento ósseo Dermik Laboratories: Sculptras® (restauração facial injetável)
Poli(glicolídeo) (PGA)	Suturas	Dolphin: Petcryl®; Bondek®, Dexon TM , DemeTech®
Poli(D,L-lático-co-glicólico) (PLGA)	Suturas	Kensey Nash: EpiGuides® Sutures USS Sport Medicine: Polysorb® (suturas)
Poli(D,L-lático-co-glicólico) (PLGA) 85:15	Liberação de fármacos	Instrument Makar: Biologically Quiett TM (parafuso de interferência) Staple 85/15
Poli(D,L-lático-co-glicólico) (PLGA) 82:18	Cirurgias orais e maxilofaciais	Biomet: ALLthread TM LactoSorb® (parafusos, placas, malha, clipe cirúrgico, pinos, âncoras)
Poli(D,L-lático-co-glicólico) (PLGA) 10:90	Cirurgia geral, suturas, cirurgia periodontal	Ethicon: Vicryl suture, Vicryl mesh
Poli(L-lático-co-D,L-lático) (PLDLA) 98:2	Cirurgias ortopédicas	Phusilines® (parafuso de interferência), Sage
Poli(L-lático-co-D,L-lático) (PLDLA) 98:2		ConMed: Bio-Mini Revos®
Poli(L-lático-co-D,L-lático) (PLDLA) 50:50	Cirurgias orais e maxilofaciais	Sulzer: Sysorb® (parafusos) (50/50)
Poli(L-lático-co-D,L-lático) (PLDLA) 70:30		Geistlich: ResorPin® 70/30

FONTE: adaptado de SIN, RAHMAT e RAHMAN, 2012.

2.3 Fosfatos de Cálcio (Ca/P)

Os fosfatos de cálcio são compostos constituídos de íons de cálcio (Ca^{2+}) juntamente com os ânions de ortofosfatos (PO_4^{3-}), metafosfatos (PO_3^{1-}) ou pirofosfatos ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) e ocasionalmente hidrogênio ou íons de hidróxido. Quando íons de hidrogênio são substituídos pelo cálcio temos os prefixos mono-, di-, tri- e tetra-, indicando a quantidade de íons trocados. Eles são classificados como materiais cerâmicos e no meio ambiente são encontradas variações de fosfatos de cálcio na composição de organismos biológicos e depósitos minerais (DOROZHKIN, 2016).

Na natureza, os fosfatos de cálcio são os principais constituintes inorgânicos em sistemas biológicos, como ossos, dentes e algumas espécies de conchas, e calcificações patológicas, como cálculos e pedras urinárias (DOROZHKIN, 2016). Nesses sistemas biológicos, os íons HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} formam o grupo de fosfatos de cálcio chamados de ortofosfatos de cálcio, sendo estes os principais compostos biologicamente formados de todos os tecidos calcificados de mamíferos (RAMALHO, 2006; LOWENSTAM e WEINER, 1989). Os materiais formados geologicamente de ortofosfatos de cálcio são a principal matéria-prima para a produção de fertilizantes agrícolas, produtos químicos e detergentes contendo fósforo (MCCONNELL, 1973).

O arranjo atômico dos ortofosfatos de cálcio, em geral, é construído em torno de uma rede de grupos ortofosfato (PO_4), que estabilizam toda a estrutura. Devido a isso, a maioria dos ortofosfatos de cálcio é pouco solúvel em água, porém, todos eles são naturalmente solúveis em ácidos e insolúveis em soluções alcalinas (Tabela 5). Além disso, todos os ortofosfatos de cálcio quimicamente puros são cristais transparentes incolores de dureza moderada, mas, como pós, são de cor branca (DOROZHKIN, 2016).

Há uma grande variedade de compostos de fosfatos de cálcio e estes geralmente são classificados segundo a razão molar Ca/P, como é mostrado na Tabela 5, sendo os parâmetros preponderantes no comportamento dos fosfatos de cálcio a razão iônica entre Ca/P, basicidade/acidez e a solubilidade. No caso dos ortofosfatos de cálcio, todos os parâmetros citados anteriormente estão fortemente correlacionadas com o pH da solução e demonstram que quanto menor a razão molar Ca/P, mais ácido e solúvel em água é o ortofosfato de cálcio (DOROZHKIN, 2016).

Tabela 5 - Ortofosfatos de cálcio existentes e suas principais propriedades.

Composto	Fórmula Química	Razão Molar (Ca/P)	Densidade (g/cm ³)	Solubilidade a 25°C (-logK _a)	Solubilidade a 25°C (g/L)	Estabilidade do pH em solução aquosa a 25°C
Fosfato de monocalcário monohidratado (MCPM)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	0,5	2,23	1,14	~18	0,0-2,0
Fosfato de monocalcário anidro (MCPA ou MCP)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0,5	2,58	1,14	~17	Estável acima de 100°C
Fosfato dicálcico dihidratado (DCPD), brushita	CaHPO ₄ .2H ₂ O	1,0	2,32	6,59	~0,088	2,0-6,0
Fosfato dicálcico anidro (DCPA ou DCP), monetita	CaHPO ₄	1,0	2,89	6,90	~0,048	Estável acima de 100°C
Fosfato octacálcico (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₂ . 5H ₂ O	1,33	2,61	96,6	~0,0081	5,5-7,0
α-fosfato tricálcico (α-TCP)	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	1,5	2,86	25,5	~0,0025	Não precipitado em solução aquosa
β-fosfato tricálcico (β-TCP)	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	1,5	3,08	28,9	~0,0005	
Fosfato de cálcio amorfo (ACP - Apatita)	Ca _x H _y (PO ₄) _z .nH ₂ O n = 3-4,5; 15-20 % H ₂ O	1,2-2,2	-	Não pode ser medido precisamente		~5,0-12 Sempre metaestável
Hidroxiapatita deficiente de cálcio (CDHA ou Ca-def HA)^a	Ca _{10-x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6-x} (OH) _{2-x} (0 < x < 1)	1,51-1,67	-	~85	~0,0094	6,5-9,5
Hidroxiapatita (HA, HAp, ou OHAp)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	1,67	3,16	116,8	~0,0003	9,5-12
Fluorapatita (FA ou FAp)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (F ₂)	1,67	3,20	120,0	~0,0002	7-12
Oxiapatita (OA, OAp, ou OXA), voelckerita	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆	1,67	~3,2	~69	~0,087	Não precipitado em solução aquosa
Fosfato tetracálcico (TTCP ou TetCP), hilgenstockita	Ca ₄ (PO ₄) ₃ O	2,0	3,05	38-44	~0,0007	

^aOcasionalmente, é chamado de “precipitado HA (PHA)”; ^bExistência de OA continua a ser questionável; A extensão comparativa da dissolução em tampão ácido é: ACP α-TCP β-TCP > CDHA HA > FA. Fonte: adaptado de DOROZHKIN, 2012.

A estabilidade das fases de fosfatos é afetada por não apenas pequenas mudanças na composição, mas, também, pelas variações no pH e as condições de reação, tais como o solvente, a temperatura, a pressão, a natureza dos precursores e os agentes complexantes utilizados para controlar a cinética da reação (KUMTA *et al.*, 2005).

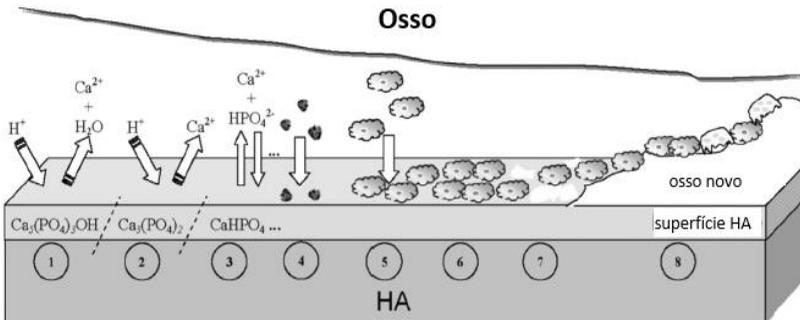
As cerâmicas de fosfato de cálcio podem ser produzidas por meio de diferentes processos como a mistura convencional de pós comerciais, síntese de pós cerâmicos por meio de reações no estado sólido e síntese via úmida. Vários fosfatos de cálcio que possuem razão molar Ca/P variando de 0,5 a 2,0 podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons cálcio e fosfato, sob condições alcalinas ou ácidas (KAI, 2012).

Os fosfatos de cálcio são atualmente um dos principais compostos aplicados e pesquisados no desenvolvimento de biomateriais para regeneração e reposição de tecido ósseo, devido à semelhança entre estes e a fase mineral que compõe os ossos, dentes e tecidos calcificados. Entretanto, apenas uma variedade limitada de fosfatos de cálcio pode ser usada em aplicações biomédicas. Os compostos com uma razão molar Ca/P menor do que um são ácidos e extremamente solúveis, enquanto, os outros fosfatos de cálcio, como o fosfato tetracálcico (TTCP), são muito básicos frente as necessidades do corpo humano, sendo estes usados apenas combinados com outros fosfatos de cálcio ou outras substâncias químicas, em aplicações em seres vivos (MOHAN *et al.*, 2016). Dentre os diferentes compostos de fosfato de cálcio, destacam-se a hidroxiapatita (HA), tricálcio fosfato (TCP) e suas combinações bifásicas (BCP) no uso em biomateriais, devido às suas composições químicas semelhantes à parte mineral do tecido ósseo (CHEVALIER e GREMILLARD, 2009). Estes materiais são importantes materiais cerâmicos utilizados na substituição de tecidos duros (DOROZHKIN, 2016).

Os fosfatos de cálcio quando aplicados na regeneração óssea induzem uma resposta biológica semelhante à gerada durante a remodelação óssea natural, como mostrado na Figura 8. A remodelação óssea ou regeneração consiste na reabsorção dos componentes minerais do osso velho juntamente com a formação do novo osso. Durante a reabsorção, os produtos de degradação das biocerâmica de fosfato de cálcio (íons de cálcio e fosfato) são naturalmente metabolizados e não induzem níveis de cálcio ou fosfato anormais na urina, soro ou órgãos (fígado, pele, cérebro, coração, rim, pulmão e intestino) (BARRÈRE, VAN BLITTERSWIJK e DE GROOT, 2006). A degradação dos fosfatos de cálcio no organismo depende de fatores como pH, composição e cristalinidade do biomaterial, ocorrendo por meio de dissolução química,

por ação dos osteoclastos ou por fragmentação de suas partículas, acompanhada de neoformação óssea no interior dos poros (ALMEIDA *et al.*, 2014). Dependendo do tamanho do cristal, defeito de rede e a reabsorção celular ativa, todo o Ca/P pode ser reabsorvível, o que será diferenciado é a cinética de acordo com o tempo. Um cristal HA de tamanho pequeno com defeito de rede é mais reabsorvível do que o TCP grande e altamente cristalino, por exemplo (DALCUSI, BOULER e LEGEROS, 1997).

Figura 8 - Diagrama esquemático representando os fenômenos que ocorrem na superfície da HA após o implante: (1) início do procedimento de implante, onde começa a solubilização na superfície da HA, (2) continuidade da solubilização na superfície da HA, (3) é alcançado o equilíbrio entre soluções fisiológicas e a superfície modificada de HA (mudanças na composição na superfície da HA não significa que uma nova fase de DCPA ou DCPD se formou na superfície), (4) adsorção de proteínas e/ou outros compostos bioorgânicos; (5) adesão celular (6) proliferação celular; (7) início da formação do novo osso (8) novo osso formado.



Fonte: adaptado de DOROZHKIN, 2015.

As principais propriedades dos fosfatos de cálcio são sua excelente biocompatibilidade, bioatividade, ausência de toxicidade, taxas de degradação variáveis e osteocondutividade. Entretanto, os fosfatos de cálcio são quebradiços, exibem pobre resistência a fadiga e uma lenta reabsorção (exceto o β -TCP, que possui uma degradação mais rápida) (AMBARD e MUENINGHOFF, 2006; SAKKA, BOUAZIZ e AYED, 2013). Algumas propriedades mecânicas dos fosfatos de cálcio podem ser vistas na Tabela 6.

Os fosfatos de cálcio podem ser aplicados em implantes dentários, dispositivos percutâneos e uso no tratamento periodontal, tratamento de defeitos ósseos, tratamento de fratura, substituição total da articulação (aumento ósseo), ortopedia, reconstrução crânio-maxilo-facial, otorrinolaringologia e cirurgia da coluna vertebral (DOROZHKIN, 2010). Além disso, há diversas pesquisas para emprego destes materiais

em sistemas de liberação de medicamentos, como portadores eficazes de fatores de crescimento, peptídeos bioativos e/ou vários tipos de células para fins de engenharia de tecidos e no transporte de DNA de plasmídeos para entrega de genes não virais (KUMTA *et al.*, 2005; DOROZHIN, 2010).

Tabela 6 - Composição e parâmetros estruturais de fases inorgânicas dos tecidos calcificados humanos adultos. Devido à considerável variação encontrada em amostras biológicas, são dados valores típicos nestes casos.

	Esmalte	Dentina	Cimento Ósseo	Osso	HA	β -TCP
Cálcio (massa%)	36,5	35,1	~35	34,8	39,6	35,5
Fosfatos (massa%)	17,7	16,9	~16	15,2	18,5	16,6
Razão molar (Ca/P)	1,63	1,61	~1,65	1,71	1,67	1,5
Índice de cristalinidade	70-75	33-37	~30	33-37	100	-
Tamanhos de cristais típicos (nm)	100 μ m x 50	35 x 25 x 4	-	50 x 25 x 4	200-600	-
Produtos de formação (800 °C)	β -TCP + HA	β -TCP + HA	β -TCP + HA	HA + CaO	HA	β -TCP
Módulo Elástico (GPa)	80	23,8 \pm 3,7	15,0 \pm 3,6	7-30	10-100	90-100
Resistência à flexão (MPa)	76	245-268	-	50-150	15-45	30-50
Resistência à tração (MPa)	10	21-53	-	78-150	40-100	25-80
Resistência à compressão (MPa)	297	384	-	131-224	500-1000	154

Fonte: adaptado de DALCUSI, BOULER e LEGEROS, 1997; LASSRI *et al.*, 2016; SAKKA, BOUAZIZ e AYED, 2013; KOKUBO, KIM e KAWASHITA, 2003; SUCHANEK e YOSHIMURA, 1998; SHEIKH *et al.*, 2015.

2.3.1 β -Tricálcio Fosfato (β -TCP)

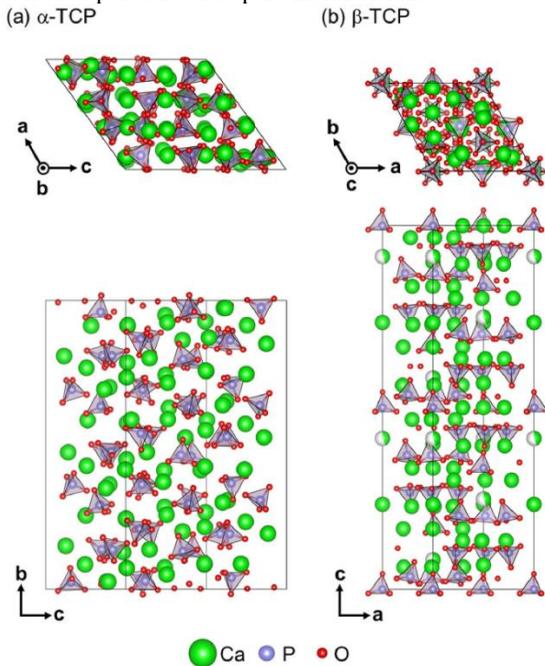
O β -tricálcio fosfato (β -Ca₃(PO₄)₂); nomeado pela IUPAC como difosfato tricálcico β ; e também chamado de β -ortofosfato de cálcio tribásico ou tricálcio bis (ortofosfato) beta) é um dos polimorfos do tricálcio fosfato (TCP) com razão Ca/P de 1,5 (DOROZHIN, 2016).

O tricálcio fosfato (TCP) apresenta quatro polimorfos: α ; β ; γ ; e super α . O polimorfo γ é uma fase de alta pressão e a fase super α é apenas observada em temperatura maiores que aproximadamente 1500 °C. Devido a isso, os polimorfos mais frequentemente observados são as fase α e β -TCP, os quais, segundo estudos de difração de raio-x, o polimorfo

β em temperaturas entre 1120-1290 °C transforma-se em α -TCP (HENCH e BEST, 2013; DOROZHKIN, 2016). As principais diferenças entre as fases α e β estão na estrutura cristalina das fases e no comportamento de dissolução.

Com relação a estrutura, o α -TCP cristaliza-se na estrutura monoclinica e ocupa o grupo espacial $P2_1/a$ com parâmetros de rede de $a=12,89 \text{ \AA}$, $b=27,28 \text{ \AA}$ e $c=15,22 \text{ \AA}$, enquanto o β -TCP assume a estrutura trigonal ocupando o grupo espacial $R3c$ com parâmetros de rede de $a = 10,44 \text{ \AA}$ e $c = 37,40 \text{ \AA}$ (MATHEW *et al.*, 1977; DICKENS, SCHROEDER e BROWN, 1974; YASHIMA *et al.*, 2003; MATSUNAGA *et al.*, 2015). Essas diferenças podem ser vistas na Figura 9. Além disso, a temperatura ambiente o β -TCP é mais estável e, por consequência, menos solúvel em água que o α -TCP, que possui capacidade de ser hidrolisado junto com outros fosfatos de cálcio (DIMOVA *et al.*, 2016).

Figura 9 - Estruturas cristalinas do (a) α -TCP e (b) β -TCP. Grupos de PO_4^{3-} estão representados por tetraedros para maior clareza.



Fonte: MATSUNAGA *et al.*, 2015.

O β -TCP pode ser preparado por meio da decomposição térmica da hidroxiapatita deficiente em cálcio, em temperaturas acima de 800 °C,

e pela calcinação. O β -TCP puro não é normalmente encontrado no tecido calcificado em corpos humanos ou animais, mas uma forma substituída por magnésio, o β -tricálcio magnésio fosfato (β -TCMP), também denominado de “whitlockita”, pode ser encontrada no cálculo renal ou nas cartilagens artríticas devido a sua menor solubilidade (MOHAN *et al.*, 2016; DOROZHKIN, 2009).

Ambas as fases α e β dos tricálcio fosfatos possuem uma solubilidade superior em comparação com a hidroxiapatita, e são reabsorvidos mais rapidamente após o implante no ambiente biológico, sendo usados como materiais biodegradáveis. O β -tricálcio fosfato é um dos principais materiais usados como enxertos aloplásticos aplicados em implantodontia devido ao fato de ser osteocondutor, absorvível e não osteoindutivo (MOHAN *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2013). O β -TCP como substituto ósseo se mostra adequado por ser biodegradável e na permuta com o tecido ósseo recém mineralizado não há proliferação de tecido fibroso, facilitando a fixação, proliferação, migração e expressão fenotípica das células ósseas no crescimento ósseo na superfície do enxerto (DIMOVA *et al.*, 2016; BRKOVIC *et al.*, 2008; IVANOV *et al.*, 2013).

Entretanto, apesar das propriedades positivas mencionadas acima, há desvantagens no uso do β -TCP em sistemas biológicos. O β -TCP é frágil sob tração e cisalhamento, mas resistente quando submetido a cargas compressivas. O fosfato tricálcico beta sofre reabsorção via dissolução e fragmentação ao longo de um período de 6 a 18 meses, que difere do tempo de remodelamento do osso, levando sempre a um menor volume ósseo produzido do que o volume de β -TCP reabsorvido, o que pode ocasionar problemas. O fosfato tricálcico beta pode ser encontrado na forma porosa ou sólida como grânulos ou blocos. O β -TCP estruturalmente poroso possui resistência à compressão e resistência à tração similar ao osso esponjoso (DIMOVA *et al.*, 2016).

O β -TCP por ser aplicado na área médica na formulação de ortofosfatos de cálcio e enxertos ósseos (DOROZHKIN, 2016). Além disso, o β -TCP devido à sua rápida absorção e baixa resistência mecânica, tem a sua utilização mais voltada para o preenchimento de defeitos em regiões sem carregamento, onde ocorre a regeneração do tecido ósseo e total reabsorção do implante. Implantes de tricálcio fosfato podem ser aplicados restritamente em algumas regiões do corpo, onde não ocorre um carregamento mecânico elevado, como nos ossos internos das orelhas, no preenchimento de pequenos defeitos orais e ortopédicos e, no revestimento de implantes dentários e próteses metálicas (BERNARDINO, 2016; DOROZHKIN, 2010). O β -TCP utilizado em

conjunto com outros materiais, na forma de compósitos, tem apresentado bons resultados sendo aplicado em *scaffolds*, cimentos e enchimentos ósseos, pastas injetáveis e membranas para regeneração guiada do osso, em conjunto com HA, PLGA, PLDLLA, entre outros materiais (SHEIKH *et al.*, 2015; XIE *et al.*, 2015; LAM *et al.*, 2009).

2.3.2 Hidroxiapatita (HA)

A hidroxiapatita (HA) é um tipo de cerâmica à base de fosfato de cálcio, pertencente à família de minerais denominadas apatitas, cuja composição genérica é $A_{10}(BO_4)_6X_2$, sendo fluorapatita, cloroapatita e hidroxiapatita, os principais exemplos desta família (KALITA *et al.*, 2004).

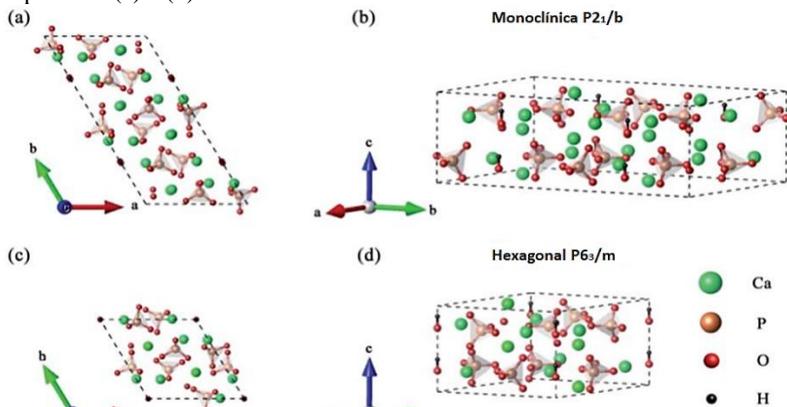
A HA é um fosfato de cálcio com fórmula química $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ que contém aproximadamente 40% de cálcio e 18,5% de fósforo (em % em massa), possuindo uma razão estequiométrica de 1,67 de Ca/P em sua composição, fator este determinante para avaliar os processos de obtenção da HA (MOHAN *et al.*, 2016). A hidroxiapatita quimicamente pura cristaliza-se no grupo espacial monoclinico $P2_1/b$. Entretanto, em temperaturas acima de ~ 250 °C, há uma transição de fase monoclinica para hexagonal em sua estrutura (grupo espacial $P6_3/m$) (DOROZHKIN, 2016; ELLIOT, 1994; DOROZHKIN, 2011). Além disso, estrutura hexagonal pode ser estabilizada a temperatura ambiente devido a presença de impurezas ou substituições parciais da hidroxiapatita por íons cloreto ou fluoreto (CORNO *et al.*, 2006). Estas estruturas podem ser vistas na Figura 10.

A principal diferença entre a HA com estrutura monoclinica e a hexagonal está na orientação dos grupos hidroxila (OH). Na HA monoclinica, todos os OH de uma dada coluna apontam na mesma direção, invertendo a direção na coluna seguinte, enquanto na HA hexagonal os grupos OH adjacentes apontam em direções opostas (LIN e CHANG, 2015).

Aproximadamente 60% do osso humano é formado por hidroxiapatita em sua forma não estequiométrica, carbonatada e não pura (a composição pura não aparece em sistemas biológicos) (DOROZHKIN, 2016; VALLET-REGÍ, 2001). Geralmente, as apatitas biológicas apresentam composição deficiente em Ca (Ca/P<1,67), compostas por pequenos cristais com tamanhos aproximados de 50x25 nm e espessura de 4 nm, em consequência disso, a HA natural apresenta baixa cristalinidade e solubilidade relativamente alta. Na estrutura óssea, a HA se apresenta na forma de nanocristais, tornando o osso mais duro e rígido,

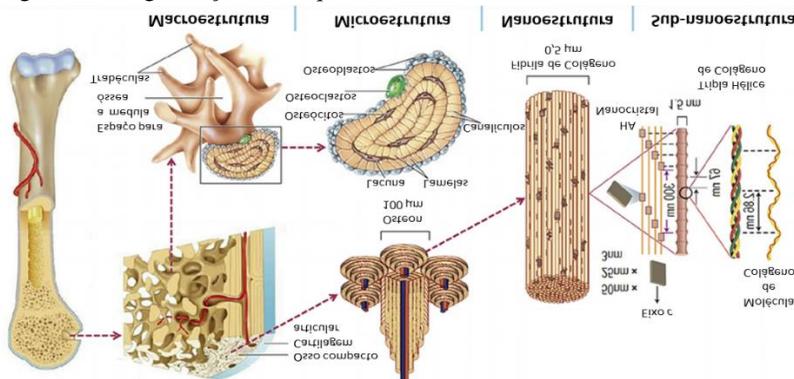
enquanto as fibras de colágeno garantem elasticidade e maior resistência à fratura, conjuntamente com uma taxa adequada de reabsorção e regeneração óssea (DIMOVA *et al.*, 2016; DOROZHKIN, 2009). A estrutura da hidroxiapatita em relação a organização hierárquica da estrutura do osso pode ser vista na Figura 11.

Figura 10 - Estruturas cristalinas da hidroxiapatita: de baixa temperatura a estrutura monoclinica $P2_1/b$ (a) e (b) e a estrutura hexagonal $P6_3/m$ de alta temperatura (c) e (d).



Fonte: adaptada de HU *et al.*, 2017.

Figura 11 - Organização hierárquica da estrutura do osso.



Fonte: adaptado de WANG *et al.*, 2016.

A hidroxiapatita, em seu tamanho nanocristalino, tem maior atuação frente aos sistemas biológicos, apresentando uma maior capacidade de adsorver as proteínas necessárias para a atividade vital das

células e na discriminação das células em função de suas atuações na formação dos tecidos ósseos e fibrosos (DIMOVA *et al.*, 2016). Alguns estudos pré-clínicos mostraram que a HA nanoestrutura sintetizada abaixo de 60 °C possui maior habilidade de estimular a osteogênese na reparação do osso ao ser comparada com a HA policristalina de obtida em temperaturas mais elevadas (DIMOVA *et al.*, 2016; DOROZHKIN, 2009).

Várias técnicas podem ser utilizadas para a preparação da HA, sendo estas divididas em reações de estado sólido e métodos úmidos, que incluem solução-precipitação, síntese hidrotérmica e hidrólise de outros ortofosfatos de cálcio, formando obrigatoriamente a razão Ca/P de 1,67 (DOROZHKIN, 2016).

A semelhança na composição e a possibilidade formação de uma ligação química com o tecido hospedeiro, oferece à HA uma vantagem maior em aplicações clínicas em comparação com a maioria dos outros substitutos ósseos, como aloenxertos ou implantes metálicos. As principais vantagens da HA sintético são a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade lenta *in situ* e suas boas habilidades osteoindutivas e osteocondutoras (ZHOU e LEE, 2011). Entretanto, grande desvantagem da hidroxiapatita refere-se ao seu caráter frágil, a resistência à tração reduzidas e a possibilidade de infecção após implante. Além disso, defeitos ósseo grande podem ser difíceis de reparar com a HA sintética devido a reduzida osseointegração em relação a biológica e a possibilidade de transformação estrutural da mesma em contato com líquido corpóreo (MOHAN *et al.*, 2016; SHAH, JUNG e SKIRBOLL, 2014).

A composição química, cristalinidade, tamanho e morfologia dos cristais de HA e seus agregados desempenham um papel crítico na determinação de suas propriedades e possíveis aplicações (LIN e CHANG, 2015). No entanto, a geometria, a porosidade e as substituições de rede são características importantes que afetam a capacidade do material de curar defeitos ósseos (MOHAN *et al.*, 2016).

A hidroxiapatita possui inúmeras aplicações como biomaterial, sendo empregada no preenchimento ósseo, suportes para engenharia de tecido ósseo (*scaffolds*), revestimentos bioativos, reparo de tecidos moles, sistemas de carga/liberação de proteínas e cromatografia em coluna para fracionamento rápido de biomoléculas. Além disso, a HA é uma potencial candidata no uso para o direcionamento de células, rotulagem de fluorescência, materiais de imagem e diagnóstico e como composto modelo para imitar o processo de biomineralização (LIN e CHANG, 2015).

2.3.3 Substituição Iônica em fosfatos de cálcio

A composição dos tecidos ósseos e dentários é comumente formada da apatita biológica, que, como já mencionado, é formada por hidroxiapatita não estequiométrica, não pura, deficiente em Ca e com substituição de diversos íons em suas estruturas. Dentro da estrutura dos Ca/P, todos os íons de cálcio, fosfato e hidróxido da estrutura cristalina dos fosfatos de cálcio, podem ser substituídos por diferentes cátions e ânions. Devido à alta flexibilidade de suas estruturas, os Ca/P podem hospedar cátions monovalentes, divalentes e trivalentes, ânions monovalentes ou poliânions. Entre os principais íons estão CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , SiO_4^{2-} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Zn^{2+} , Mn^{2+} , F^- e Cl^- (LASKUS e KOLMAS, 2017; XIA, 2013; TAMPIERI *et al.*, 2016)

A substituição iônica (também chamada de dopagem) tem sido proposta como um método para melhorar não apenas as características biomiméticas da apatita, mas também o desempenho biológico de materiais à base de apatita. O intuito da substituição iônica é mimetizar a composição química da parte mineral óssea, permitindo a troca de íons na estrutura dos Ca/P com o meio fisiológico, assim, projetado, desenvolvendo e caracterizando novos e melhores fosfatos para determinadas aplicações específicas (BOANINI, GAZZANO e BIGI, 2010; DOROZHKIN, 2016).

As substituições iônicas de caráter catiônico ocorrem normalmente nos sítios ocupados pelo Ca^{2+} , podendo ocorrer pelas trocas de íons divalentes (por exemplo, Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , etc.) e monovalentes (por exemplo, Na^+ , K^+ , entre outros). No caso das substituições aniônicas, estas acontecem nas posições dos fosfatos ou hidroxila, como por exemplo a troca de íons de F e Cl no lugar do OH, CO_3^{2-} pode trocar de posição com PO_4^{3-} e OH^- , e fósforo (P) pode ser também substituído por carbono, arsênio, vanádio, enxofre, etc., e o grupo OH por vacâncias a esquerda (CACCIOTTI, 2016; VALLET-REGÍ e ARCOS, 2008).

Essas substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões e morfologia dos cristais, a textura de superfície, a estabilidade térmica, solubilidade, resposta osteoclástica e osteoblástica *in vitro* e, a degradação e regeneração óssea *in vivo* dos fosfatos de cálcio (KAI, 2012; CACCIOTTI, 2016). Em particular, na hidroxiapatita, a incorporação de íons influencia na taxa dissolução da HA, provocando um aumento considerável na proliferação de células semelhantes aos osteoblastos humanos, consequentemente, favorecendo a osteointegração (CACCIOTTI, 2016).

2.3.3.1 Substituição iônica com estrôncio (Sr-Ca/P)

O estrôncio (Sr) é um microelemento presente na fase mineral do osso, principalmente nas regiões onde ocorre alta taxa de renovação metabólica, desempenhando um papel relevante na mineralização do tecido ósseo e da cárie dentária, trabalhando na indução da formação de tecido ósseo e a inibição de sua reabsorção, mesmo em pequenas quantidades (DAHL *et al.*, 2001; NADDARI *et al.*, 2003). Além disso, o Sr é considerado uma das substâncias mais eficazes para o alívio de dores e tratamentos de câncer do tecido ósseo e osteoporose (DAHL *et al.*, 2001). As interações do Sr e outros íons no remodelamento do osso, estão ilustradas na Figura 12.

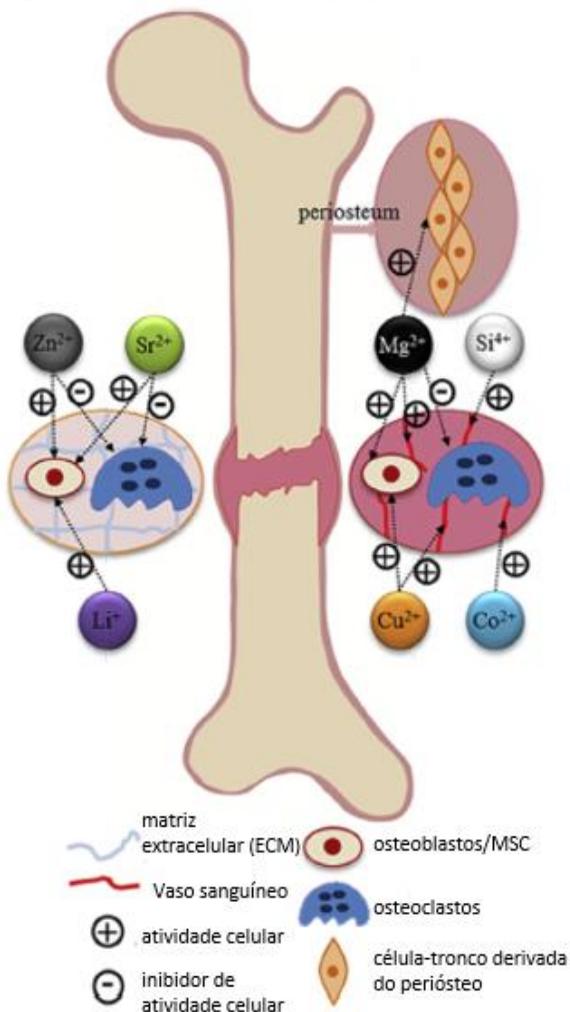
Estudos realizados comprovam a eficácia da inserção de doses baixas de estrôncio no tratamento da osteoporose, ocasionando redução da incidência de fraturas nos pacientes com osteoporose. Isto ocorre, pois, o ranelato de estrôncio, administrado nestes pacientes, diminui a reabsorção óssea através da inibição da atividade de reabsorção de osteoclastos e diferenciação osteoclástica e, juntamente, promove a formação do osso, aumentando a replicação de células pré-osteoblásticas e diferenciação osteoblástica (BOANINI, GAZZANO e BIGI, 2010). Estes fatores citados contribuem também para melhora nas propriedades mecânicas (LANDI *et al.*, 2008; GOPI *et al.*, 2014; RABELO NETO, *et al.*, 2015).

A presença do íon Sr dentro da rede da HA ocasiona melhora na biocompatibilidade e bioatividade, promovendo o processo de osteointegração, uma consequência também do aumento de solubilidade causada pelo mesmo e da desestabilização na estrutura cristalina, devido ao maior tamanho do íon. A introdução do Sr na hidroxiapatita aumenta a solubilidade devido a substituição do estrôncio nos sítios de Ca(II), liberando este no fluido sintético (BOANINI, GAZZANO e BIGI, 2010; BIGI *et al.*, 2007; VERBERCKMOES *et al.*, 2004), além de diminuir a cristalinidade e afetar as dimensões do reticulado cristalino (CURRAN *et al.*, 2011).

A modificação causada pela inserção de estrôncio na estrutura dos fosfatos de cálcio depende da dose ou concentração utilizada, como exemplo tem-se que o uso de doses baixas (<4 mmol Sr/kg/dia) ocasiona o aumento da formação óssea e a redução da reabsorção óssea, que resulta no crescimento de massa óssea. Outro exemplo está no estudo de citotoxicidade que verificou que amostras de hidroxiapatita dopadas com

estrôncio (SrHA) em concentrações de 1% e 5% molar de Sr^{+2} expressaram baixa citotoxicidade (DOURADO, 2006).

Figura 12 - Atuação de íons bioinorgânicos em alvos específicos, relevantes no papel como agentes terapêuticos revelados por pesquisas atuais.



Fonte: WANG e YEUNG, 2017.

Em relação ao desempenho mecânico, foi provado que a incorporação de Sr influencia o mesmo: os materiais porosos contendo hidroxiapatita com dopagem de (Sr-HA - teor de Sr de 1,15% mol)

apresentaram resistência à compressão de 1,40 a 4,52 MPa, valor situado dentro da faixa correspondente ao osso natural (LANDI *et al.*, 2007) e, um ligeiro aumento na dureza Vickers para Sr-HA contendo 8% mol de Sr, subindo o valor de 5,2 para 5,5 GPa, em relação a HA pura (KIM *et al.*, 2004).

2.3.3.2 Substituição iônica com magnésio (Mg-Ca/P)

O magnésio (Mg) é um íon tipicamente presente no esmalte natural, dentina e osso, em teores em massa de 0,44%, 1,23% e 0,73%, respectivamente, e apresentando 2% em massa no tecido ósseo durante as fases iniciais da osteogênese, tendendo a desaparecer no tecido maduro (LEGEROS, 1991; BIGI *et al.*, 1992). O Mg é um elemento associado aos primeiros estágios da formação óssea, ao aumento do metabolismo esquelético e crescimento ósseo. Assim como o carbonato, as quantidades de magnésio no osso diminuem com o aumento da calcificação e com o envelhecimento do osso (BIGI *et al.*, 1992).

A substituição controlada de íons de cálcio por magnésio na hidroxiapatita sintética (Mg-HA) ocasiona o aumento da cinética da nucleação de HA no colágeno e retarda sua cristalização, afetando o tamanho e a forma dos núcleos minerais (CACCIOTTI, 2016). O aumento da atividade osteogênica na presença de Mg-HA foi apresentado em estudos *in vivo*, implantados em fêmur de coelho, o qual obteve-se uma maior osteocondutividade ao longo do tempo e maior reabsorção de material, em comparação com HA estequiométrica (LANDI *et al.*, 2008).

O magnésio é essencialmente acomodado no sítio Ca (II), entretanto alguns estudos identificaram que o sítio de Ca (I) na rede de HA é o local energeticamente favorecido para a substituição de Mg, com base em um estudo computacional usando a teoria funcional de densidade de aproximação de gradiente (REN *et al.*, 2006; TAMPIERI *et al.*, 2004).

A incorporação de íons de magnésio (Mg²⁺) na substituição iônica ocasiona contração no parâmetro de rede e consequente redução da célula unitária, assim como maior estabilidade térmica dos pós, diminuição da solubilidade, aumento da resistência mecânica e da bioatividade óssea, e em especial na hidroxiapatita acarreta o aumento da biodegradabilidade em fluidos fisiológicos e sua solubilidade (RABELO NETO, *et al.*, 2015). Os fosfatos de cálcio dopados com magnésio possuem potencial para o desenvolvimento de osso artificial e outras aplicações médicas (GOZALIAN, BAHNAMGHADER e MOSHKFOROUGH, 2012).

Pesquisas relativas a obtenção de hidroxiapatita com 5,7% mol de Mg em relação ao Ca, resultando em uma HA semelhante à apatita

biológica em termos de composição, morfologia e cristalinidade foram submetidas a testes *in vivo*. Os testes apresentaram nenhuma genotoxicidade, carcinogenicidade e citotoxicidade. Além disso, quando implantados em coelhos brancos na Nova Zelândia, esses grânulos de Mg-HA não causaram sensibilização à irritação da pele *in vivo* e à reabsorção dos grânulos foi aumentada em relação à HA pura, devido a maior solubilidade de Mg-HA (LANDI *et al.*, 2008).

Em relação às propriedades mecânicas, com a inserção de teores de até 1,8% em massa de Mg há significativa diminuição na resistência à compressão e microdureza. Entretanto, com adição de teores de até 0,6% em massa (teor muito próximo da concentração de magnésio o componente mineral ósseo natural), ocorre um incremento na tenacidade à fratura. Essas evidências experimentais foram atribuídas a diminuição do tamanho médio de grão, aumento na microporosidade e à formação de um limite intergranular fraco (FADEEV *et al.*, 2003; ZYMAN *et al.*, 2006).

2.4 Biocompósitos

Compósitos são definidos como estruturas constituídas de dois ou mais componentes ou fases diferentes formando um material complexo com propriedades distintas dos componentes individuais que o compõe. Entre os materiais compósitos há um grupo específico de compósitos formados por uma ou mais fases derivadas de uma origem biológica, os biocompósitos.

A maioria dos tecidos vivos, como os ossos, cartilagens e pele são formados por uma combinação de duas fases de materiais constituintes, uma fase de reforço, em forma de fibras ou partículas, e uma fase contínua, denominada matriz. No caso dos ossos e dentes, essencialmente estes são constituídos de duas fases: uma matriz orgânica composta de colágeno (16%) e uma fase de reforço inorgânica (50-60% em massa) de cristais de hidroxiapatita, o restante da composição refere-se a cimentos bioativos (proteínas, polissacáridos, mucopolissacarídeos - 2%) e água (22%) (RAMAKRISHNA *et al.*, 2004; MURUGAN e RAMAKRISHNA, 2005). O osso, além da multiplicidade de sua composição, é um tecido altamente complexo que fornece suporte mecânico, atua como reservatório mineral, suporta a contração muscular devido ao movimento, age como suporte de carga e protege os órgãos internos (JOSE *et al.*, 2009; MURUGAN e RAMAKRISHNA, 2005; SALGADO, COUTINHO e REIS, 2004).

Baseado na composição dos tecidos vivos, o desenvolvimento de biocompósitos visa produzir materiais cujas respostas físico-químicas, mecânicas e biológicas resultantes permitam que estes sejam aplicados *in vivo* mimetizando os tecidos naturais. Neste contexto há vários estudos voltados ao desenvolvimento de biocompósitos de poli(ácido láctico) com fosfatos de cálcio, no intuito de atrelar a biodegradabilidade do polímero com as características bioativas da parte cerâmica.

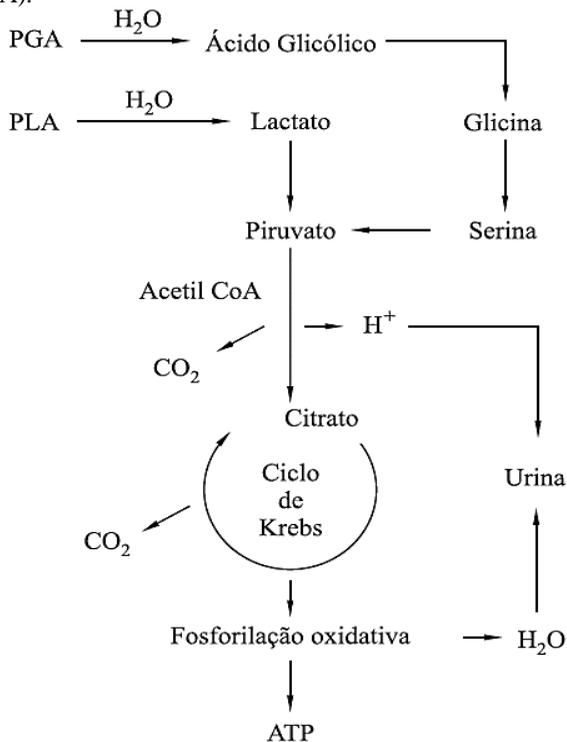
Nas últimas décadas tem ocorrido um crescimento no uso de poli(α -hidróxi ácidos) e seus copolímeros, dos quais se destacam o PLA e PGA respectivamente e seus copolímeros como o PLGA, na recuperação de tecidos ósseos. Isto se deve a limitação que materiais metálicos têm enfrentado nessas aplicações, devido à ocorrência de infecções pela liberação de íons em torno dos tecidos, o enfraquecimento do tecido ósseo ocasionado pela maior rigidez do metal, que acaba absorvendo grande parte do carregamento mecânico e, assim, diminuindo a solitação no osso (este fenômeno é chamado de *stress-shielding*), atrofiando o mesmo e, até podendo causar novas fraturas (SANTOS *et al.*, 2012; MEYER *et al.*, 2012; YANG *et al.*, 2008).

Outro quesito que prejudica os implantes metálicos é a necessidade de uma segunda cirurgia para retirar o implante metálico, enquanto que com os polímeros reabsorvíveis há a degradação dos mesmos com o tempo e absorção pelo organismo de seus produtos, evitando um segundo processo cirúrgico e, diminuindo riscos de contaminação, infecção e morbidade na área implantada (SANTOS *et al.*, 2012; LIUYUN *et al.*, 2012). Estes biopolímeros são utilizados principalmente na engenharia de tecidos e ortopedia, na forma de parafusos, placas e pinos e como *scaffolds* com a função de preenchimento e reparo de tecidos duros. Entretanto, o uso desses polímeros sem qualquer fase de reforço é prejudicado por alguns fatores intrínsecos desses biopolímeros. Entre essas características estão as propriedades mecânicas e a taxa de degradação desses materiais, que possuem um longo tempo de degradação, > 24 meses (BERGSMA *et al.*, 1995).

O processo de degradação destes polímeros *in vivo* ocorre pelo processo de hidrólise de suas ligações ésteres em contato com os fluidos corpóreos, formando oligômeros solúveis e não tóxicos que são metabolizados pelo organismo e transformados em CO₂ e H₂O por meio do ciclo de Krebs (Figura 13) (DELABARDE *et al.*, 2011; SANTOS, 2011; BARBANTI, ZAVAGLIA e DUEK, 2005). O ácido láctico é metabolizado através do ciclo de ácido tricarbóxico e então excretado na forma de dióxido de carbono e água enquanto que o ácido glicólico é diretamente excretado na urina ou reage para formar glicina,

transformando-se em ácido pirúvico e atuando, também, no ciclo do ácido tricarboxílico (MEYER *et al.*, 2012).

Figura 13 - Rota metabólica de bioreabsorção dos poli(α -hidróxi ácidos) (PLA, PGA e PLGA).



Fonte: BARBANTI, ZAVAGLIA, DUEK, 2005.

Como mencionado anteriormente, a taxa de degradação do PLGA pode ser afetada por diversos fatores como a composição, massa molecular, cristalinidade, pH do meio, entre outros fatores. No processo de recuperação do tecido ósseo esta degradação deve ocorrer de forma gradativa, para que haja transferência das solicitações mecânicas do material de forma progressiva, no intuito de evitar o *stress shielding*. Entretanto, a degradação do PLGA, assim como do PGA e PLA, provoca a formação de monômeros e oligômeros de caráter ácido (ácido lático e glicólico), modificando o pH ao redor do tecido com conseqüente efeito inflamatório, desnaturação de proteínas e dissolução da parte mineral do tecido ósseo (SANTOS *et al.*, 2012; YANG *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2013). Além disso, a rápida degradação do PLGA com conseqüente perda

de resistência mecânica, pode afetar a sua aplicação devido a problemas como o *stress shielding*.

A incorporação de biocerâmicas a este polímero visa melhorar a bioatividade e osteocondutividade do material, bem como, evitar a formação de acidez no meio fisiológico do paciente, devido à degradação do PLGA (JOSE *et al.*, 2009; REZWAN *et al.*, 2006). A similaridade dos fosfatos de cálcio com o osso humano, bem como suas características de biocompatibilidade e bioatividade, são fatores que contribuem para escolha deste material. Trabalhos relacionados a inserção destas biocerâmicas nestes biopolímeros incluem variação na composição, métodos de fabricação e avaliação clínica (REZWAN *et al.*, 2006)

Os fosfatos de cálcio combinados com polímeros bioreabsorvíveis, como o PLGA, PLA e PGA, alteram a osteogênese *in vivo*, consequência da osteocondutividade e osteointegração com o tecido proveniente da cerâmica bioativa. Os fosfatos de cálcio misturados com polímeros intensificam a atividade de fosfatase alcalina óssea, fator importante para a diferenciação de osteoblastos, que dita o processo de regeneração no interior do organismo (IGNJATOVIĆ *et al.*, 2007). Este fato irá conferir uma melhor adesão e diferenciação dos osteoblastos na superfície do tecido.

Além disso, presença das cerâmicas fosfocálcicas modificam o pH ao redor do tecido hospedeiro (devido ao caráter básico destas biocerâmicas) neutralizando o pH na região, contribuindo na diminuição da acidez proveniente dos produtos da degradação dos polímeros, uma liberação mais regular dos fragmentos do polímero e, principalmente, diminuindo respostas adversas (JOSE *et al.*, 2009; MEYER *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2007; URAL *et al.*, 2000). Trabalhos mostraram que a introdução de biocerâmicas, como β -TCP e α -TCP produziu um efeito de amortecimento no tecido com relação aos produtos ácidos da degradação, devido a dissolução da cerâmica no meio (MEYER *et al.*, 2012; YANG, BEST e CAMERON, 2009). Outro fator importante é que essas cerâmicas proporcionaram melhora nas propriedades mecânicas como resistência à compressão, resistência a flexão em 4 pontos e o módulo de Young (EHRENFRIED, PATEL e CAMERON, 2008).

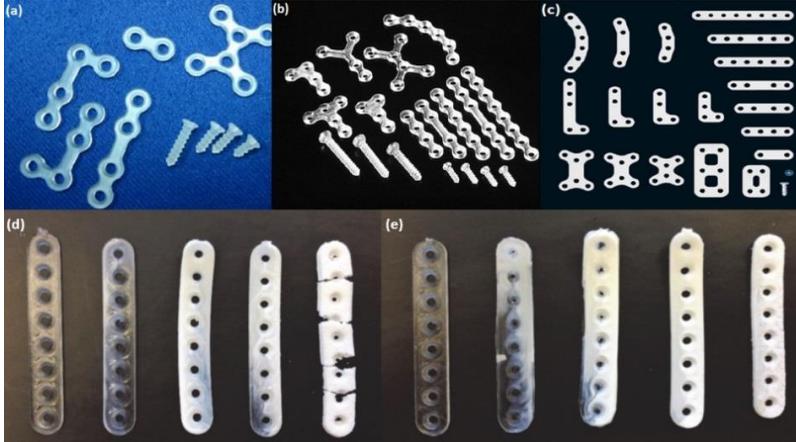
O estudo realizado por SHIKINAMI e OKUNO (1999) demonstrou que a combinação de nHA/PLLA alterou a hidrólise e fagocitose no implante *in vivo*, com conseqüente aumento da taxa de degradação. A taxa de degradação foi mais homogênea, liberando pequenos fragmentos em intervalos de tempo regulares, sem provocar respostas adversas. A bioatividade proveniente da HA e sua

osteocondutividade indicou ligação do biocompósito com o osso circundante. A morfologia de cristal proveniente desta combinação apresentou orientação multiaxial, conferindo alta resistência de modo uniforme em qualquer direção e resistência ao impacto e flexão notavelmente altos, e as amostras não quebraram até mesmo quando atingiram o limite de escoamento.

No desenvolvimento de biocompósitos como dispositivos para fixação de fratura óssea, muitos estudos e produtos comerciais aprovados focaram seus estudos no uso de PLA, principalmente PLLA, e seus copolímeros como matriz polimérica utilizando β -TCP e HA em sua composição (KANNO *et al.*, 2018; SHIKINAMI, e OKUNO, 1999; SHIKINAMI e OKUNO, 2001; SANTOS *et al.*, 2012). No entanto, algumas reações adversas foram relatadas usando PLA como perda de propriedades mecânicas do material, reações de corpo estranho e tardia resposta do tecido frente a degradação (KANNO *et al.*, 2018; BERGSMA *et al.*, 1995). Com base nisso, alternativas ao PLA têm sido estudadas, como PLGA e PDLA, devido à rápida degradação desses polímeros. Estudos demonstraram que o uso de PLGA 82:18 na fabricação de placas e parafusos não mostrou citotoxicidade, nem genotoxicidade em testes *in vitro*, indicando a segurança destes dispositivos, biologicamente e mecanicamente, para aplicação na osteossíntese em locais anatômicos sem carga (PARK *et al.*, 2013; MELO *et al.*, 2017). Algumas placas feitas de PLA disponíveis no mercado e estudo com placas feitas de PLGA, podem ser vistas na Figura 14.

Figura 14 - Sistemas de osteossíntese maxilofacial utilizando materiais bioreabsorvíveis disponíveis comercialmente a base de PLLA: sistemas (a) GRAND FIX®; (b) FIXORB-MX® e (c) GRAND FIX®. Placas bioreabsorvíveis craniofaciais feitas com PLGA 85:15 (PURASORB® PLG 8531) processados por injeção em (d)

baixa temperatura e (e) alta temperatura, ilustrando o efeito visual causado pela degradação em: 0, 15, 30, 60 e 120 dias, da esquerda para a direita, respectivamente.



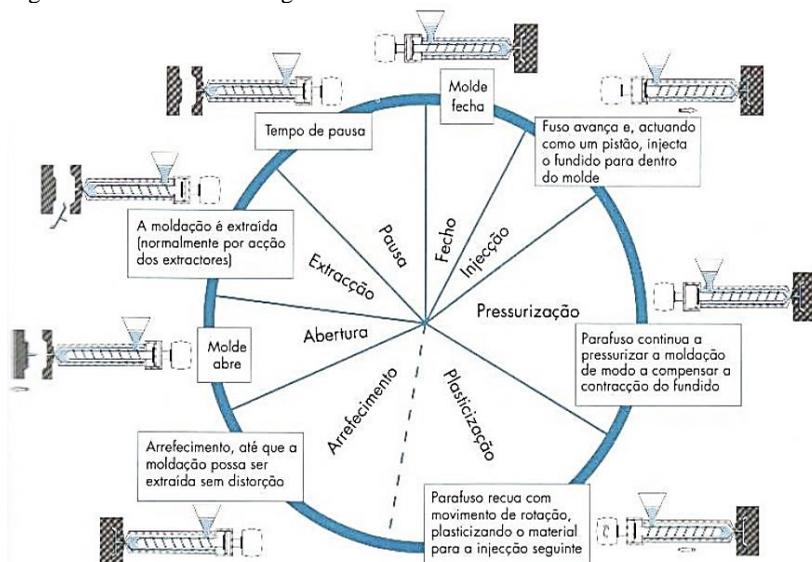
Fonte: adaptado de KANNO *et al.*, 2018 e MELO *et al.*, 2017.

2.5 Microinjeção

O processo de microinjeção consiste em transferir o material na forma de grânulos de um funil para uma unidade de plastificação, onde o mesmo é fundido. O material é então forçado, sob pressão, para dentro de uma cavidade do molde, onde é submetido a uma pressão de retenção por um tempo específico para compensar a contração do material. Depois de certo tempo, o material é resfriado ainda no molde, é ejetado e o ciclo é repetido (SURACE *et al.*, 2012). O ciclo de moldagem por injeção está ilustrado na Figura 15, com todas as etapas envolvidas no processamento.

No caso de algumas microinjetoras há duas roscas no equipamento, uma para a injeção e a segunda para fundição do material, a combinação destas duas roscas transporta a massa fundida sob pressão controlada e de forma contínua, desde a alimentação do material até a ponta da rosca de injeção. Isto permite que nestas microinjetoras sejam alcançadas massas mínimas de injeção de menos de um grama de massa e com alta precisão (ARBURG).

Figura 15 - Ciclo de moldagem.



Fonte: CUNHA, 2003.

O processo de microinjeção é uma das principais tecnologias para a produção de microcomponentes e micropeças sendo esta técnica eficaz na produção de peças microestruturadas em grandes volumes e com boa relação custo-benefício (GRANADO *et al.*, 2013). Este procedimento de fabricação pode ser definido como um processo de moldagem por injeção pelo qual são fabricadas peças com apenas alguns poucos miligramas (mg) e com dimensões de tolerância na casa dos micrometros (μm). A moldagem por microinjeção teve sua origem na adaptação às necessidades de produção de micropeças moldadas devido à dificuldade na moldagem por injeção convencional (COSTA, 2013).

Este processo é muito complexo em função do número de variáveis que afetam a qualidade da peça injetada. Para a obtenção de peças com qualidade desejada é necessário que haja um equilíbrio entre os parâmetros de injeção como tempo de injeção, temperatura do molde e do material injetado, pressão de injeção e recalque, tempo de resfriamento, volume do material injetado, dentre outros. Os canais de alimentação dos componentes moldados por microinjeção devem ter um tamanho adequado para não colocar tensão indevida de calor no material ao entrar na cavidade. Para os materiais sensíveis ao calor, tais como os polímeros bioabsorvíveis e biofarmacêuticas, o tempo de permanência no cilindro, bico e nos canais quentes de injeção devem ser compreendidos em relação

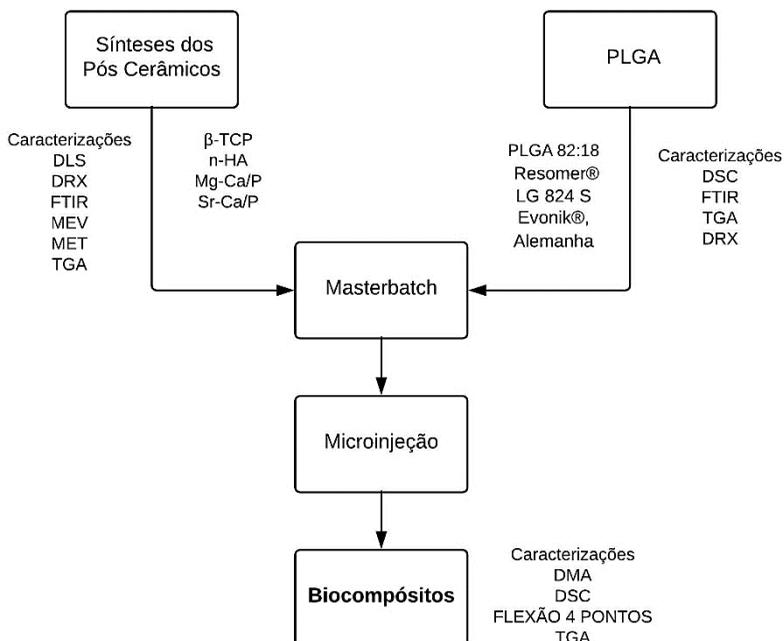
ao calor adicional que estes podem transmitir para o material durante a injeção (BIBBER, 2012).

Um dos problemas enfrentados no processo de microinjeção é a dificuldade de se projetar o sistema de resfriamento devido à dimensão do molde, onde em poucos centímetros está localizada a cavidade e o mecanismo de ejeção, o que gera uma variação de temperatura na peça, dependendo da geometria. Entretanto, o resfriamento do molde nem sempre é necessário, especialmente quando se deseja manter a temperatura do molde acima da temperatura de transição vítrea do polímero processado (SURACE *et al.*, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção do trabalho serão abordados os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento deste projeto. O trabalho teve como foco a produção de um material biocompósito de PLGA/fosfatos de cálcio. Serão detalhados os materiais, processos, caracterizações e equipamentos aplicados neste trabalho. Um resumo do projeto pode ser visto no fluxograma exibido na Figura 16.

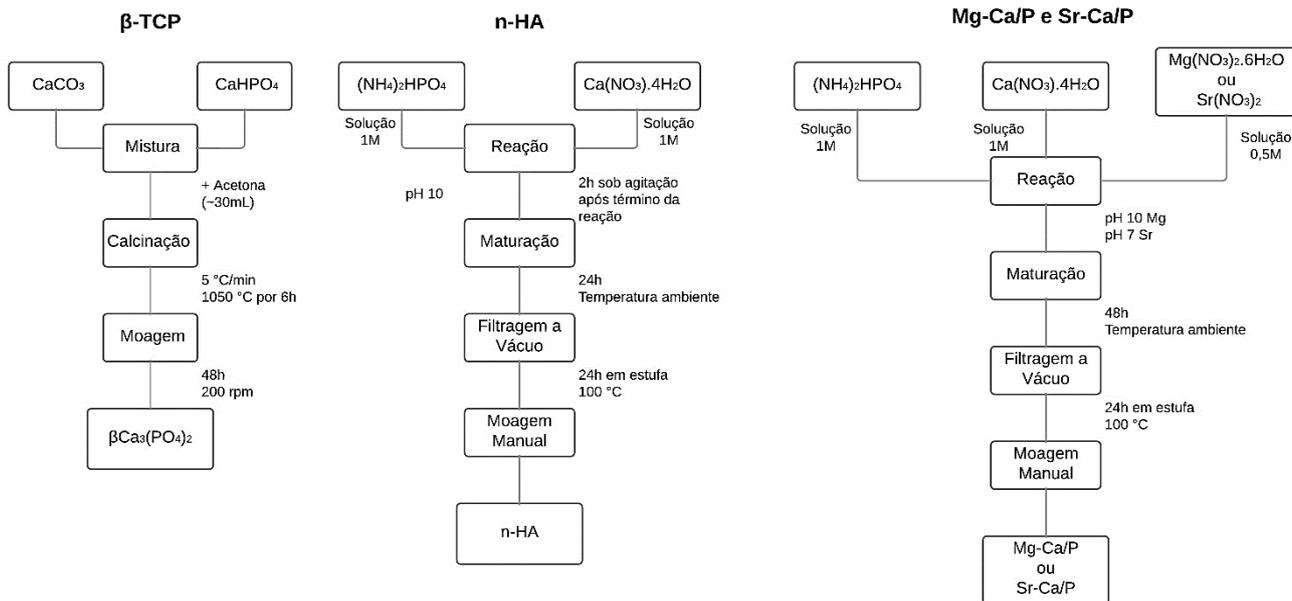
Figura 16 - Fluxograma das etapas do projeto de mestrado.



3.1 Sínteses dos Fosfatos de Cálcio

Os fosfatos de cálcio foram produzidos no Núcleo de Pesquisas em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT), localizado na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) conforme os fluxogramas da Figura 17.

Figura 17 - Fluxograma dos processos envolvidos nas sínteses das biocerâmicas de β -TCP, n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P.



3.1.1 β -Tricálcio Fosfato

A síntese do β -TCP foi realizada por meio da reação no estado sólido, segundo os procedimentos apresentados por Bernardino, 2016, com a adição do processo de moagem no final, conforme mostrado no fluxograma da Figura 17. Os reagentes utilizados foram fosfato de amônio bibásico anidro (também chamado de hidrogenofosfato de cálcio – CaHPO_4 , Synth®) e o carbonato de cálcio (CaCO_3 , Vetec®). A reação envolvida na síntese pode ser vista na equação (1), onde foi usada a proporção de 1:2 mol de CaCO_3 e CaHPO_4 . As proporções utilizadas dos reagentes estão na Tabela 7.



Tabela 7 - Proporções de reagente usados na síntese de β -TCP.

Reagentes	Fórmulas	Quantidade (g)
Carbonato de cálcio	CaCO_3	27,56
Fosfato de cálcio bibásico anidro	CaHPO_4	75

Para a síntese, os pós foram misturados em um almofariz, com adição de acetona para uma melhor homogeneização dos pós (aproximadamente 30 mL). Após isso, a mistura foi colocada em um forno mufla (JUNG J200) para calcinar a 1050 °C por 6 h, com uma taxa de aquecimento de 5 °C/min (totalizando 210 min) e posterior resfriamento lento. Por último, o pó foi colocado em um cadinho de ágata e moído em um moinho de alta energia (Retsch PM 100) por 48 h com velocidade aproximada de 200 rpm.

3.1.2 Hidroxiapatita nanoestruturada (n-HA)

A hidroxiapatita nanoestruturada foi produzida em via úmida pela síntese de solução precipitação, segundo método aplicado por Santos, 2011, retirando a etapa de calcinação. As soluções das matérias-primas usadas no processo foram preparadas com nitrato de cálcio tetra hidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (da marca Synth®) e fosfato de amônio dibásico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) (marca Neon®), ambos diluídos em água Mili-Q (água ultrapura, bidestilada e deionizada) fornecida pelo Laboratório Central de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME-UFSC). A reação envolvida na síntese pode ser vista na equação (2), e as proporções utilizadas dos reagentes na Tabela 8.



Tabela 8 - Proporções de reagente usados na síntese de n-HA.

Reagentes	Fórmulas	Quantidade (g/L)
Fosfato de amônio dibásico	$(\text{NH}_3)_2\text{HPO}_4$	13,20
Nitrato de cálcio tetrahidratado	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	39,42

Para o procedimento colocou-se a solução de fosfato de amônio dibásico em um Becker (1L) em cima de um agitador magnético (Gehaka AA-1840) e a solução de nitrato de cálcio tetrahidratado em uma bureta, gotejando sobre a solução de fosfato de amônio. A velocidade de agitação usada para síntese foi na faixa de 400 e 500 rpm. Para controle de variação de pH e da temperatura utilizou-se um pHmetro de bancada (da marca ION, código PHB-500) anexado ao Becker onde ocorre a reação de formação da hidroxiapatita nanoestruturada.

Para a manutenção do pH em 10, foram utilizados hidróxido de amônio (NH_4OH) e solução de ácido clorídrico (HCl), gotejados com pipetas plásticas manualmente. Após o término da reação, o Becker contendo o produto da síntese foi mantido sob agitação durante 2 h a 650 rpm.

Após a agitação, as amostras foram deixadas a temperatura ambiente em repouso por 24 horas. Depois do tempo de maturação as amostras foram filtradas a vácuo e então colocadas em uma estufa de circulação de ar a 100 °C por durante 24 horas. Após a secagem, o material foi moído em um almofariz de porcelana e o pó obtido foi guardado em tubo falcon.

3.1.3 Fosfatos de Cálcio dopados com Estrôncio e Magnésio

Os fosfatos de cálcio dopados foram produzidos em via úmida através de síntese de solução precipitação, seguindo basicamente os mesmos passos que os aplicados para a hidroxiapatita nanoestruturada, segundo método apresentado por (RABELO NETO, 2009). As soluções das matérias-primas usadas no processo foram preparadas com nitrato de cálcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Synth®), fosfato de amônio dibásico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) (Neon®) e nitrato de estrôncio ($\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ - da marca Neon®), para os fosfatos de cálcio dopados com magnésio, usou-se o nitrato de magnésio hexahidratado ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - Vetec®). Os reagentes foram todos diluídos em água Mili-Q fornecida CEBIME-

UFSC, no intuito de diminuir os efeitos de íons e ânions presentes na água na dopagem dos compostos. As reações envolvidas nas sínteses podem ser vistas nas equações (3) e (4), para a síntese com Mg usou-se solução com concentração molar de 0,5 M e de estrôncio também, porém durante a reação com magnésio o pH foi mantido a 10,00 e com estrôncio a 7,00. As proporções utilizadas dos reagentes na Tabela 9 e Tabela 10.

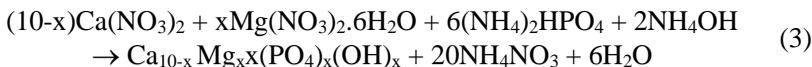


Tabela 9 - Proporções de reagente usados na síntese de Mg-Ca/P.

Reagentes	Fórmulas	Quantidade (g/L)
Fosfato de amônio dibásico	$(\text{NH}_3)_2\text{HPO}_4$	13,20
Nitrato de cálcio tetrahidratado	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	39,42
Nitrato de magnésio hexahidratado	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	128,21

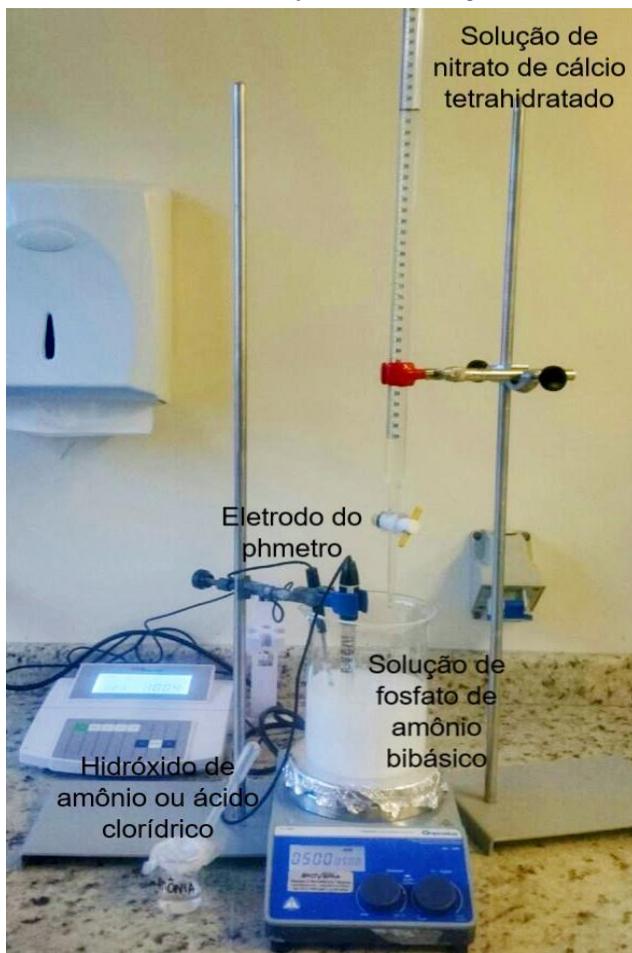


Tabela 10 - Proporções de reagente usados na síntese de Sr-Ca/P.

Reagentes	Fórmulas	Quantidade (g/L)
Fosfato de amônio dibásico	$(\text{NH}_3)_2\text{HPO}_4$	13,20
Nitrato de cálcio tetrahidratado	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	39,42
Nitrato de estrôncio	$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$	105,81

Para o procedimento colocou-se a solução de fosfato de amônio dibásico em um Becker em cima de um agitador (Gehaka AA-1840) e as soluções de nitrato de cálcio tetrahidratado e nitrato de estrôncio ou nitrato de magnésio hexahidratado em buretas separadas, gotejando sobre a solução de fosfato de amônio. A velocidade de agitação usada para síntese foi na faixa de 400 e 500 rpm. Para controle de variação de pH e da temperatura utilizou-se de um pHmetro de bancada (da marca ION, código PHB-500) Becker onde ocorre a reação de formação dos fosfatos de cálcio. O aparato utilizado está ilustrado na Figura 18.

Figura 18 - Aparato utilizado na síntese de solução precipitação da hidroxiapatita e dos fosfatos de cálcio com substituição iônica de magnésio e estrôncio.

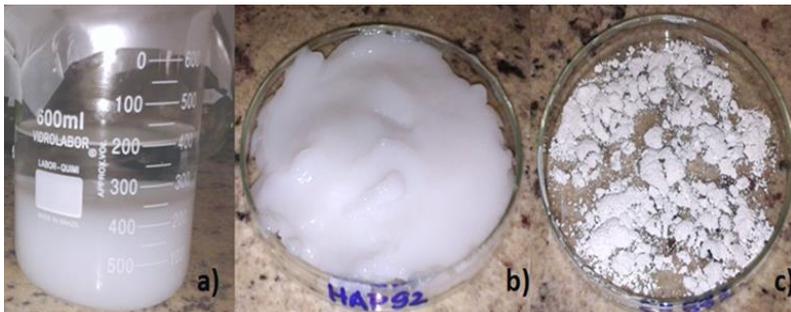


Para o controle do pH foram utilizados hidróxido de amônio (NH_4OH) e solução de ácido clorídrico (HCl), gotejados com pipetas plásticas manualmente.

Após a produção, as amostras passaram por um tempo de maturação nos respectivos Becker onde foram produzidas, fechadas com uma camada de *parafilm*. As amostras foram deixadas a temperatura ambiente em repouso por 48 horas. Depois do tempo de maturação as amostras foram filtradas a vácuo e então colocadas em uma estufa a

100 °C por durante 24 h. Estas etapas podem ser visualizadas na Figura 19.

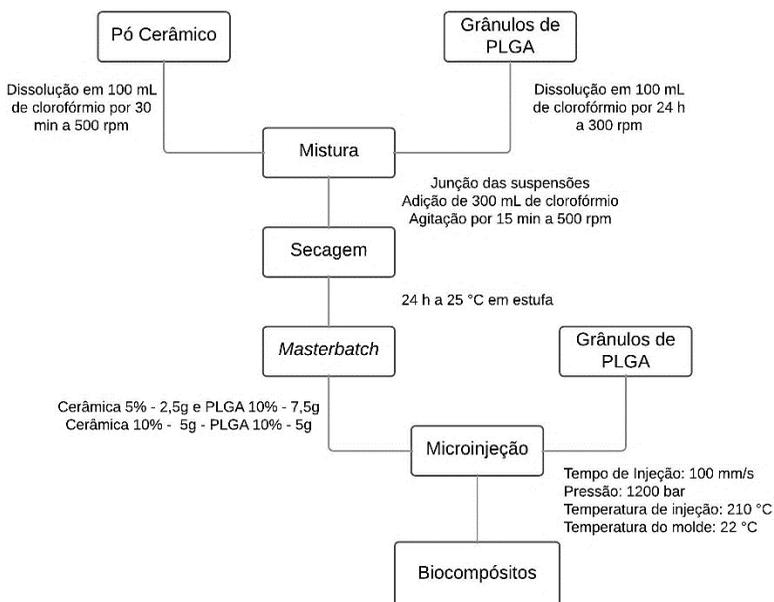
Figura 19 - a) foto ilustrada das amostras maturadas por 48 horas; b) figura de uma das amostras após a filtragem; c) foto de uma amostra após 24 horas na estufa a 100 °C.



3.2 Fabricação dos biocompósitos

A fabricação dos biocompósitos seguiu diversas etapas, que podem ser vistas com detalhes no fluxograma da Figura 20.

Figura 20 - Fluxograma das etapas de processamento dos biocompósitos.



Nove grupos de biocompósitos foram injetados, as simbologias utilizadas no trabalho referente composição dos grupos fabricados estão descritas na Tabela 11.

Tabela 11 - Composição em % em massa e siglas das amostras usadas no trabalho

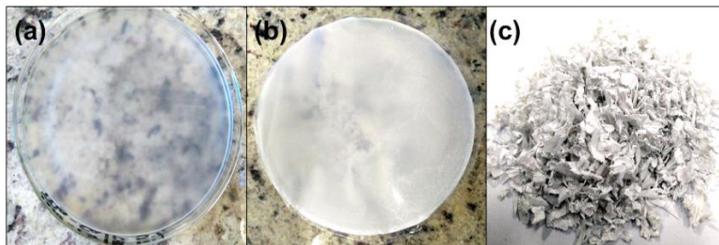
Cerâmica	Amostra	Composição (% em massa)
Nenhuma	PLGA	PLGA 100%
β -TCP	5% β -TCP	PLGA 95% e 5% β -TCP
	10% β -TCP	PLGA 90% e 10% β -TCP
n-HA	5%n-HA	PLGA 95% e 5%n-HA
	10%n-HA	PLGA 90% e 10%n-HA
Mg-Ca/P	5%Mg-Ca/P	PLGA 95% e 5%Mg-Ca/P
	10%Mg-Ca/P	PLGA 90% e 10%Mg-Ca/P
Sr-Ca/P	5%Sr-Ca/P	PLGA 95% e 5%Sr-Ca/P
	10%Sr-Ca/P	PLGA 90% e 10%Mg-Ca/P

3.2.1 Mistura dos materiais

Após a produção dos pós de fosfato de cálcio, iniciou-se o processo de fabricação do biocompósito. Parte do compósito foi fabricada por meio da formação do *masterbatch* (filme contendo os fosfatos de cálcio dispersos no PLGA) para a injeção do material. O PLGA utilizado no trabalho foi o copolímero PLGA 82:18 (Resomer® LG 824 S da marca Evonik®).

A fabricação do *masterbatch* foi feita com a diluição 5 g de PLGA em 100 mL clorofórmio por 24 h, a uma velocidade de 300 rpm a temperatura ambiente. Após este período, diluiu-se as biocerâmicas (2,5 g para composições com 5% e 5 g para as composições com 10% em massa) em 100 mL de clorofórmio, por 30 min no intuito de dispersar o pó para uma melhor homogeneização da mistura. Então, passados os 30 min de dispersão dos pós, esta mistura foi incorporada à mistura de polímero diluído, e mais 300 mL de clorofórmio foram adicionados à mistura, que foi deixada por 15 min em agitação a 500 rpm. Por fim, a mistura foi vazada em placas de Petri e colocada na estufa a 25 °C por 24 h, como mostrado na Figura 21. O filme formado foi triturado e misturado ao PLGA puro para injeção do material. A etapas de fabricação do *masterbatch* estão ilustradas na Figura 21.

Figura 21 - Ilustração das etapas de formação do *masterbatch*: (a) imagem da mistura de PLGA e cerâmica, vazada na placa de petri antes da secagem, (b) mistura aposta a secagem, formando o filme de *masterbatch* e, (c) *masterbatch* triturado que foi misturado aos grânulos de PLGA na microinjeção.

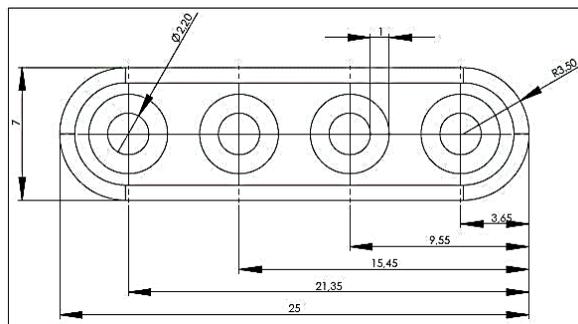


3.2.2 Microinjeção dos biomcompósitos

Para a formação de biocompósitos, os filmes de *masterbatch* fabricados foram cortados manualmente em pequenos pedaços e depois misturados com os grânulos de PLGA, na proporção em massa correta para a formação das composições desejadas. Esta mistura foi colocada no funil de alimentação do injetora.

O biocompósito injetado foi fabricado em molde fabricado de acordo com desenho técnico, feito em software CAD 3D SolidWorks 2008, mostra na Figura 22, a placa possui 36,5 mm de comprimento, 7 mm de largura e 1,3 mm de espessura contendo 4 furos alinhados com parafuso semicircular de 2,20 mm de diâmetro. Os biocompósitos foram processados em uma injetora modelo Arburg 270-A, com tempo de injeção de 100 mm/s, pressão de 1200 bar, temperatura de injeção de 210 °C e temperatura do molde de 22 °C.

Figura 22 - Desenho mecânico da placa de biocompósito fabricada e suas dimensões.



3.3 Caracterizações

3.3.1 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) dos biocompósitos deste trabalho foi realizada em um equipamento TA Instruments SDT modelo Q600, no Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (Vitrocer) do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram utilizadas amostras de até 10 mg em cadinhos de platina, submetidas à atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min e, ciclo de aquecimento com a temperatura variando de 25 até 600 °C, na razão de aquecimento de 10 °C/min.

Para as biocerâmicas os parâmetros usados foram amostras na forma de pó com até 20 mg de em cadinhos de alumina, submetidas à atmosfera de ar com fluxo de 100 mL/min e, ciclo de aquecimento com a temperatura variando de 25 até 1400 °C, na razão de aquecimento de 10 °C/min.

3.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O ensaio de DSC foi realizado em um equipamento Shimadzu modelo DSC-50, Grupo de Estudo em Materiais Poliméricos (POLIMAT) do Departamento de Química da UFSC. Foram utilizadas amostras de aproximadamente 10 mg em cadinhos de alumínio, submetidas à atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min usadas em duas corridas diferentes. A primeira corrida foi feita de 20 a 150 °C com taxa de 10 °C/min, com intuito de apagar o histórico térmico do material. A segunda corrida ocorreu a partir do resfriamento da amostra com nitrogênio até -50 °C com subsequente aquecimento até 200 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

3.3.3 Difração de raio-x (DRX)

A análise de DRX dos pós cerâmicos e do filme de PLGA foi realizada no Laboratório de Caracterização de Materiais (LCM) do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina. O equipamento utilizado foi da marca Philips, modelo X'Pert, com fonte de cobre Cu K α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$). Usou-se aproximadamente 10 mg de pó cerâmico e para o polímero foi utilizado um filme polimérico fabricado pela dissolução do PLGA em clorofórmio com posterior secagem a temperatura ambiente (~25 °C).

3.3.4 Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico (DLS)

As análises foram realizadas utilizando o equipamento modelo Zetasizer Nano-series ZEN3600, da marca Malvern. A preparação das amostras foi efetuada usando 10 mg do pó das cerâmicas, que foram colocados em um Becker com 50 mL de álcool etílico absoluto e 0,5 mL de dispersante Dolapix CE 64, levados para sonicamento em ultrassom por 5 min para desaglomerar as partículas. Após isso, a solução foi colocada no suporte do equipamento e realizada a análise em triplicata.

3.3.5 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR foi realizado em um espectrofotômetro de infravermelho da marca Bruker modelo TENSOR 27, localizado no Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Compósitos (POLICOM), do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC. As análises de FTIR foram obtidas com 32 varreduras e uma resolução de 4 cm^{-1} , na faixa de 3000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , usando discos das cerâmicas compactadas e um filme de PLGA para a análise do polímero.

3.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise de MEV foi feita em um equipamento Hitachi modelo TM 3030, do Núcleo Pesquisa em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT) do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC. As amostras foram recobertas com ouro pelo Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), também da UFSC, e analisadas com voltagem de aceleração de 15 kV com aumentos de 2000 e 5000x no intuito de avaliar a morfologia das amostras cerâmicas empregas no projeto.

3.3.7 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

O equipamento utilizado na análise de MET foi o da marca Jeol, modelo JEM-1011, a 100 k, localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) na UFSC. Para a preparação da amostra aproximadamente 0,05 g do material em pó foi adicionado a um Becker de 25 mL com álcool etílico absoluto (da marca Neon®). A solução foi

colocada por 30 segundos em um ultrassom Sonics Vibra-Cell, modelo VCX750. Após isso, com uma pipeta de plástico de 5 mL, gotejou-se a solução em um grid de cobre, que foi deixado em repouso por cerca de 12 h para a evaporação do álcool.

3.4 Ensaios Mecânicos

3.4.1 Análise dinâmico-mecânica (DMA)

O ensaio foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Compósitos (POLICOM), do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC, em um equipamento Netzsch modelo DMA 242. A garra utilizada foi a de flexão em dois pontos (*single cantilever*) com temperatura de ensaio de 30 a 80 °C, taxa de aquecimento de 3 °C/min, frequência fixa de 10 Hz e em atmosfera de nitrogênio.

3.4.2 Flexão em 4 pontos

O ensaio de flexão consiste na aplicação de uma carga no ponto central de uma barra biapoiada. Inicialmente, essa carga é zerada e seu valor é aumentado com o tempo, até que ocorra a ruptura do corpo-de-prova. Pode ser realizado em três ou quatro pontos, dependendo da maneira como a barra recebe a força aplicada.

Os ensaios de flexão em 4 pontos foram realizados na empresa SCiTec, localizada em Palhoça-SC em um equipamento universal de ensaio EMIC com uma célula de carga de 50 N. O ensaio foi baseado na norma ASTM F2502-17 - *Standard Specification and Test Methods for Absorbable Plates and Screws for Internal Fixation Implants*, que visa obter os valores de força de produtos acabados. Utilizou-se 5 corpos de prova de cada composição, sendo que as respostas avaliadas relativas a força e deformação das peças.

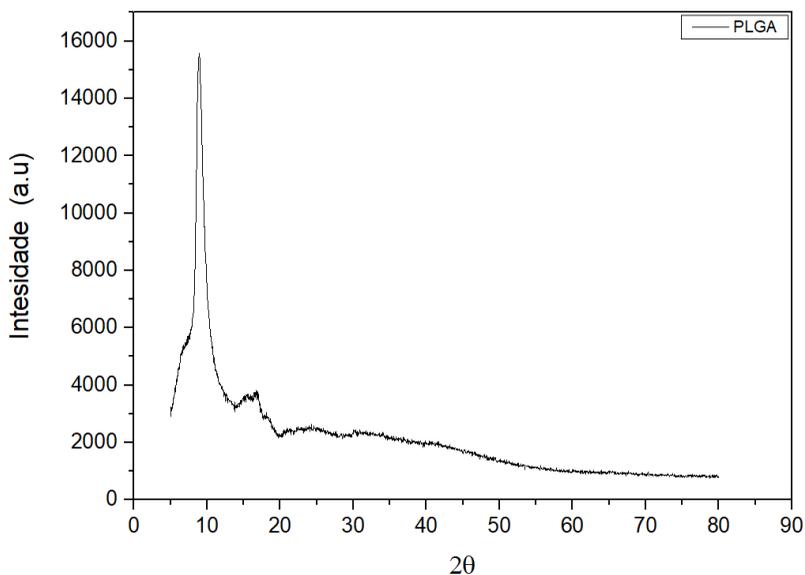
4 ANÁLISES E RESULTADOS

4.1 Matérias-primas

4.1.1 Difração de raio-x (DRX)

A Figura 23, mostra a análise de XRD do polímero PLGA, feito obtida a partir de um filme do polímero. O difratograma de PLGA exibe dois picos: a $8,92^\circ$ (2θ) com grande intensidade e a $16,65^\circ$ (2θ) com menor intensidade e mais alargado. Estes picos são indicativos que o polímero usado no trabalho é semicristalino. Isto vai de encontro com informações da literatura, o qual apresentam PLGA com composições muito próximas a trabalhada como sendo amorfo, mas isso pode ser justificado pelo fato que a maioria dos trabalhos utiliza PLGA com mistura racêmica dos estereoisômeros de ácido lático, e o polímero utilizado no trabalho utiliza-se apenas de L-lactídeo, estereoisômero de caráter cristalino, assim como o ácido glicólico. Resultados semelhantes foram encontrados na literatura, mostrando que além da composição o processo de fabricação e tratamentos térmicos podem afetar o difratograma do PLGA (PARK e KANG, 2013; ADHIKARI *et al.*, 2014).

Figura 23 - Difratograma de raio-x do filme de PLGA puro.



No difratograma da Figura 24 identificou-se a presença de β -TCP definido segundo a carta JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) a formação apenas da fase de β -tricálcio fosfato (PDF 01-072-7587). Para o pó de hidroxiapatita (Figura 25), também se observou a formação da hidroxiapatita (PDF 00-009-0432), porém ocorreu o alargamento dos picos, devido a formação de estrutura nanocrystalina e, além disso, nota-se a formação de fase amorfa, devido a modificação na linha base do difratograma.

Figura 24 - Difratograma de raio-x da cerâmica de β -TCP com a devida identificação de fases presentes (β -TCP - PDF 01-072-7587).

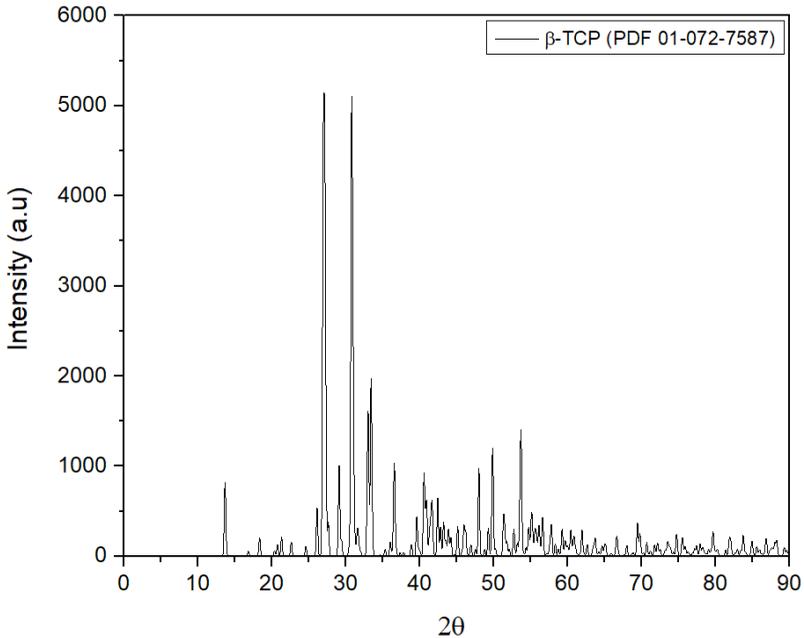
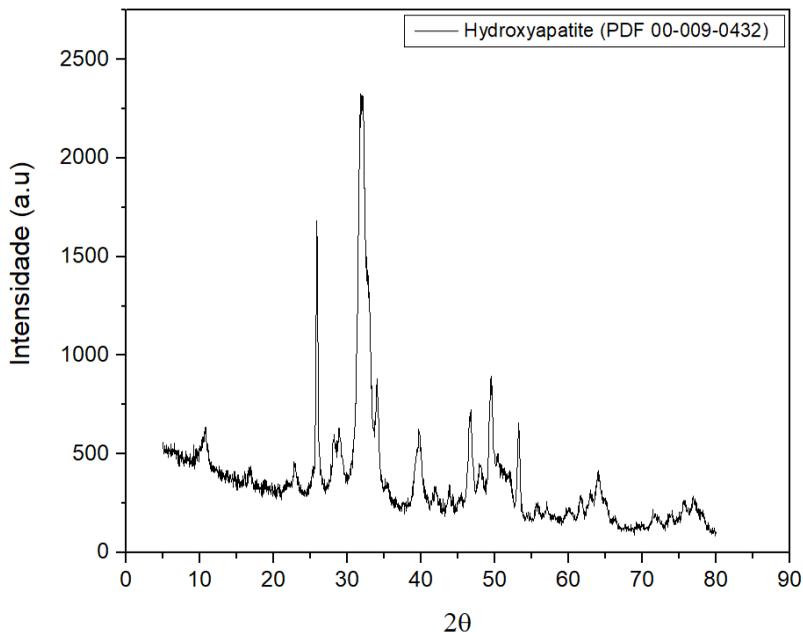


Figura 25 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de n-HA com a devida identificação de fases presentes (HA - PDF 00-009-0432).



Nos difratogramas das biocerâmicas de Mg-Ca/P e Sr-Ca/P (Figura 26 e Figura 27, respectivamente), vemos que a introdução de Sr e Mg originou a formação de hidroxiapatita e as fases de fosfato dicálcico dihidratado (DCPD, também chamado de brushita) e fosfato dicálcico anidro (DCPA ou DCP, também conhecido como monetita). A formação dessas fases está ligada a introdução dos íons metálicos de Sr e Mg na síntese hidroxiapatita, sabe-se que tanto DCPA como DCP são fases precursoras para a formação de hidroxiapatita, a inserção dos íons pode ter dificultado a formação da estrutura da hidroxiapatita, levando assim a identificação de considerável quantidade dessas fases nos espectros (RABELO NETO, *et al.*, 2015). Para a biocerâmica de Sr-Ca/P as fases identificadas foram: hidroxiapatita monoclinica (PDF 01-076-0694), brushita (PDF 01-009-0077) e monetita (PDF 01-070-1425). No difratograma relativo ao Mg-Ca/P as fases identificadas foram: hidroxiapatita monoclinica (PDF 01-076-0694), brushita (PDF 01-072-0713) e monetita (PDF 01-077-0128). Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos da literatura (RABELO NETO, 2015; RABELO NETO, *et al.*, 2015).

Figura 26 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de Mg-Ca/P com a devida identificação de fases presentes (HA - PDF 01-076-0694, brushita - PDF 01-072-0713 e monetita - PDF 01-077-0128).

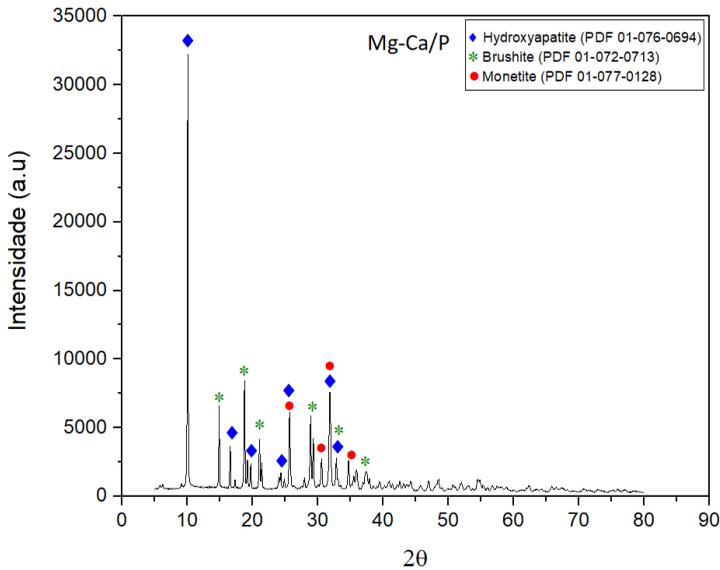
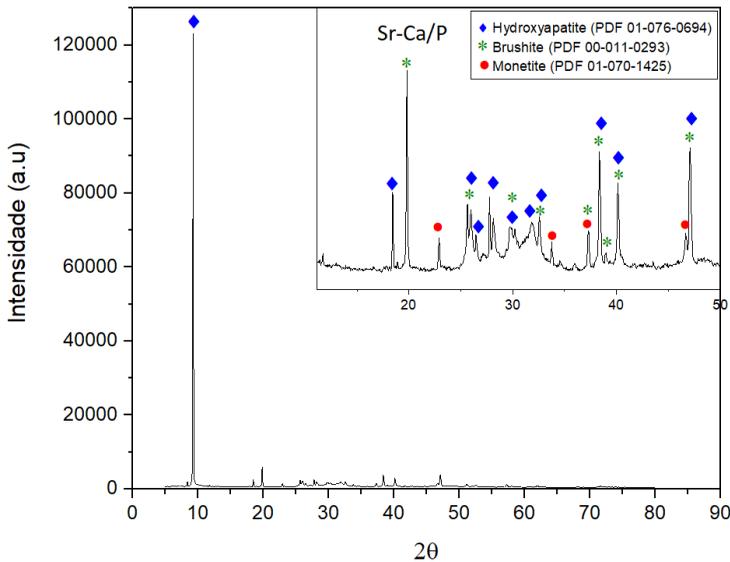


Figura 27 - Difratoograma de raio-x da cerâmica de Sr-Ca/P com a devida identificação de fases presentes (HA - PDF 01-076-0694, brushita - PDF 01-011-0293 e monetita - PDF 01-070-1425).



4.1.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O espectro de FTIR do filme de PLGA é apresentado na Figura 28. As bandas foram identificadas com base em trabalhos encontrados na literatura (ERBETTA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2015), os quais apresentaram as bandas características de diversas composições de copolímeros de PLGA. No espectro do PLGA observa-se 2943 e 2997 cm^{-1} e 1360 e 1382 cm^{-1} bandas com baixa absorção referentes deformação assimétrica angular dos grupos CH_2 e CH_3 , característica de vibrações do “tipo wag” e de grupos ésteres. Em 1750 cm^{-1} há uma banda intensa peculiar ao estiramento da carbonila ($\text{C}=\text{O}$), presente nos dois monômeros que compõe o polímero. Outras bandas intensas foram observadas em 1084 e 1180 cm^{-1} caracterizadas pelo estiramento do grupo ($\text{C}-\text{O}$). Em 1452 cm^{-1} nota-se a banda característica da deformação simétrica angular dos grupos CH_2 e CH_3 . Por fim, em 870 cm^{-1} verifica-se a banda de estiramento do grupo ($\text{C}-\text{COO}$) seguida da banda de 754 cm^{-1} característica da deformação do grupo (CH). As bandas de absorção identificadas e as atribuições referidas a estas, estão resumidas na Tabela 12.

Figura 28 - Espectro de FTIR do filme de PLGA puro.

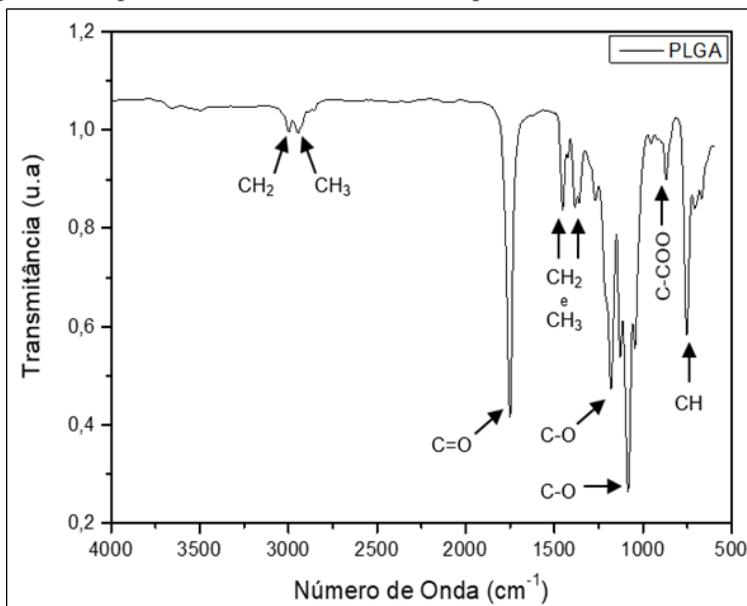


Tabela 12 - Atribuições das bandas de absorção do infravermelho para o PLGA.

Banda de Absorção (cm^{-1})	Atribuições
2943-2997	Deformação assimétrica angular dos grupos CH_2 e CH_3
1750	Estiramento do grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$)
1452	Deformação simétrica angular dos grupos CH_2 e CH_3
1360-1382	Deformação assimétrica angular dos grupos CH_2 e CH_3
1084-1180	Estiramento do grupo C-O
870	Estiramento do grupo C-COO
754	Deformação do grupo CH

A análise de FTIR também foi realizada nas cerâmicas, a fim de identificar as mesmas e observar as diferenças no espectro entre elas. O espectro de infravermelho apresentado na Figura 29 e Tabela 13, mostram as bandas de absorção das biocerâmicas, em posições características dos fosfatos de cálcio. Basicamente os fosfatos de cálcio são identificados pelas bandas de grupos ortofosfatos como PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} e H_2PO_4^- e também grupos de carbonatos (CO_3^{2-}), a ligação O-H e pela presença de água adsorvida (REY *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2010). Observa-se as bandas vibracionais de OH relacionadas a H_2O presente na forma adsorvida nos fosfatos de cálcio, essas bandas são observadas em $1650\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ e 3400 cm^{-1} , exceto para β -TCP que devido a sua rota, realizada através do estado sólido, não possui moléculas de água adsorvidas em sua composição. Em seguida nota-se a banda de água adsorvida, relativamente larga, de 2800 a 3050 cm^{-1} . As bandas do grupo PO_4^{3-} , são encontradas em todas as cerâmicas nas regiões de $615\text{-}671\text{ cm}^{-1}$ e com um pico de maior intensidade entre $1040\text{-}1095\text{ cm}^{-1}$. Entre essas regiões, exceto no β -TCP, temos também a presença de bandas do grupo carbonato (CO_3^{2-}) em 881 cm^{-1} e em $1380\text{-}1480\text{ cm}^{-1}$, que pode ser explicado pela diferença de rota de fabricação entre o β -TCP e as outras biocerâmicas, pois a rota por solução precipitação favorece a incorporação de CO_3^{2-} na estrutura da hidroxiapatita, diminuindo a cristalinidade e o tamanho dos cristais e aumenta sua solubilidade (REY *et al.*, 2014).

Figura 29 - Espectro de FTIR das biocerâmicas: n-HA, β -TCP, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P.

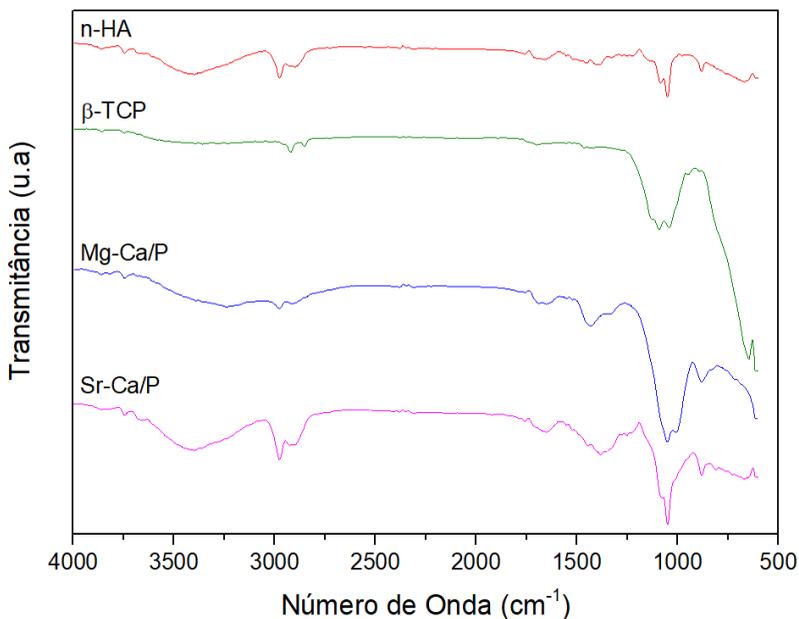


Tabela 13 - Atribuições das bandas de absorção do infravermelho para as biocerâmicas de β -TCP, n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P.

Banda de Absorção (cm ⁻¹)	Atribuições
3400	Banda vibracional do OH da molécula de H ₂ O adsorvida
2800-3050	Bandas vibracionais da molécula de H ₂ O adsorvida
1650-1680	Bandas vibracionais de OH da molécula de H ₂ O adsorvida
1380-1480	Bandas do grupo carbonato (CO ₃ ²⁻)
1040-1095	Bandas do grupo fosfato (PO ₄ ³⁻)
881	Bandas do grupo carbonato (CO ₃ ²⁻)
615-671	Bandas do grupo fosfato (PO ₄ ³⁻)

As bandas do infravermelho podem sofrer alterações com a introdução de íons na estrutura dos fosfatos de cálcio. Os picos tendem a manter-se consistentes em relação ao número de onda, porém são deslocados e alargados com a substituição de cátions grandes e pesados no lugar de um cátion pequeno e leve, devido a alteração no volume da

célula unitária e à taxa de substituição desses íons (REY *et al.*, 2014). O alargamento da banda pode ser relacionado à irregularidade do arranjo atômico, devido a deformação de rede. Segundo Rey *et al.*, 2014, conforme a taxa de substituição aumenta, intensifica-se a deformação na rede, ocasionando o alargamento da banda. Isso pode ser verificado nos espectros das biocerâmicas (Figura 29) com substituição iônica comparadas a hidroxiapatita nanoestruturada, fica evidente em Sr-Ca/P e Mg-Ca/P o alargamento e deslocamento das bandas das cerâmicas a níveis menores de transmitância.

4.1.3 Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz (DLS)

A distribuição e tamanho das partículas tem papel importante no processamento dos biocompósitos, bem como o seu conhecimento é necessário para avaliação das taxas de degradação, adsorção e precipitação desses materiais com os sistemas biológicos.

As análises de distribuição de tamanho de partícula podem ser vistas na Figura 30. Com exceção do Mg-Ca/P, as biocerâmicas apresentaram boa dispersão na distribuição do tamanho de partícula, com maior concentração em valores de tamanhos caracterizados por partículas finas (100 e 2500 nm). Os tamanhos médios de tamanho de partícula e os índices de polidispersão das medidas realizadas estão na Tabela 14. Como esperado pela rota de síntese selecionada, a hidroxiapatita foi a biocerâmica que apresentou o menor tamanho médio de partículas, em torno de 140 nm, fato comprovado pelo histograma de distribuição de tamanho de partícula, que mostra uma concentração de partículas na faixa abaixo de 1000 d.nm. As outras biocerâmicas, apresentaram tamanho médio de partícula superiores, em torno de 560 nm para o β -TCP, 500 nm para o Sr-Ca/P e, com maior tamanho médio das biocerâmicas o Mg-Ca/P com 3,31 μ m. As faixas de valores superiores a 2000 d.nm, caracteriza-se pela formação de aglomerados dessas partículas. Com relação a polidispersão, o β -TCP apresentou valores menores (em torno de 0,484), mostrando uma distribuição mais homogênea de suas partículas.

O β -TCP apresentou tamanho de partícula menor se comparado ao estudo feito por Bernardino, 2016, que utilizou a mesma rota e obteve tamanho de partícula em torno de 15 μ m, porém o mesmo não utilizou o processo de moagem no final da síntese, o que pode ter acarretado maior tamanho de partícula.

Figura 30 - Distribuição do tamanho de partícula das biocerâmicas de fosfato de cálcio, feito em triplicata: (a) β -TCP; (b) n-HA; (c) Mg-Ca/P e (d) Sr-Ca/P.

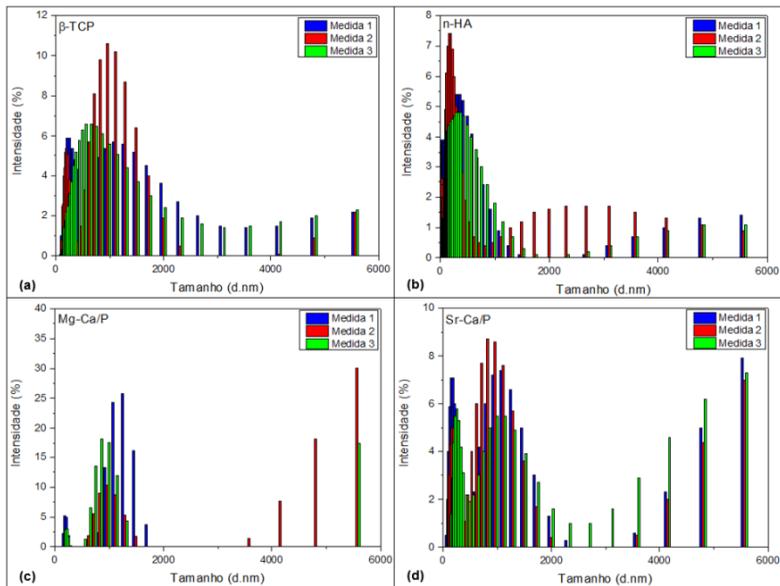


Tabela 14 - Dados das análises de distribuição de tamanho de partícula realizados com as biocerâmicas.

Material	Tamanho de Partícula (d.nm)				
	Medida	DLS (d.nm)	PDI	Média	Desvio Padrão
β -TCP	1	551,6	0,479	564,8	45,9
	2	615,9	0,485		
	3	526,9	0,488		
n-HA	1	147,2	0,497	140,0	7,5
	2	132,2	0,685		
	3	140,7	0,523		
Mg-Ca/P	1	3180	3180	3311	261,4
	2	3141	3141		
	3	3612	3612		
Sr-Ca/P	1	507,7	507,7	507,3	9,0
	2	516,2	516,2		
	3	498,1	498,1		

Tamanhos de partículas semelhantes aos encontrados neste trabalho nas cerâmicas de n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, foram observados

em diversos trabalhos na literatura analisando as mesmas biocerâmicas utilizadas nesta pesquisa, porém, deve-se levar em consideração as diferentes quantidades de inserções dos íons e adições de etapas de calcinação podem levar a ao aumento ou diminuição das partículas (RUIZ-AGUILAR *et al.*, 2018; YUAN *et al.*, 2013)

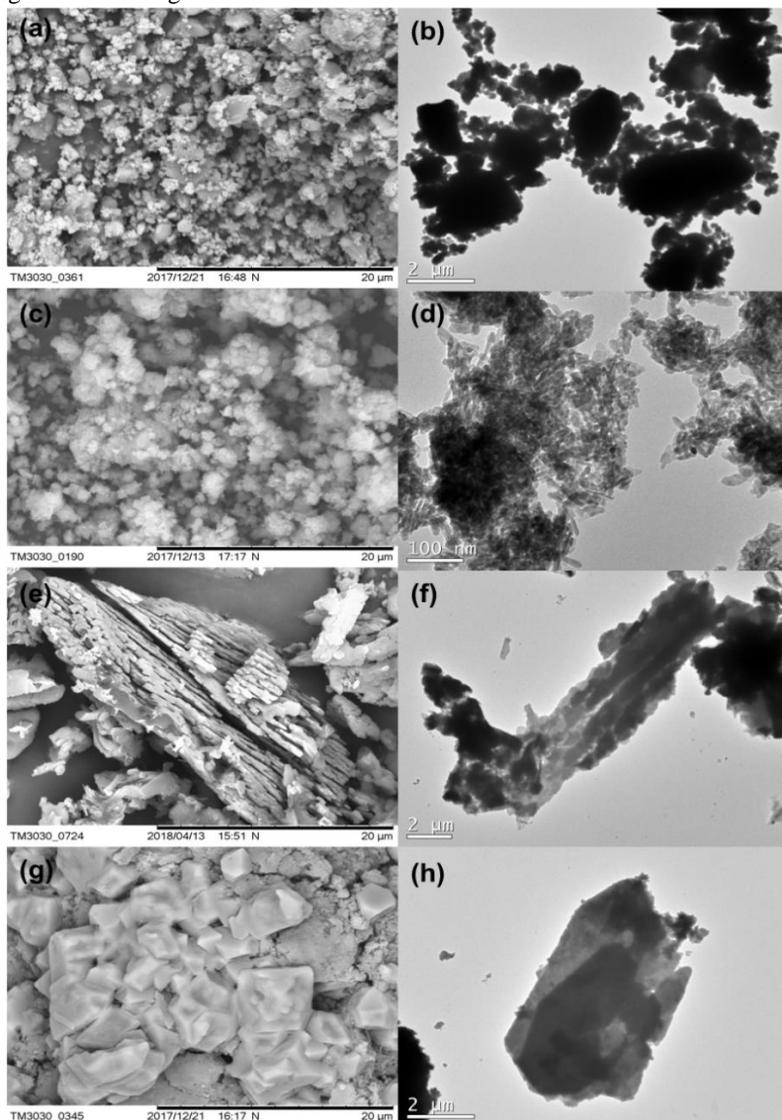
4.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens obtidas pela análise das cerâmicas no microscópio eletrônico de varredura mostraram as diferentes morfologias obtidas pelos pós biocerâmicos. A análise dos pós β -TCP pela técnica de MEV (Figura 31 - (a) e (b)), mostra a formação de partículas com formas irregulares, distribuídas em diferentes tamanhos e formação de aglomerados, fato evidenciado também pela análise da distribuição granulométrica e pela análise de MET (Figura 31 - (a) e (b)), que mostram a formação de grandes aglomerados e também pequenas partículas dispersas com morfologia aleatória espalhada por toda a estrutura, semelhante aos encontrados em outros estudos com o β -TCP (KATOH *et al.*, 2010; CHAAIR, LABJAR e BRITEL, 2017). Nas imagens de MEV e MET (Figura 31 – (c) e (d)) referentes a n-HA temos a formação de estruturas com morfologias irregulares e esféricas, de tamanhos menores se comparados ao β -TCP. Além disso, foi possível observar certa rugosidade na superfície das partículas, principalmente nas estruturas esféricas, característica da HA mostrada em outras pesquisas usando esta biocerâmica (D'ELÍA *et al.*, 2013; KUŚNIERUK *et al.*, 2016). Todos os resultados obtidos nas imagens de MET corroboram com as informações analisadas no MEV e DRX. As imagens do MET mostram que as partículas de hidroxiapatita formam estruturas do tamanho de nanômetros, com um tamanho próximo a 20 nm, um resultado que é contrário ao obtido no teste DLS, que apresentou valores em torno de 140 nm. Isso se deve à grande formação de aglomerados de partículas nanométricas, que podem ser evidenciadas em imagens MEV da n-HA (Figura 31 - (c)).

As micrografias do Mg-Ca/P (Figura 31 – (e) e (f)) mostram a formação plana e lamelar, característica da estrutura monetita e a formação de bastonetes, respectivo a fase brushita (CHENG *et al.*, 2015). Nas imagens das biocerâmicas de Sr-Ca/P vimos outras características da estrutura da brushita, onde ela pode aparece em hábitos cristalinos diferentes, formando estruturas prismáticas, em forma de losangos,

pseudo hexagonal ou pseudo-octagonal, como pode ser visto na Figura 31 – (g) e (h) (TOSHIMA *et al.*, 2015; ROCHA *et al.*, 2017).

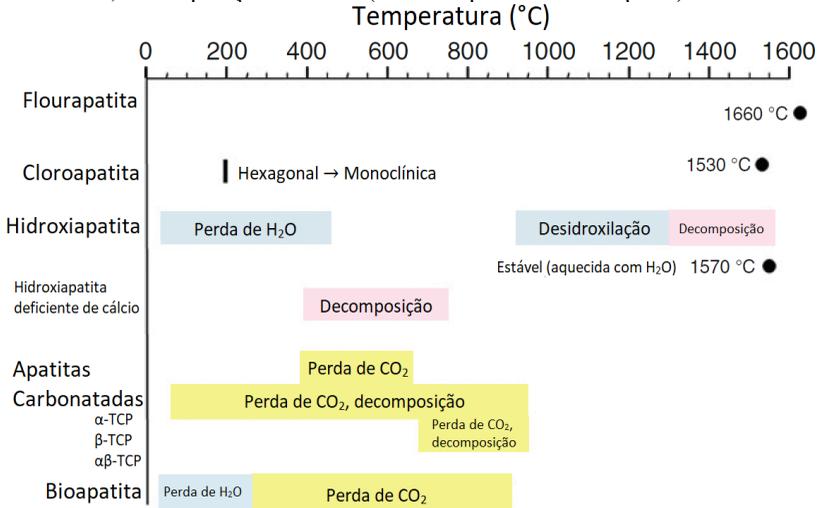
Figura 31 - Micrografias das análises de MEV e TEM das biocerâmicas.



4.1.5 Análise termogravimétrica (TGA) das biocerâmicas

As biocerâmicas foram investigadas pela análise de TGA, no intuito de conhecer os eventos de perda de massa das mesmas com o aumento da temperatura, a fim de correlacionar estes eventos com a degradação térmica dos biocompósitos e obter a massa real de cerâmica na composição dos biocompósitos. No geral, as cerâmicas de fosfatos de cálcio apresentam alguns eventos semelhantes em sua decomposição, sendo estes afetados pela sua composição e método de fabricação. A Figura 32 ilustra os eventos térmicos que ocorrem em diversas apatitas e foi usado como base para a análise de TGA das biocerâmicas deste trabalho.

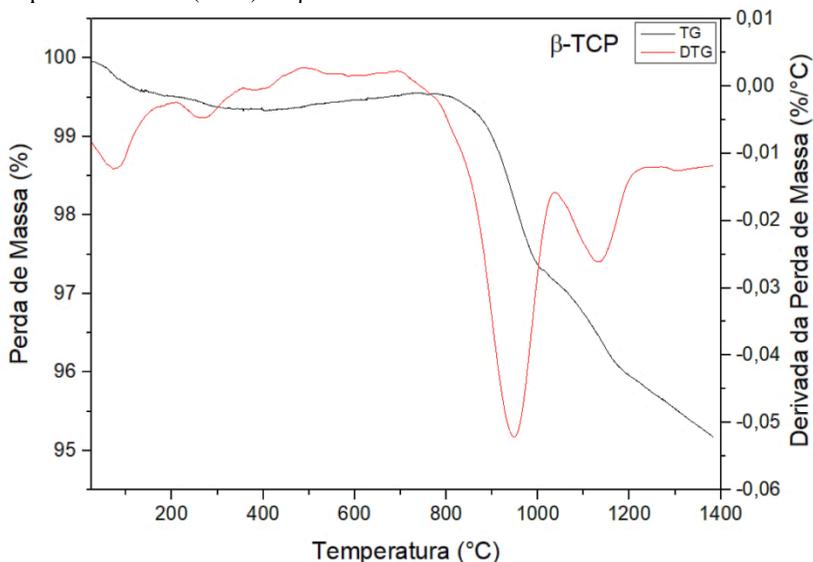
Figura 32 - Eventos térmicos que ocorrem em apatitas (flourapatita, cloroapatita, hidroxiapatita, apatitas carbonatadas e bioapatita) sob aquecimento, mostrando mudança de fase (cloroapatita), perda de grupos estruturais, decomposição ou fusão (indicado por um círculo preto).



Fonte: adaptado de TÕNSUAADU *et al.*, 2012.

O β -TCP (Figura 33) sofreu perda de aproximadamente 0,5% de massa pela perda de água não ligada até 200 °C, 2,65% até 1000 °C, devido a decomposição de CO₂, e apenas 5% de sua massa foi degradada até o final da análise em 1400 °C, fato que pode ser atribuído a desidroxilação e decomposição de carbonato (TÕNSUAADU *et al.*, 2012).

Figura 33 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do β -TCP.



Ao contrário do β -TCP as cerâmicas de n-HA (Figura 34), Mg-Ca/P (Figura 35) e Sr-Ca/P (Figura 36) sofreram perdas de massa mais drásticas com o aumento da temperatura. A n-HA perdeu cerca de 12% de sua massa até 100 °C, evento que está relacionado a perda de água não ligada, possivelmente ocasionado pela presença de umidade nos pós. Em 200 °C até aproximadamente 300 °C há uma queda brusca na curva de perda de massa que é atribuída a perda de água constitucional (TÕNSUAADU *et al.*, 2012). Acima dos 300 °C a curva de TGA desce mais suavemente, tendo pequenas alterações na faixa de 300 a 460 °C, devido à decomposição dos íons carbonato absorvidos pelos fosfatos de cálcio, e que foram detectados na análise de FTIR. Por fim, há um leve decréscimo da curva entre 530-770 °C relacionado com a deterioração do íon fosfato (GRANADOS-CORREA, BONIFACIO-MARTÍNEZ e SERRANO-GÓMEZ, 2010; TÕNSUAADU *et al.*, 2012).

Figura 34 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do n-HA.

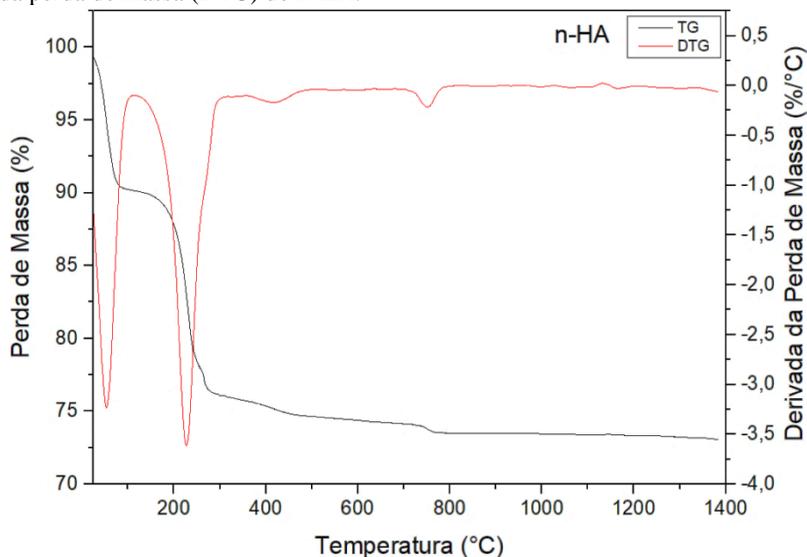


Figura 35 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do Mg-Ca/P.

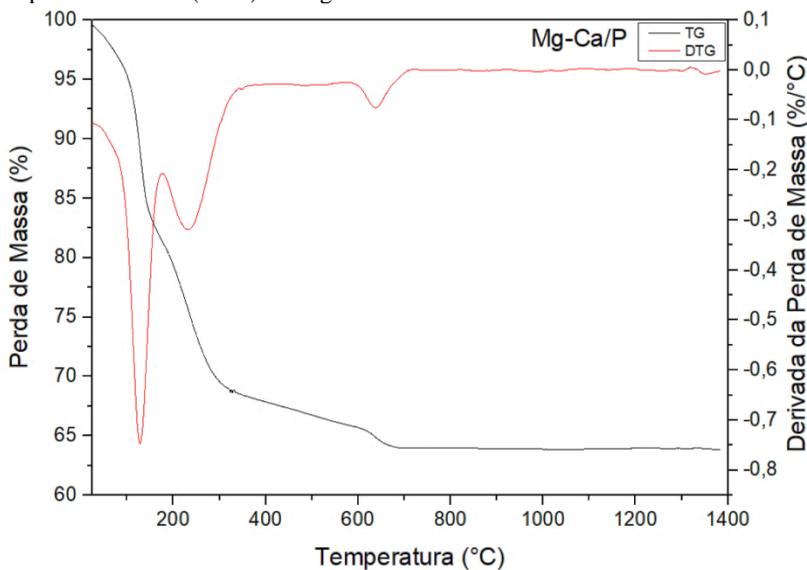
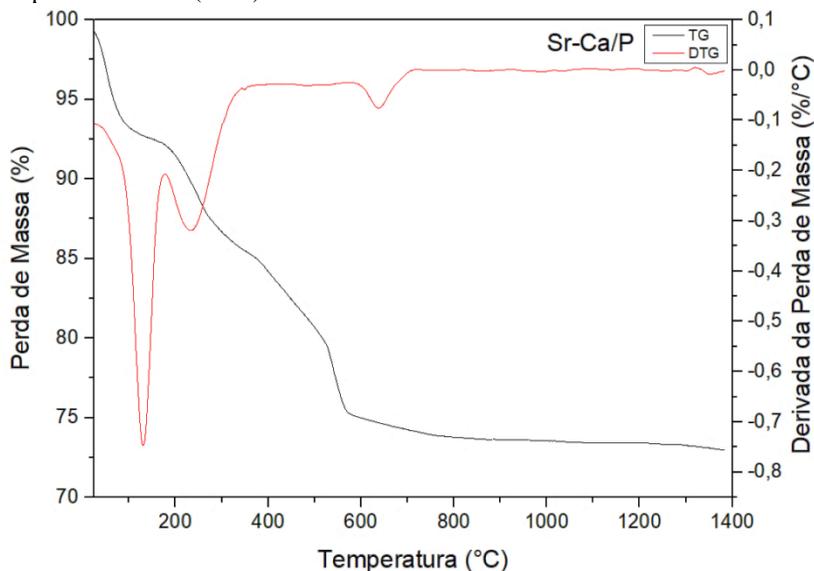


Figura 36 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do Sr-Ca/P.



A curva de TGA mostra que para a cerâmica de n-HA há cerca de 26% de perda de massa da cerâmica até 600 °C, e apenas cerca de 1% de massa é perdido dessa temperatura até 1400 °C. Os mesmos eventos encontrados na curva de TGA da n-HA podem ser observados nas curvas de Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, porém com pequenos deslocamentos de faixas de temperatura e % de perda de massa, devido a alteração estrutural que a incorporação dos íons de Sr e Mg ocasionam na estrutura da hidroxiapatita e as mudanças em algumas características dos fosfatos de cálcio, como a solubilidade (GENG *et al.*, 2015). A semelhança entre as curvas está relacionada com a similaridade na reação de formação desses compostos. A percentagem de perda de massa do Sr-Ca/P foi a mesma encontrada para a n-HA, 26% até 600 °C, enquanto o Mg-Ca/P teve uma perda um pouco maior, apresentando uma perda de 36% de massa até 600 °C. Resultados similares foram encontrados em alguns estudos envolvendo fosfatos de cálcio (GRANADOS-CORREA, BONIFACIO-MARTÍNEZ e SERRANO-GÓMEZ, 2010; ANJANEYULU, PATTANAYAK e VIJAYALAKSHMI, 2015; BIRKHOLZ *et al.*, 2016).

Na Tabela 15 estão apresentados de forma sucinta os dados referentes aos eventos de perda de massa, a faixa de temperatura, as quais ocorrem os mesmos, e a % de perda de massa de cerâmica perdida em

cada evento e, por fim, a % em massa de resíduo de cerâmica que sobrou ao final do ensaio.

Tabela 15 - Dados da análise de TGA das biocerâmicas, com as faixas de temperatura e % de perda de massa de cada evento durante o ensaio, e valores de % de massa de resíduo de cerâmica ao final do ensaio (1400 °C).

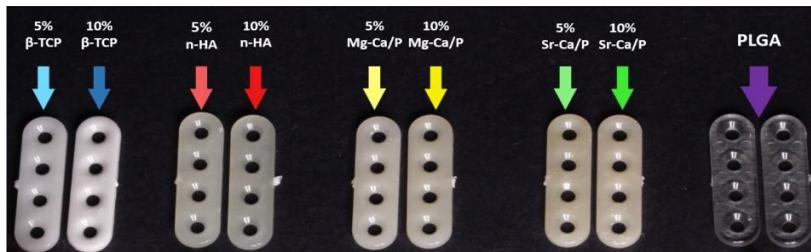
Evento	Temperatura (°C)	% de massa			
		β -TCP	n-HA	Mg-Ca/P	Sr-Ca/P
Perda de água	0-200	0,5	12,2	20,6	8,5
Perda de água constitucional	200-300	0,1	11,7	9,8	4,8
Decomposição de carbonato	300-460	0,02	1,3	2,4	4,6
Decomposição do íon fosfato	530-770	0,03	1,2	3,3	8,2
Decomposição de gás carbônico	750-1000	2	0,08	0,09	0,32
Resíduo	1400	95	73	64	73

4.2 Biocompósitos

4.2.1 Microinjeção

Na Figura 37 é apresentado o resultado da injeção dos biocompósitos. É possível perceber a diferença de coloração entre os biocompósitos devido a adição das biocerâmicas. As peças com PLGA puro apresentam aspecto transparente, como pode ser visto na imagem. Os biocompósitos fabricados com as partículas de β -TCP exibem uma coloração esbranquiçada nas peças, com pouca transparência, na composição de 10% de β -TCP a peça apresenta um aspecto quase totalmente opaco. Para os compósitos com n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P as peças apresentaram um tom amarelado e com certa transparência. As placas contendo n-HA apresentaram uma cor mais clara e menor perda de transparência em relação as outras duas cerâmicas, o Mg-Ca/P apresentou maior amarelamento e maior opacidade, ficando as placas contendo Sr-Ca/P em nível intermediário. Esse tom amarelado pode ser resultado de oxidações devido a presença de certa umidade nos pós identificados na análise de TGA das biocerâmicas.

Figura 37 - Fotografia das placas microinjetadas com os biocompósitos e o PLGA puro.



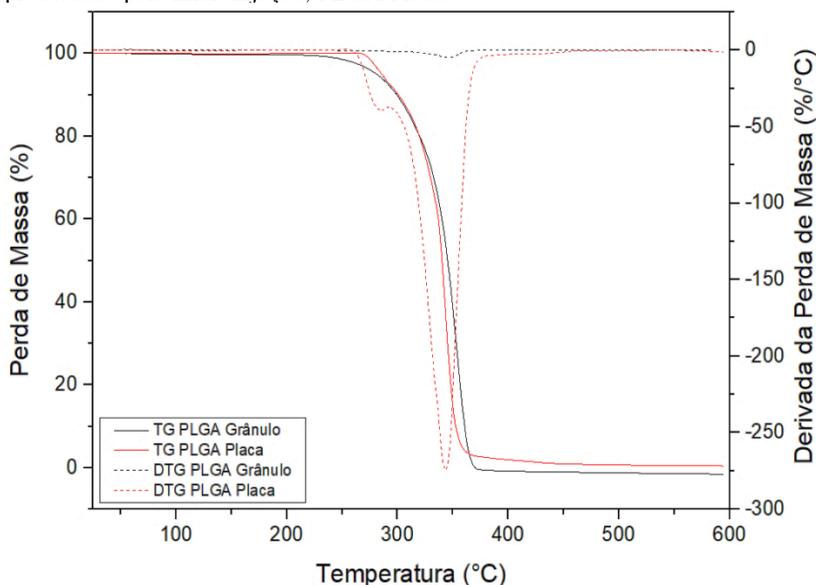
Com relação ao processo de injeção, ocorreu dificuldades na fabricação de alguns grupos de biocompósitos. Os biocompósitos com inserção de β -TCP foram facilmente injetados, sem problemas durante o processo e com rendimento de aproximadamente 100-105 peças usando uma massa total de 50 g de compósito. As placas contendo n-HA não apresentaram muitos problemas durante o processo, ocorrendo apenas dificuldade de homogeneidade nas peças iniciais, o que levou a um rendimento menor na quantidade de peças em relação ao β -TCP, 75-80 placas com 50 g de biocompósito. A maior dificuldade no processamento foi enfrentada na injeção dos biocompósitos com inserção de Sr-Ca/P e Mg-Ca/P. Apesar de todas misturas de biocerâmicas terem sido mescladas da mesma forma, as misturas contendo as biocerâmicas com Sr e Mg não passaram com facilidade no canhão de injeção, atuando de forma abrasiva no mesmo, o que levou há uma perda da homogeneidade das peças e redução na quantidade produzida, sendo fabricada apenas 50-60 peças com as cerâmicas contendo Sr e 40-45 com as biocerâmicas contendo Mg, utilizando a mesma massa de biocompósito que as outras cerâmicas.

Fatores que podem ser atribuídos aos problemas ocorridos na microinjeção, estão relacionados a mistura do biocompósito e a distribuição do tamanho das partículas de cerâmica. Quanto a mistura do compósito, a confecção de um filme, cortado em pedaços e combinado com os *pellets* de PLGA, fez com que as partículas do *masterbatch* caíssem mais facilmente no canhão de injeção, dificultando a mistura com os *pellets* na fusão e consequente dificuldade da passagem da mistura para o molde, devido as cerâmicas serem mais abrasivas. O tamanho de partícula das biocerâmicas de β -TCP e n-HA apresentaram menores índices de polidispersão e tamanho de partícula, o que deve ter facilitado a interação entre as partículas e em consequência, auxiliando na mistura. As peças contendo Mg-Ca/P foram as que apresentaram maiores tamanhos de partículas e polidispersão, o que pode ser conectado a dificuldade enfrentada no processamento.

4.2.2 Análise termogravimétrica (TGA) do PLGA e biocompósitos

Na Figura 38 é mostrada a análise termogravimétrica do PLGA puro na forma de *pellets* e da placa microinjetada. A análise foi feita com o objetivo de verificar se o processo de injeção favorece a degradação do polímero com o aumento da temperatura. Na curva termogravimétrica (TG) e a primeira derivada da curva termogravimétrica (DTG) apresentadas, observa-se que não ocorre alteração significativa nos picos de degradação dos polímeros, ocorrendo a diminuição de apenas 1 °C o pico de degradação do PLGA Placa, 343 °C, em comparação ao do PLGA Grânulo, 344 °C. Entretanto, a faixa de degradação, dada pela temperatura de início e fim da degradação, foi mais ampla para o PLGA Placa, ocorrendo entre 256-381 °C, enquanto a do PLGA Grânulo foi entre 300-366 °C.

Figura 38 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA puro como matéria-prima, PLGA grânulo e, processado pela microinjeção, PLGA Placa.



Com o objetivo de verificar a massa real de cerâmica na composição dos biocompósitos, foram realizadas análises de TGA com pequenos pedaços das placas de biocompósito, usando aproximadamente 10 mg de cada conjunto estudado. As Figuras Figura 39, Figura 40, Figura

41 e Figura 42, mostram as curvas TG e DTG do PLGA Placa e dos biocompósitos, separando os conjuntos segundo as biocerâmicas inseridas nos mesmos. Os dados com a temperatura inicial, final e máxima de degradação, a % de perda de massa e % de resíduo que sobrou ao final do teste, estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Dados da análise de TGA do PLGA, na forma de grânulo e placa, e dos biocompósitos apresentando as temperaturas inicial, final e máxima de degradação, % de perda de massa e % de resíduo ao final do ensaio (600 °C).

Material	T inicial (°C)	T final (°C)	T máxima (°C)	% perda de massa	% resíduo
PLGA Grânulo	300	366	344	100,0	0
PLGA Placa	256	381	343	99,6	0,3
5%β-TCP	325	390	362	94,0	6,0
10%β-TCP	326	390	362	92,1	7,9
5%n-HA	305	383	356	95,7	4,3
10%n-HA	325	387	363	90,5	9,5
5%Mg-Ca/P	300	374	351	98,5	1,5
10%Mg-Ca/P	325	383	358	97,4	2,6
5%Sr-Ca/P	324	372	354	97,7	3,3
10%Sr-Ca/P	280	359	343	95,6	4,4

Figura 39 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5%β-TCP e 10%β-TCP.

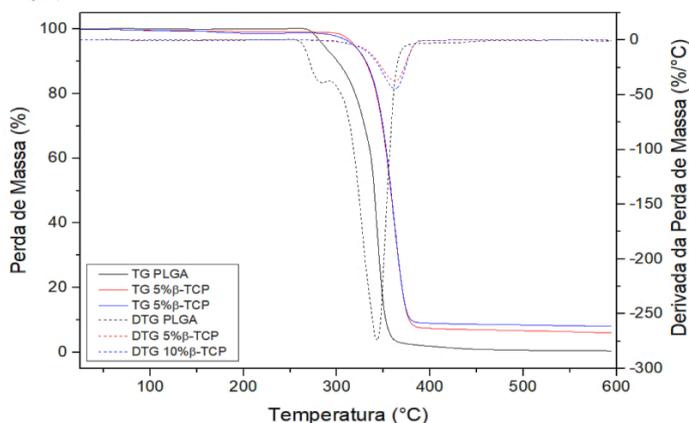


Figura 40 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% n-HA e 10% n-HA.

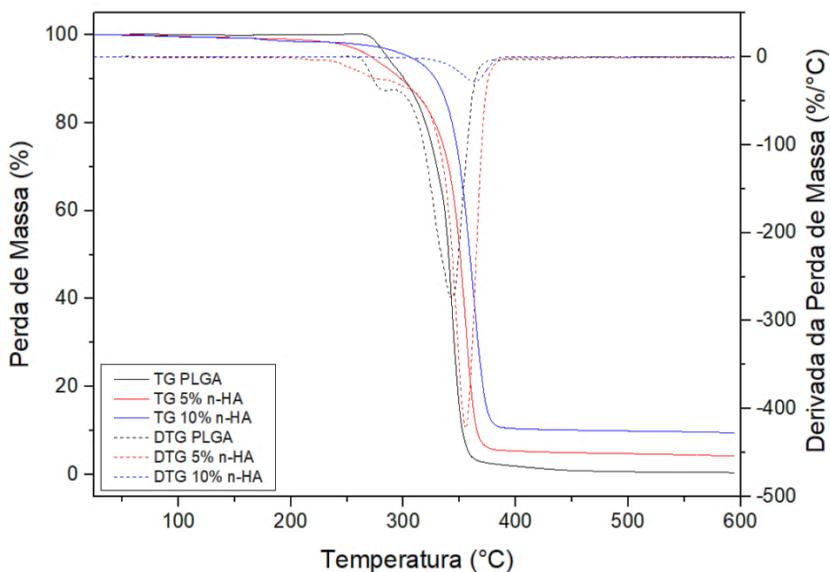


Figura 41 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% Mg-Ca/P e 10% Mg-Ca/P.

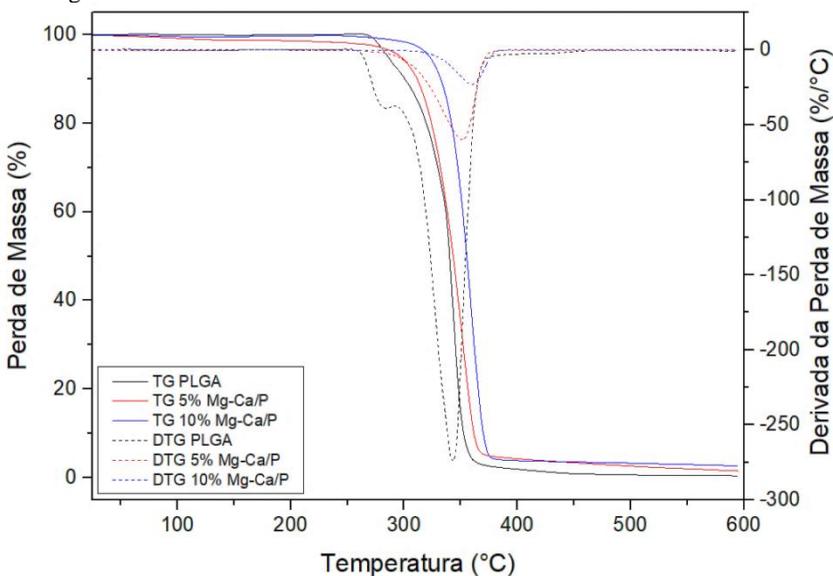
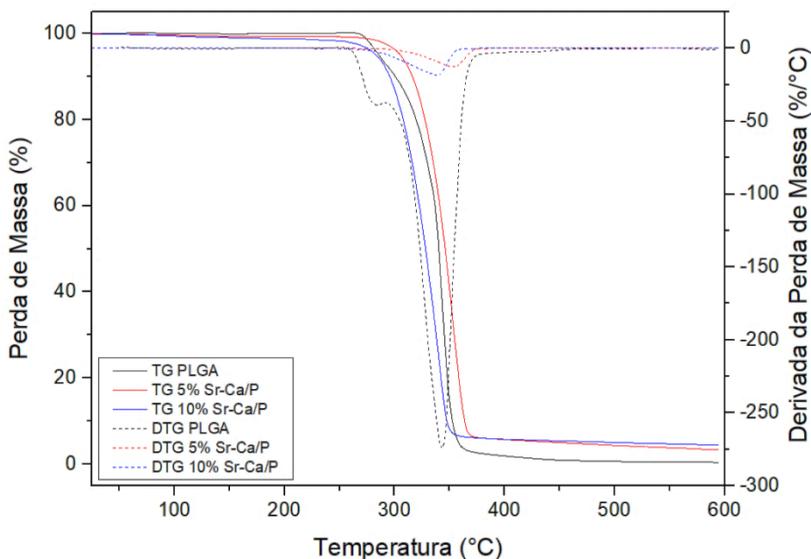


Figura 42 - Curva termogravimétrica (TG) obtida por TGA e primeira derivada da perda de massa (DTG) do PLGA Placa e dos biocompósitos 5%Sr-Ca/P e 10%Sr-Ca/P.



De acordo com as curvas de TG e DTG apresentadas é possível observar deslocamentos das curvas de degradação do biocompósitos em relação ao polímero puro. No geral, a inserção das cerâmicas aumentou a temperatura de degradação máxima e a estabilidade térmica, entre 2 a 8 °C acima, com exceção para os biocompósitos de Sr-Ca/P, que exibiram temperaturas máximas em torno de 9-22 °C abaixo do PLGA.

Outra informação que a curva de TG dos biocompósitos forneceu foi a % de massa real de cerâmica contida em cada biocompósito. Esta informação permite avaliar a homogeneidade da mistura das cargas cerâmicas nos compósitos, atestando ou não a reprodutibilidade do processo. Considerando os dados da curva de TG do PLGA Placa (Tabela 16), que mostrou uma percentagem irrisória de PLGA ao final do ensaio, assume-se que o mesmo se degradou por completo até 600 °C, sendo assim, o resíduo ao final do ensaio refere-se a % de massa de cerâmica presente no biocompósito. Entretanto, como apresentado anteriormente neste trabalho, as biocerâmicas sofrem certa % de degradação até 600 °C, fator que deve ser considerado para verificar a % de massa de cerâmica no biocompósito. Na Tabela 17 estão expostos os valores de % de resíduo, obtidos pelas curvas de TG dos biocompósitos, e o % de resíduo calculado, levando em consideração a % de cerâmica perdida até 600 °C,

com objetivo de comparar se há nos biocompósitos os 5 e 10% em massa de cerâmica na composição dos mesmos.

Tabela 17 - Dados do % resíduos, oriundos da curva de TG dos biocompósitos, o % resíduos calculados, levando em consideração a % de perda de massa das cerâmicas até 600 °C e % de variação entre o % de resíduos calculados e os inseridos nos biocompósitos (5 e 10%).

Material	% resíduos	% resíduos calculados	% variação
5%β-TCP	6,0	6,3	26
10%β-TCP	7,9	8,3	-17
5%n-HA	4,3	5,4	8
10%n-HA	9,5	11,97	20
5%Mg-Ca/P	1,5	2,0	-60
10%Mg-Ca/P	2,6	3,5	-65
5%Sr-Ca/P	3,3	4,15	-17
10%Sr-Ca/P	4,4	5,54	-45

As informações obtidas na Tabela 17 mostram que houve variação entre a % de massa de cerâmica inserida nos biocompósitos (5 e 10%, dependendo da composição) e a % realmente incorporada nos mesmos (% resíduos calculados). Dentre os conjuntos de 10%β-TCP, 5%n-HA e 5%Sr-Ca/P foram os que obtiveram menor variação em relação ao esperado, tendo 5%n-HA alcançado a menor variação, de apenas 8% de % de massa a mais que o esperado, enquanto 10%β-TCP e 5%Sr-Ca/P obtiveram 17% a menos % de massa de cerâmica nos compósitos. As maiores variações foram encontradas nas amostras contendo Mg-Ca/P, com variações de % de massa de 60 a 65% inferiores ao desejado. Isso pode ser correlacionado a dificuldade enfrentada na injeção do material, que impediu a melhor homogeneização da mistura. As biocerâmicas restantes obtiveram variações percentuais entre 20 e 45%, com % de massa superiores ao almejado.

4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Figura 43 apresenta as curvas de DSC referentes a 2ª corrida do ensaio de DSC do PLGA grânulo e placa, mostrando as diferenças entre o polímero processado e não processado, segundo os dados apresentados na Tabela 18. A realização da 1ª corrida foi feita com intuito de apagar a história térmica do material relativa aos processos de aquecimento/resfriamento sofridos no processo de injeção.

Figura 43 - Curvas obtidas por DSC do PLGA puro como matéria-prima, PLGA grânulo e processado pela microinjeção, PLGA Placa.

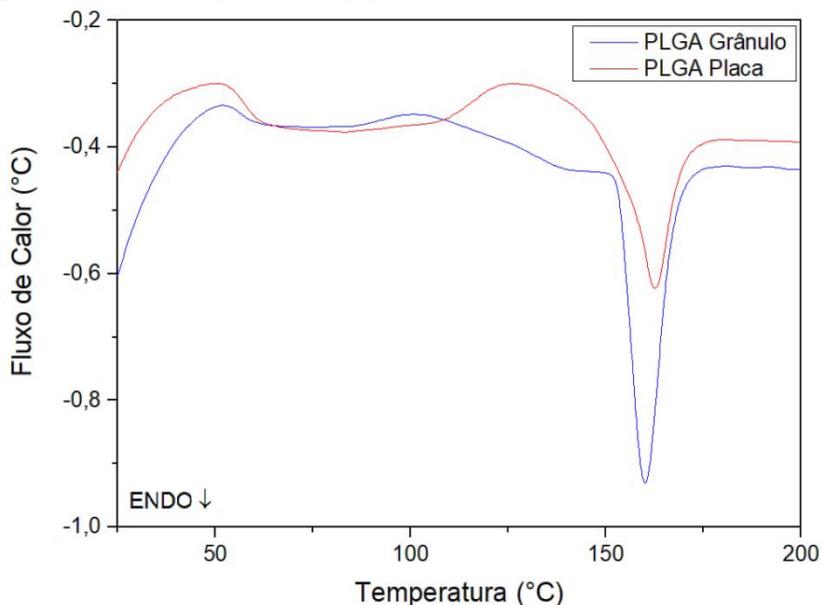


Tabela 18 - Dados da análise de DSC do PLGA (grânulo e placa) e dos biocompósitos, com os valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m), temperatura de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c) e o grau de cristalinidade (α).

Material	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	X_c (%)
PLGA Grânulo	56	160	25,8	-	-	27,5
PLGA Placa	57	163	20,2	129	14,0	21,5
5%β-TCP	56	161	17,2	100	10,3	19,3
10%β-TCP	52	162	21,1	96	6,5	25,5
5%n-HA	55	163	15,5	98	8,3	17,5
10%n-HA	51	162	15,7	93	7,8	18,7
5%Mg-Ca/P	56	163	20,0	112	9,0	22,5
10%Mg-Ca/P	56	163	23,0	113	11,2	27,7
5%Sr-Ca/P	58	161	13,7	126	6,6	15,4
10%Sr-Ca/P	56	162	21,5	116	13,53	25,5

A curva de PLGA grânulo mostra o deslocamento da linha base em 56 °C relacionado com a temperatura de transição vítrea (T_g) do material. O segundo pico observado na curva é um pico endotérmico relativo a temperatura de fusão (T_m) centrado em 160 °C. A presença do pico de fusão para o PLGA 82:18, denotando estrutura semicristalina ao polímero, em concordância com o observado no difratograma de raio-x do PLGA. O pico de T_m maior e localizado próximo a 160 °C para o PLGA grânulo, pode ser atribuído a presença de cristais em cadeias regulares muito próximas umas das outras, e, também, o fato de o pico de fusão ocorrer em temperaturas próximas a da fusão de polímeros constituídos de ácido láctico, indicando que o monômero de lactídeo pode estar contribuindo fortemente para a cristalização do polímero (ADHIKARI *et al.*, 2014).

A amostra de PLGA Placa apresentou valor de T_g similar ao obtido com o grânulo, 57 °C, e no pico de fusão ocorreu um pequeno aumento de 3 °C, obtendo-se a T_m de 163 °C. Além disso, na curva do polímero processado há o aparecimento de um pico exotérmico no curva de DSC, relacionado com a cristalização do material na temperatura de 129 °C.

A formação do pico de cristalização pode estar associada a taxa de resfriamento acelerado do material após o processamento, devido a rapidez do processo de injeção, o que não possibilitou a cristalização do material, formando então pequenos núcleos cristalinos na estrutura do material, porém sem permitir o crescimento dos mesmos. O aquecimento posterior, ocorrido no ensaio de DSC, possibilitou o fornecimento da energia necessária para o crescimento destes núcleos, aumentando assim as regiões cristalinas (SANTOS *et al.*, 2012; DE SANTIS, VOLPE e PANTANI, 2017; MELO *et al.*, 2017).

Além disso, a amostra de PLGA Placa teve uma diminuição na entalpia de fusão em comparação com o PLGA Grânulo, com valores de entalpia diminuindo de 25,8 J/g do grânulo de PLGA para 20,2 J/g para o polímero processado. Está diminuição na entalpia de fusão influencia diretamente o grau de cristalinidade (X_c) do polímero processado. O grau de cristalinidade das amostras foi calculado a partir da Equação 5, sendo ΔH_{exp} a entalpia de fusão experimental medida pelo DSC, ΔH_c a entalpia de fusão teórica, estimada a partir das espécies de polilactídeo e poliglicolídeo 100% cristalinas, e %m a % em massa de polímero.

$$X_c = \frac{\Delta H_{exp}}{\%m \cdot \Delta H_c} \times 100 \quad (5)$$

O valor de entalpia de fusão para o PLGA 100% cristalino foi de 94,7 J/g, segundo valores utilizados em outros estudos com polímeros similares ao trabalho (SOUZA, 2017; RUEDA *et al.*, 2015; JIANG *et al.*, 2014). Segundo os dados do grau de cristalinidade, presentes na Tabela 18 (X_c), nota-se que % de cristalinidade do PLGA Placa, 21,5%, diminuiu em relação a % de cristalinidade do PLGA Grânulo, 27,5%.

Nas Figuras Figura 44, Figura 45, Figura 46 e Figura 47, estão apresentadas as curvas de DSC do PLGA Placa em conjunto com os biocompósitos. Os dados relativos as curvas de DSC dos biocompósitos estão contidos na Tabela 18, apresentada anteriormente. Através das curvas de DSC e os valores expostos, observa-se que a temperatura de fusão de todos os conjuntos de biocompósitos manteve-se na faixa de 161-163 °C, semelhante ao do PLGA Placa, o que evidencia que a inserção das cerâmicas não ocasionou alteração na T_m dos biocompósitos.

Figura 44 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% β -TCP e 10% β -TCP.

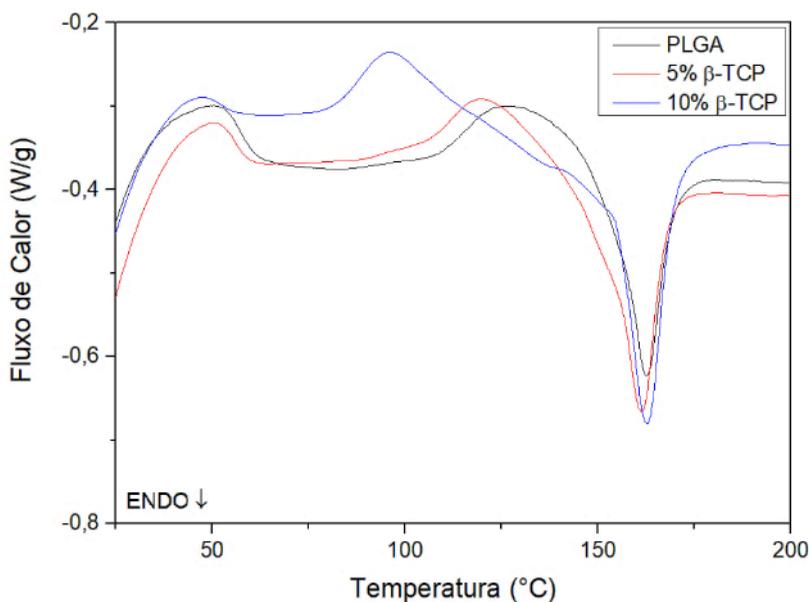


Figura 45 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% n-HA e 10% n-HA.

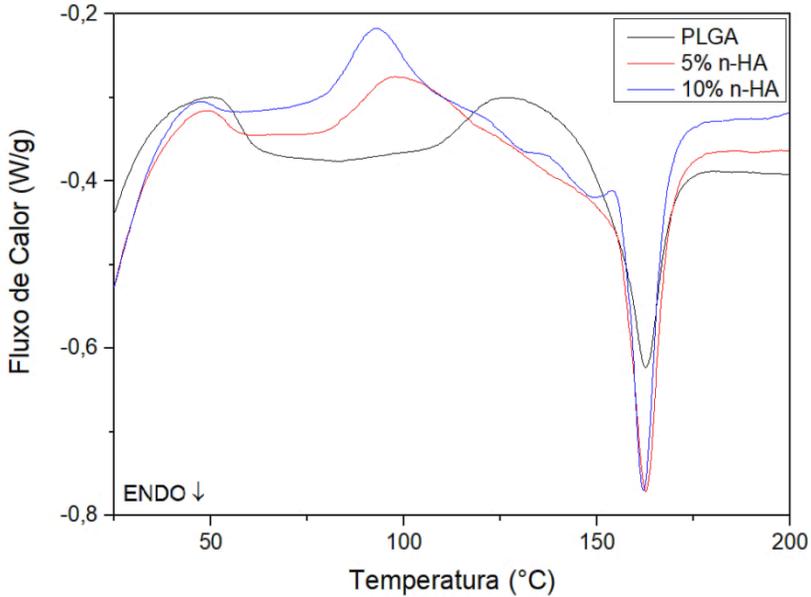


Figura 46 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% Mg-Ca/P e 10% Mg-Ca/P.

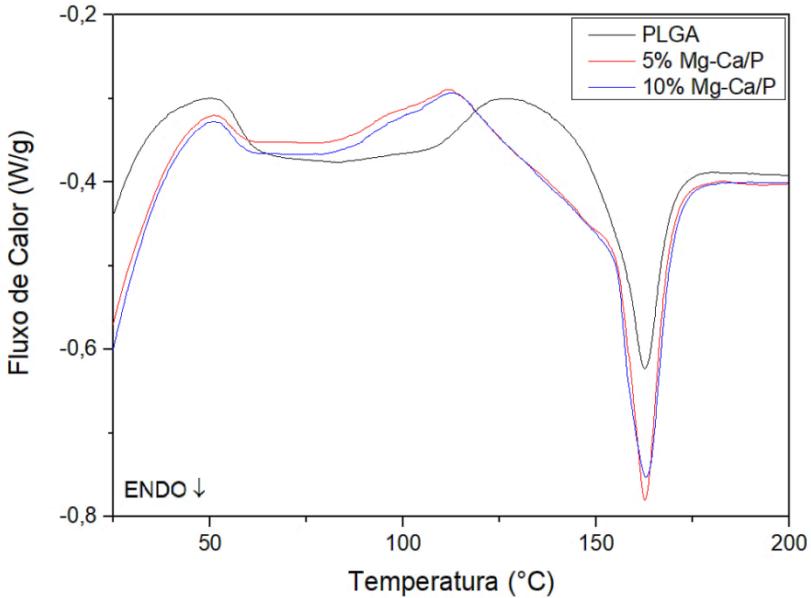
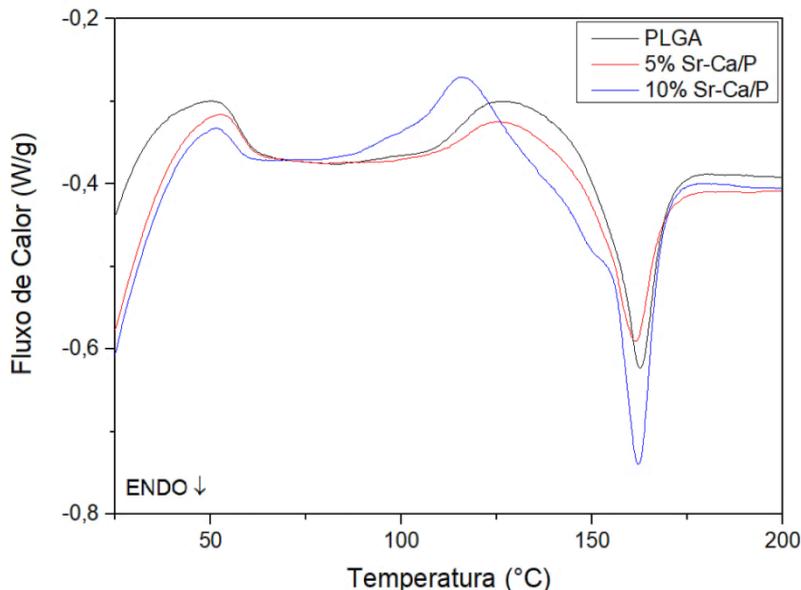


Figura 47 - Curvas obtidas por DSC do PLGA Placa e dos biocompósitos 5% Sr-Ca/P e 10% Sr-Ca/P.



Com relação a cristalização, a temperatura de cristalização dos biocompósitos diminuiu em todas as composições analisadas, com maior queda para o conjunto contendo n-HA, entre 93-98 °C. O grau de cristalinidade dos compósitos contendo 5% em massa das biocerâmicas tiveram redução no grau de cristalinidade, entre 15,4 e 18,7%, com exceção para a cerâmicas de 5% Mg-Ca/P que obteve valor próximo ao PLGA, 22,5. Para a adição de 10% das cerâmicas de β -TCP, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, os valores mantiveram-se superiores ao PLGA Placa, entre 25,5 e 27,7, mostrando que possivelmente a maior adição das cerâmicas pode facilitar o processo de cristalização, atuando como agente nucleante. Os resultados obtidos apontam que a adição das biocerâmicas influenciou principalmente as temperaturas envolvidas na cristalização, influenciado a organização das cadeias poliméricas de PLGA por atuar como um agente inibidor, desfavorecendo a cristalização do PLGA.

Estudo realizado por Castro, 2018 com membranas de PLGA 82:18 com adição de β -TCP em 5, 10 e 20% em massa na composição das membranas, apresentou resultados semelhantes aos abordados nesta pesquisa, o qual a adição de β -TCP não alterou significativamente a T_m e diminuiu a entalpia de fusão, em concordância com os resultados apresentados. Em relação a pesquisas utilizando PLGA em conjunto com

a hidroxiapatita, os resultados apresentados são contrários aos encontrados na literatura, no geral, a introdução de hidroxiapatita causa um aumento da cristalinidade quando usada em conjunto com o PLGA, atuando como agente nucleante no processo de cristalização (SANTOS, 2011; JIANG *et al.*, 2014; KRUCINSKA *et al.*, 2014). O fato da n-HA ter ocasionado a diminuição da cristalinidade, pode ser atribuído a sua nanoestrutura, que tende a formar aglomerados causando saturação das partículas na estrutura polimérica e assim, anulando o efeito da presença destas partículas na matriz polimérica (MERLINI, 2014; CASTRO, 2018).

4.2.4 Análise dinâmico-mecânica (DMA)

A análise DMA foi realizada com o objetivo de obter informações sobre as propriedades viscoelásticas dos biocompósitos, para determinar os processos de relaxação dos materiais. As curvas de módulo de armazenamento (E') e tangente de perda ($\tan \delta$) em função da temperatura são apresentadas nas Figuras Figura 48, Figura 49, Figura 50 e Figura 51, do PLGA com cada conjunto de cerâmica, β -TCP, n-HA, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, respectivamente. A temperatura de 50 °C foi selecionada para a análise do módulo de armazenamento, devido à proximidade desse valor com a T_g do material.

Figura 48 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% β -TCP e 10% β -TCP.

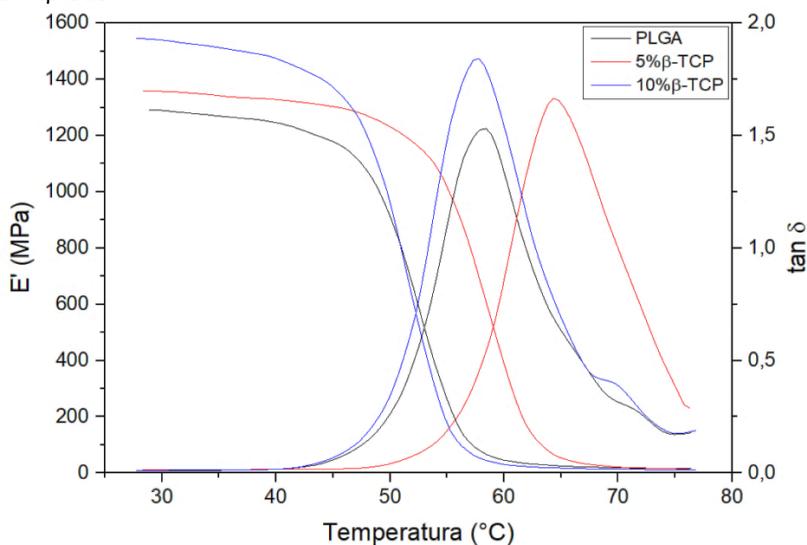


Figura 49 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% n-HA e 10% n-HA.

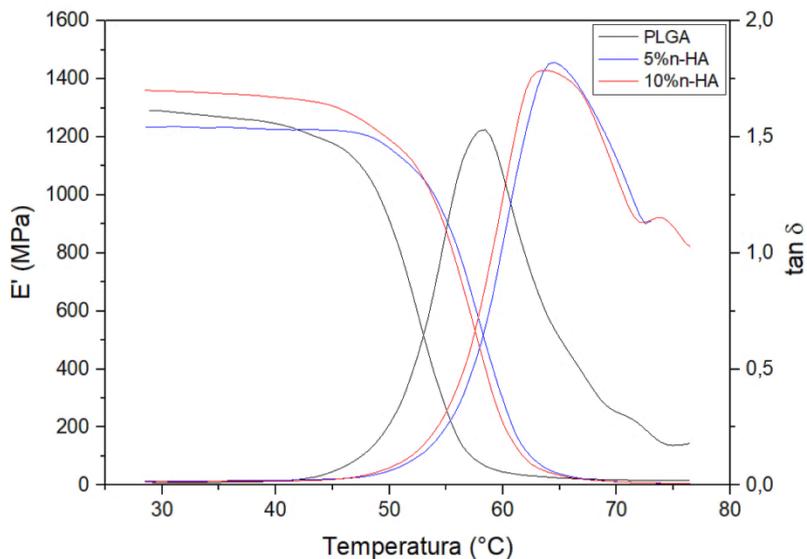


Figura 50 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5% Mg-Ca/P e 10% Mg-Ca/P.

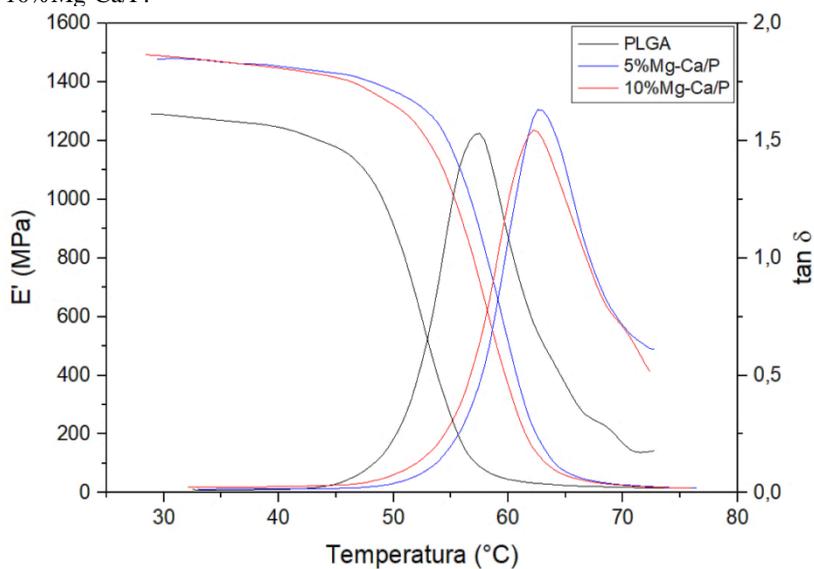


Figura 51 - Análise de DMA dos PLGA e dos biocompósitos de 5%Sr-Ca/P e 10%Sr-Ca/P.

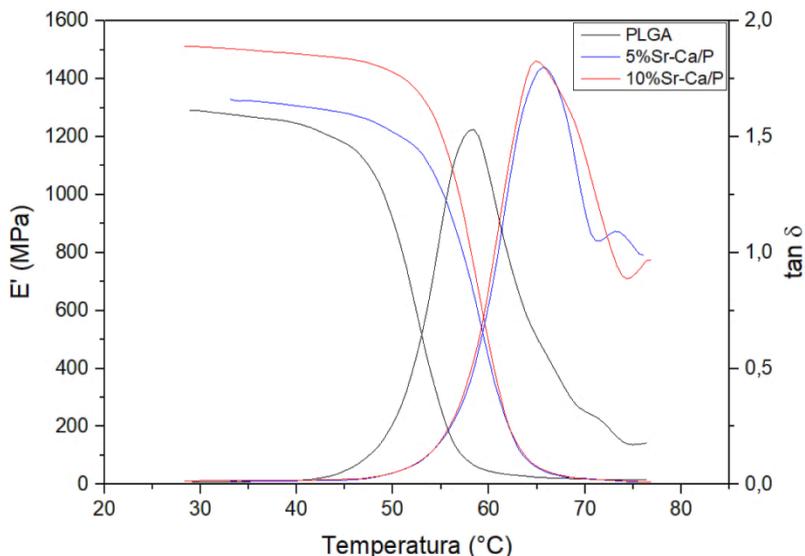


Tabela 19 - Dados da análise de DMA do PLGA Placa e dos grupos de biocompósitos com valores do módulo de armazenamento E', inicial e a 50°C, e a temperatura de transição vítrea (T_g).

Material	Módulo de Armazenamento Inicial (MPa)	Módulo de Armazenamento a 50°C (MPa)	T _g (°C)
PLGA	1290	921	58
5%β-TCP	1360	1236	64
10%β-TCP	1546	995	58
5%n-HA	1235	1161	65
10%n-HA	1360	1191	63
5%Mg-Ca/P	1477	1372	64
10%Mg-Ca/P	1493	1324	64
5%Sr-Ca/P	1329	1214	66
10%Sr-Ca/P	1513	1417	65

Os valores de módulo de armazenamento obtidos no início do teste e a 50 °C para todas as amostras são mostrados na Tabela 19. Analisando o gráfico e os valores obtidos, pode-se observar que E' aumentou consideravelmente com a adição de biocerâmicas, exceto 5%n-HA, que apresentou menor módulo de armazenamento no início do teste. Com o aumento da temperatura, o módulo de armazenamento caiu, tendo uma

queda de 100 a 170 MPa nos biocompósitos, com exceção de 5% n-HA que apresentou menor redução (73,5) e 10% de β -TCP com diminuição de 550 MPa no carregamento, em comparação com o PLGA que caiu 370 MPa a 50 °C. Portanto, podemos observar que a introdução das cerâmicas, em geral, diminui a sensibilidade do biocompósito com o aumento da temperatura.

Nas curvas da tangente de perda ($\tan \delta$) pode-se determinar a temperatura de transição vítrea dos biocompósitos. A placa de PLGA puro apresentou valor de T_g de 58 °C, enquanto os biocompósitos apresentaram valores de T_g superiores, entre 63 e 65 °C, com exceção da composição 10% β -TCP que teve sua T_g diminuída em comparação com o PLGA, porém com valor semelhante à do polímero, 58 °C. Este aumento da T_g nos biocompósitos pode ser atribuído a elevação da rigidez dos biocompósitos com a adição das cerâmicas. Além disto, a intensidade do pico de $\tan \delta$ também aumentou com a adição das cerâmicas nos compósitos. Os valores da T_g obtidos pelas análises de DSC e DMA diferem entre si, isso se deve as diferenças inerentes às duas técnicas de análise, sendo ambas consideradas válidas. Entretanto, a técnica de DMA é mais sensível comparada ao DSC, assim, sendo seus resultados mais comumente usados para determinação da T_g . Na técnica DSC, as amostras são pequenas e provêm de fragmentos das placas, permitindo que a cerâmica seja exposta ao fluxo de calor e reaja com o polímero, atuando como um facilitador na transição para o estado viscoso, e diminuindo T_g . No formato DMA as peças testadas não podem impedir a formação de gradientes dentro das peças, assim, a cerâmica, por não estar superficialmente exposta, não sofre diretamente com o aumento da temperatura e tende a aumentar a T_g . O aumento no módulo de armazenamento e na intensidade do pico da tangente de perda sugere que há uma maior contribuição do componente viscoso do PLGA nos compósitos em relação ao ser comportamento termomecânico.

Avaliando os resultados obtidos com valores da literatura, o E' do PLGA foi similar aos números mostrados por Melo *et al.*, 2017, que obteve $1,2 \pm 0,2$ GPa a 37 °C para PLGA 85:15. Entretanto, quando avaliando estudos usando PLLA em conjunto com HA, os valores de E' são bem inferiores aos apresentados. Biocompósitos de PLLA/n-HA desenvolvidos por Santos, 2011, alcançaram valores 2400-2500 MPa de módulo de armazenamento a 50 °C.

4.2.5 Flexão em 4 pontos

Nas curvas apresentadas na Figura 52 temos os testes de flexão em 4 pontos realizados nas placas de PLGA puro. É possível notar no gráfico e nos dados da Tabela 20, que as 5 amostras ensaiadas romperam com carregamento em torno de $16,24 \pm 0,88$ N.

Figura 52 - Ensaio de flexão em 4 pontos do PLGA Placa.

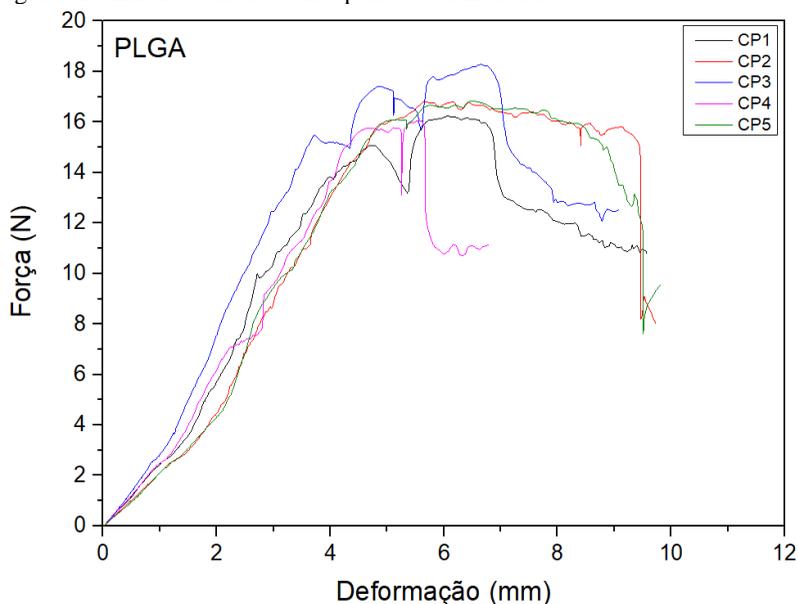
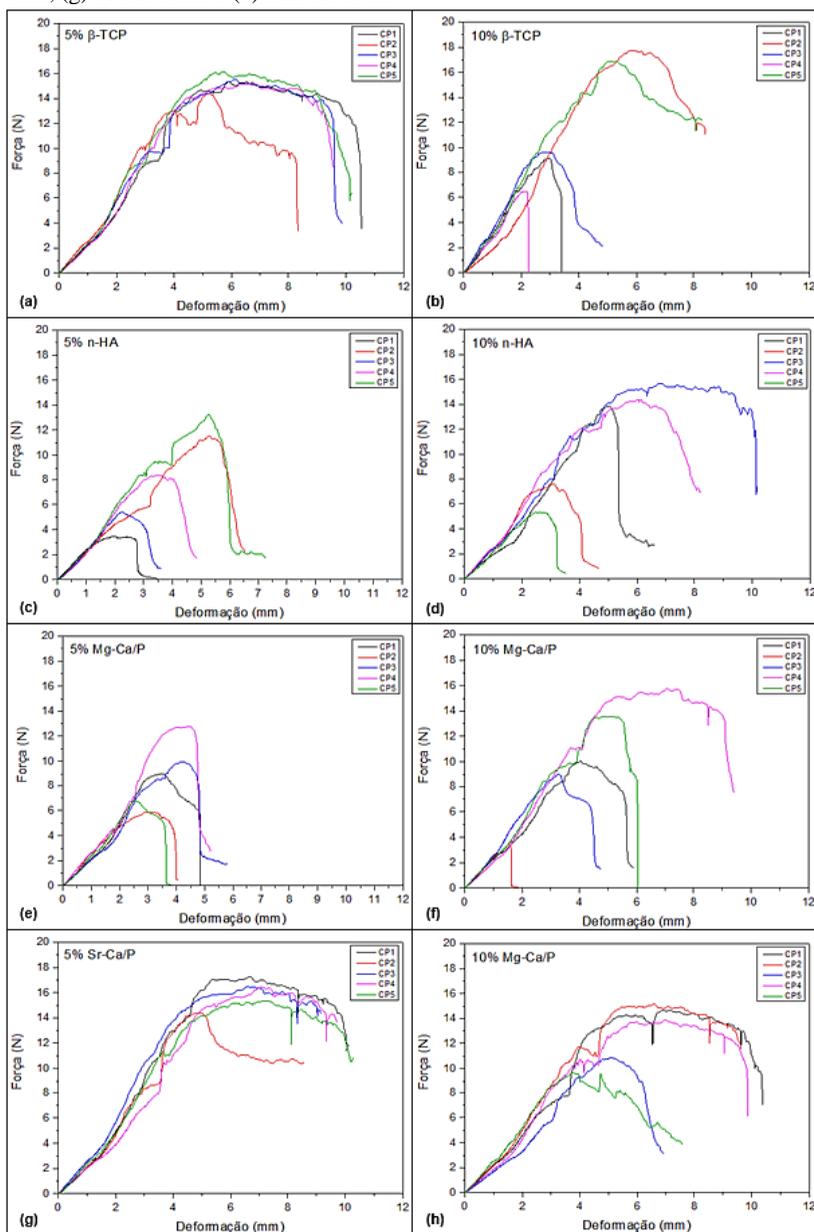


Tabela 20 - Dados dos ensaios de flexão em 4 pontos realizados nas placas de PLGA e biocompósitos com valores de carga máxima (N) para cada placa ensaiada, total, média e desvio padrão de cada grupo testado.

Placas	Observações: Carga Máxima (N)					Total	Média	Desvio Padrão
	1	2	3	4	5			
PLGA	16,24	16,81	18,30	16,07	16,84	84,26	16,85	0,88
5%β-TCP	15,33	14,41	15,51	15,19	16,14	76,57	15,31	0,62
10%β-TCP	9,17	17,74	9,64	6,47	16,87	59,90	11,98	5,02
5%n-HA	3,48	11,55	5,43	8,96	13,23	42,64	8,53	4,08
10%n-HA	13,84	7,61	15,65	14,34	5,35	56,79	11,36	4,57
5%Mg-Ca/P	9,01	5,86	9,96	12,77	6,79	44,34	8,88	2,73
10%Mg-Ca/P	10,05	3,49	9,03	15,76	13,58	51,91	10,38	4,71
5%Sr-Ca/P	17,23	14,36	16,49	16,43	15,63	80,15	16,03	1,09
10%Sr-Ca/P	14,69	15,13	10,88	13,88	9,66	64,25	12,85	2,43

Figura 53 - Gráficos dos ensaios de flexão em 4 pontos dos biocompósitos: (a) 5% β -TCP; (b) 10% β -TCP; (c) 5% n-HA; (d) 10% n-HA; (e) 5% Mg-Ca/P; (f) 10% Mg-Ca/P; (g) 5% Sr-Ca/P e (h) 10% Sr-Ca/P.



Na Figura 53 - Gráficos dos ensaios de flexão em 4 pontos dos biocompósitos: (a) 5% β -TCP; (b) 10% β -TCP; (c) 5% n-HA; (d) 10% n-HA; (e) 5% Mg-Ca/P; (f) 10% Mg-Ca/P; (g) 5% Sr-Ca/P e (h) 10% Sr-Ca/P. Figura 53, estão apresentadas as curvas do teste de flexão em 4 pontos realizada em todos os conjuntos de biocompósitos e na Tabela 20 encontram-se os valores de força máxima obtidas nos ensaios.

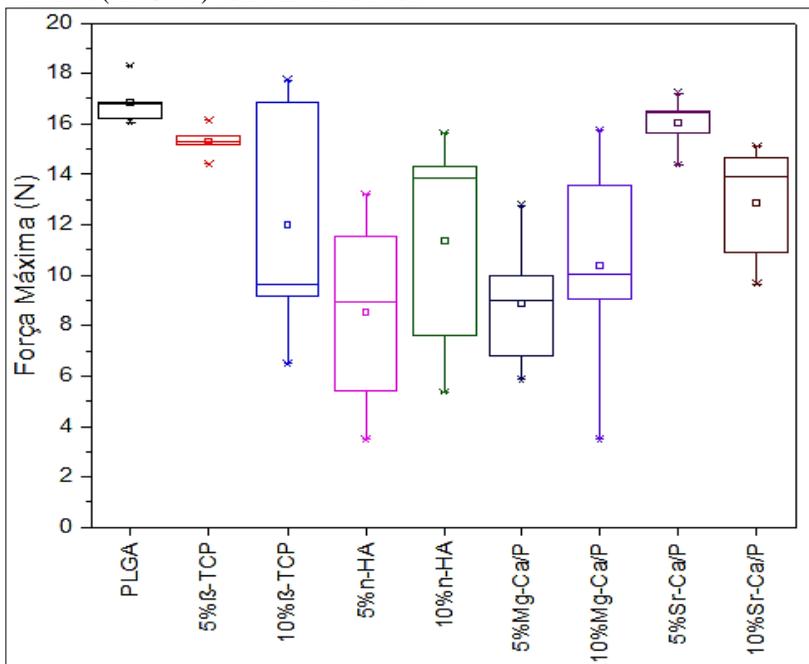
Com os valores apresentados, percebe-se que, em geral, os biocompósitos alcançaram cargas máximas menores em relação ao PLGA puro, apenas os biocompósitos com 5% n-HA e 5% Sr-Ca/P atingiram cargas máximas próximas ao PLGA. Isso indica que as cerâmicas inseridas no compósito atuam como concentradores de tensão e, conseqüentemente, reduzem o carregamento máximo suportado pelo do material.

Os resultados da ANOVA estão expostos na Tabela 21. Os resultados da análise indicaram, com 95 % de confiança, que os valores médios de força máxima para as nove composições não são iguais, ou seja, rejeita-se a hipótese nula que afirma que as médias de carregamento máximo são iguais. Além disso, o valor de “p” obtido, 0,00138, é muito menor do que o nível de significância aplicado ao teste (0,05). Na Figura 54, é mostrado o gráfico com os resultados das análises de comparações múltiplas onde diferença entre as médias fica evidente. Com base no gráfico é possível afirmar que os valores médios de carregamento máximo são diferentes entre as nove composições estudadas, pois os intervalos de confiança não se sobrepõem no gráfico em relação ao PLGA puro. Outra característica apresentada no gráfico, é que na maioria dos compósitos ocorreu um grande desvio dos valores médios de carregamento máximo com a introdução das cerâmicas, isso se deve a natureza frágil dos materiais cerâmicos, que devido a dependência crítica a presença de defeitos das cerâmicas a dispersão dos valores obtidos experimentalmente torna-se acentuada.

Tabela 21 - Dados obtidos na análise de variância com um único fator.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	371,8453	8	46,4806	4,160051	0,0013386	2,208518
Dentro dos grupos	402,2316	36	11,1731			
Total	774,0769	44				

Figura 54 - Gráfico obtido por meio dos resultados alcançados na análise de variância (ANOVA) com um único fator.



5 CONCLUSÕES

As cerâmicas n-HA, β -TCP, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P aplicadas no trabalho apresentaram diferentes distribuições no tamanho das partículas, o que pode ter influenciado a dificuldade na injeção dos biocompósitos Mg-Ca/P, que apresentou maior tamanho de partícula e baixa dispersão nesses valores.

As análises mostraram a formação de partículas finas para o β -TCP, Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, enquanto que a n-HA alcançou menor tamanho de partícula com aproximadamente 140 nm de tamanho no ensaio de DLS, porém devido aos aglomerados, mascarou seu tamanho manométrico de aproximadamente 15-20 nm mostrado nas imagens de MET.

Nas análises de DRX, β -TCP e n-HA apresentaram a formação de uma única fase, enquanto as cerâmicas com substituição iônica de Mg e Sr, apresentaram a formação de fases precursoras da hidroxiapatita, as fases brushita e monetita. As imagens obtidas por MEV e MET corroboraram com as informações obtidas no DRX, mostrando a morfologia característica das fases identificadas.

Na avaliação dos biocompósitos, através das curvas de TG e DTGA, observou-se que a inserção das cerâmicas aumentou a temperatura de degradação máxima e a estabilidade térmica, com exceção para os biocompósitos de Sr-Ca/P, que exibiram temperaturas máximas mais baixas que o PLGA.

Na análise de DMA, os biocompósitos, apresentaram valores de T_g superiores ao PLGA, com exceção do 10% β -TCP que teve sua T_g diminuída em comparação com o PLGA. Este aumento da T_g nos biocompósitos pode ser atribuído a elevação da rigidez dos biocompósitos com a adição das cerâmicas.

O módulo de armazenamento aumentou com a maior % de cerâmica, mostrando que a introdução de 10% de cerâmica contribui com mais intensidade para o comportamento da componente viscosa dos biocompósitos.

Em geral, a introdução de biocerâmicas reduziu a carga máxima dos biocompósitos testados pelo ensaio de flexão, pois as maiores cargas de fratura em relação à porcentagem de cerâmica incorporada foram encontradas nos grupos 5% β -TCP, 10%n-HA, 10%Mg-Ca/P e 5%Sr-Ca/P, o que torna inconclusivo o efeito percentual em relação ao carregamento de biocompósitos fraturados.

A microinjeção dos polímeros não foi homogênea em alguns grupos, como Mg-Ca/P e Sr-Ca/P, que apresentaram dificuldades durante

o processo de fabricação. A formação do *masterbatch* foi ineficaz para a produção dos biocompósitos, uma vez que houve falta de homogeneidade em todos os grupos de polímeros em relação à massa real da cerâmica presente nos biocompósitos, fato comprovado pela análise do TGA, que mostrou a variação na massa de cerâmica real presente nos compósitos, em relação aos valores teóricos (5% e 10% em massa) em todos os grupos de biocompósitos. Seriam necessárias modificações no processo de mistura para garantir a homogeneidade na mistura de polímero-cerâmica proporcionando melhora no processo de injeção e reprodutibilidade do mesmo.

Com base nesses resultados, podemos concluir que a introdução de biocerâmicas modificou as propriedades térmicas e mecânicas do polímero. As modificações nas propriedades térmicas melhoraram os valores de T_g e módulo de armazenamento, o que torna os biocompósitos adequados para uso como implantes bioabsorvíveis. No entanto, a introdução da cerâmica foi prejudicial às propriedades mecânicas, reduzindo a carga máxima suportada pelas placas. Seria necessário melhorar a mistura e o processo de injeção, tornando os biocompósitos mais homogêneos e uma avaliação com um maior número de peças para avaliar rigorosamente o efeito das cerâmicas nas propriedades mecânicas. O trabalho apresentado foi útil para entender as consequências da introdução das cerâmicas propriedades dos compósitos contendo PLGA e abre portas para o conhecimento, aplicação e fabricação de compósitos com esses materiais.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Testar métodos de mistura entre o PLGA e as cerâmicas, para avaliar a homogeneidade e interação química entre os materiais, de modo a melhorar ambos;

- Fabricar os biocompósitos em lotes em mais de um lote, para avaliar a reprodutibilidade do processo, frente a possibilidade de produção em maior escala;

- Avaliar as propriedades dos biocompósitos após o processo de esterilização;

- Realizar testes *in vitro* nas placas, como citotoxicidade, adesão celular e degradação, para avaliar a interação dos biocompósitos com organismos vivos;

- Realizar teste *in vivo* dos biocompósitos seguindo normas específicas para implantes bioabsorvíveis, para verificar a aplicabilidade desse material como placa de fixação de fratura óssea em seres vivos;

- Estudar e testar meios de melhorar a interação química entre o PLGA e as biocerâmicas, com o objetivo de melhorar as propriedades dos biocompósitos em relação ao polímero puro.

7 REFERÊNCIAS

ADHIKARI, A. R. et al. Thermal property and assessment of biocompatibility of poly(lactic-co-glycolic) acid/graphene nanocomposites. **Journal of Applied Physics**, **054701 (2014)**, v. 115, n. 5, 2014.

ALBERTON, J. **Preparação e caracterização de biocompósitos e bionanocompósitos com matriz de poli(ácido láctico)**. 2014. 167f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

ALMEIDA, R. S. et al. Avaliação da fase inicial do reparo ósseo após implantação de biomateriais. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 3, p. 331-336, 2014.

ALVES, E. R. **Nanocompósitos de cerâmicas bioativas para aplicações biomédicas: síntese, caracterização e propriedades**. 2011. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

AMBARD, A. J.; MUENINGHOFF, L. Calcium phosphates cement: review of mechanical and biological properties. **Journal of Prosthodontics**, v. 15, n. 5, p. 321-328, 2006.

AMINI, A. R.; LAURENCIN, C. T.; NUKAVARAPU, S. P. Bone tissue engineering: Recent advances and challenges. **Critical Reviews in Biomedical Engineering**, v. 40, n. 5, p. 363-408, 2012.

ANDERSON, J. M.; SHIVE, M. S. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 28, n. 1, 1997.

ANJANEYULU, U.; PATTANAYAK, D. K.; VIJAYALAKSHMI, U. Snail shell erived natural hydroxyapatite: Effects on NIH-3T3 cells for orthopedic applications. **Materials and Manufacturing Processes**, v. 0, p. 1-11, 2015.

ARBURG. **Competência de aplicação: Processos inovadores para uso individual**. Disponível em: <https://www.arburg.com/fileadmin/redaktion/mediathek/prospekte/arburg_application_expertise_523855_pt_br/>. Acesso em: 25 de outubro de 2016.

ARMENTANO, I. et al. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 11, p. 2126-2146, 2010.

AVGOUSTAKIS, K. Polylactic-co-Glycolic Acid (PLGA). In: WNEK, G. E.; BOWLIN, G. L. **Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering**. 2ª. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros**, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.

BARRÈRE, F.; VAN BLITTERSWIJK, C. A.; DE GROOT, K. Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics. **International Journal of Nanomedicine**, v. 1, n. 3, p. 317–332, 2006.

BASU, B.; KATTI, D.; KUMAR, A. **Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing and Applications**. Hoboken: Wiley, 2009.

BEN-NISSAN, B. **Advances in Calcium Phosphate Biomaterials**. Berlin: Springer, 2012.

BERGSMA, J. E. et al. Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws. **Biomaterials**, v. 16, n. 1, p. 25-31, 1995.

BERNARDINO, R. M. **Impressão tridimensional e caracterização de estruturas porosas de fosfato tricálcico e sílica a partir de um polímero pré-cerâmico**. 2016. 109f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

BIBBER, D. **Plastics Technology. Secrets of Success in Micro Molding**, 2012. Disponível em: <<http://www.ptonline.com/articles/secrets-of-success-in-micro-molding>>. Acesso em: 25 de outubro de 2016.

BIGI, A. et al. The role of magnesium on the structure of biological apatites. **Calcified Tissue International**, v. 50, n. 5, p. 439-444, 1992.

BIGI, A. et al. Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, p. 1009-1016, 2007.

BIRKHOLZ, M.-N. et al. Calcium phosphate/microgel composites for 3D powderbed printing of ceramic materials. **Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering**, v. 61, n. 3, p. 267-279, 2016.

BLACK, J. Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility. In: BLACK, J. **Biocompatibility: Definition and Issues**. 4ª. ed. Boca Raton: CRC Press, 2005. p. 11.

BOANINI, E.; GAZZANO, M.; BIGI, A. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 1882-1894, 2010.

BRKOVIC, B. et al. Simple preservation of a maxillary extraction socket using beta-tricalcium phosphate with type I collagen: preliminary

clinical and histomorphometric observations. **Journal (Canadian Dental Association)**, v. 74, n. 6, p. 523-528, 2008.

CACCIOTTI, I. Cationic and anionic substitutions in hydroxyapatite. In: ANTONIAC, I. V. **Handbook of Bioceramics and Biocomposites**. Cham: Springer, 2016. p. 145-211.

CAMPOS, I. M. F. **reparo e caracterização de nanopartículas de PLGA para liberação de acetato de dexametasona**. 2013. 118f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

CASTRO, V. O. **Membranas eletrofiadas de poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico)/β-fosfato tricálcico para aplicação em regeneração óssea guiada**. 2018. 107f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

CHAAIR, H.; LABJAR, H.; BRITEL, O. Synthesis of β-tricalcium phosphate. **Morphologie**, v. 101, n. 334, p. 120-124, 2017.

CHENG, Z. et al. Synthesis, characterization and the formation mechanism of magnesium- and strontium-substituted hydroxyapatite. **Journal of Materials Chemistry B**, p. 3738-3746, 2015.

CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 29, n. 7, p. 1245-1255, 2009.

CORNO, M. et al. Periodic ab initio study of structural and vibrational features of hexagonal hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 8, n. 21, p. 2464-2472, 2006.

COSTA, M. P. **Estudo do comportamento do fluxo em microcavidades na microinjeção**. 2013. 87f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia de Polímeros, Universidade de Minho, Braga, 2013.

CUNHA, A. **Manual do Projectista para Moldes de Injeção de Plástico**. Marinha Grande: Edição Centimfe, v. 2, 2003.

CURRAN, D. J. et al. Mechanical parameters of strontium doped hydroxyapatite sintered using microwave and conventional methods. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 4, n. 8, p. 2063–2073, 2011.

DAHL, S. G. et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. **Bone**, v. 28, n. 4, p. 446-453, 2001.

DALCUSI, G.; BOULER, J. M.; LEGEROS, R. Z. Adaptive crystal formation in normal and pathological calcifications in synthetic calcium phosphate and related biomaterials. **International Review of Cytology**, v. 171, p. 129-191, 1997.

DE SANTIS, F.; VOLPE, V.; PANTANI, R. Effect of molding conditions on crystallization kinetics and mechanical properties of poly(lactic acid). **Polymer Engineering & Science**, v. 57, n. 3, p. 306-311, 2017.

DELABARDE, C. et al. Accelerated ageing and degradation in poly-L-lactide/hydroxyapatite nanocomposites. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, n. 4, p. 595-607, 2011.

D'ELIA, N. L. et al. Manipulating the bioactivity of hydroxyapatite nano-rods structured networks: Effects on mineral coating morphology and growth kinetic. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 11, p. 5014-5026, 2013.

DICKENS, B.; SCHROEDER, L. W.; BROWN, W. E. Crystallographic studies of the role of Mg as a stabilizing impurity in β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. The crystal structure of pure β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 232-248, 1974.

DIMOVA, C. et al. Alveolar Augmentation Using Different Bone Substitutes. In: ANTONIAC, I. V. **Handbook of Bioceramics and Biocomposites**. Cham: Springer, 2016. p. 1169-1174.

DOROZHKIN, S. V. Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine. **Materials**, v. 2, n. 4, p. 1975-2045, 2009.

DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphates: occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications. **Biomatter**, v. 1, n. 2, p. 121-164, 2011.

DOROZHKIN, S. V. **Calcium orthophosphates: Applications in nature, biology and medicine**. Boca Raton: CRC Press, 2012.

DOROZHKIN, S. V. Calcium orthophosphate bioceramics. **Ceramics International**, v. 41, n. 10, p. 13913-13966, 2015.

DOROZHKIN, S. V. Calcium Phosphates. In: ANTONIAC, I. V. **Handbook of Bioceramics and Biocomposites**. Cham: Springer, 2016. p. 91-118.

DOROZHKIN, S. V. Bioceramics of calcium orthophosphates. **Biomaterials**, v. 31, n. 7, p. 1465-1485, 2010.

DOURADO, É. R. **Preparação e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada dopada com estrôncio**. 2006. 113f. Dissertação (Mestrado) – Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Rio de Janeiro, 2006.

EHRENFRIED, L. M.; PATEL, M. H.; CAMERON, R. E. The effect of tri-calcium phosphate (TCP) addition on the degradation of polylactide-co-glycolide (PLGA). **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 1, p. 459-466, 2008.

ELLIOT, J. C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates**. Amsterdam: Elsevier Science, v. 18, 1994.

ERBETTA, C. D. C. et al. Synthesis and characterization of poly(D,L-lactide-co-glycolide) copolymer. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 3, n. 2, p. 208-225, 2012.

FADEEV, I. V. et al. Synthesis and structure of magnesium-substituted hydroxyapatite. **Inorganic Materials**, v. 39, n. 9, p. 947-950, 2003.

FAKIROV, S. **Biodegradable Polyesters**. Weinheim: Wiley-VCH, 2015.

FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 367–392, 2016.

FERNANDES, B. G. **Bioativação superficial de PEUAPM com hidroxiapatita**. 2009. 45f. Monografia (Trabalho de conclusão de graduação do curso de Engenharia de Materiais) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

FREITAS, C. D. et al. There have been changes in the incidence and epidemiology of pelvic ring fractures in recent decades? **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 48, n. 6, p. 474-481, 2013.

GARLOTTA, D. A Literature Review of Poly(Lactic Acid). **Journal of Polymers and the Environment**, v. 9, n. 2, p. 63-84, 2001.

GENG, Z. et al. Synthesis, characterization and the formation mechanism of magnesium- and strontium-substituted hydroxyapatite. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 3, p. 3738-3746, 2015.

GENTILE, P. et al. An overview of poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 3640-3659, 2014.

GOPI, D. et al. Strontium, cerium co-substituted hydroxyapatite nanoparticles: Synthesis, characterization, antibacterial activity towards prokaryotic strains and in vitro studies. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 451, p. 172-180, 2014.

GOZALIAN, A.; BAHNAMGHADER, A. A.; MOSHKFOROUSH, A. Crystal analysis of multi phase calcium phosphate nanoparticles containing different amount of magnesium. **International Journal of Modern Physics: Conference Series**, v. 5, p. 196-203, 2012.

GRANADO, R. M. et al. **Moldagem por injeção de microcomponentes ópticos em PMMA**. 7º Congresso Brasileiro de

Engenharia e Fabricação. Itatiaia: Associação Brasileira de Engenharia e Ciências Mecânicas. 2013.

GRANADOS-CORREA, F.; BONIFACIO-MARTÍNEZ, J.; SERRANO-GÓMEZ, J. Synthesis and characterization of calcium phosphate and its relation to Cr(VI) adsorption properties. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 26, n. 2, p. 129-134, 2010.

HENCH, L. L.; BEST, S. M. Ceramics, glasses, and glass-ceramics: Basic principles. In: RATNER, B. D., et al. **An Introduction to Materials in Medicine**. 3ª. ed. Oxford: Academic Press, 2013. p. 128-151.

HILL, D. **Design Engineering of Biomaterials for Medical Devices**. Newcastle: Wiley, 1998.

HU, S. et al. Ferroelectric polarization of hydroxyapatite from density functional theory. **RSC Advances**, v. 7, n. 35, p. 21375-21379, 2017.

IGNJATOVIĆ, N. L. et al. Micro- and nano-injectable composite biomaterials containing calcium phosphate coated with poly(DL-lactide-coglycolide). **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 6, p. 927-935, 2007.

IVANOV, S. Y. et al. Synthetic materials used for the substitution of bone defects: Critical review. **Annals of Oral & Maxillofacial Surgery**, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2013.

JAIN, A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. **Biomaterials**, v. 21, p. 2475-2490, 2000.

JENKIS, M.; STAMBOULIS, A. **Durability and reliability of medical polymers**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2012.

JIANG, L. X. et al. Effect of a new surface-grafting method for nano-hydroxyapatite on the dispersion and the mechanical enhancement for poly(lactide-co-glycolide). **Polymer Letters**, v. 8, n. 2, p. 133-141, 2014.

JIMÉNEZ, A.; PELTZER, M.; RUSECKAITE, R. **Poly(lactic acid) Science and Technology: Processing, Properties, Additives and Applications**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2015.

JOSE, M. V. et al. Aligned PLGA/HA nanofibrous nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 1, p. 305-315, 2009.

KAI, K. C. **Síntese, caracterização físico-química e avaliação biológica in vitro de cerâmicas de fosfato de cálcio dopadas com magnésio e zinco**. 2012. 92f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação

em Nanociências e Materiais Avançados, Universidade Federal do ABC, Santo André, 2012.

KALITA, S. J. et al. CaO-P2O5-Na2O-based sintering additives for hydroxyapatite (HAp) ceramics. **Biomaterials**, v. 25, n. 12, p. 2331-2339, 2004.

KANNO, T. et al. Overview of innovative advances in bioresorbable plate systems for oral and maxillofacial surgery. **Japanese Dental Science Review**, v. 54, n. 3, p. 127-138, 2018.

KATOH, Y. et al. Observation of calcium phosphate powder mixed with an adhesive monomer experimentally developed for direct pulp capping and as a bonding agent. **Dental Materials Journal**, v. 29, n. 1, p. 15-24, 2010.

KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: Tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v23n4/2652>>. Acesso em: 20 de outubro de 2016.

KIM, H. W. et al. Strontium substituted calcium phosphate biphasic ceramics obtained by a powder precipitation method. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 5, n. 10, p. 1129-1134, 2004.

KOKUBO, T.; KIM, H.; KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2161-2175, 2003.

KRUCINSKA, I. et al. Fabrication of PLGA/HAp and PLGA/PHB/HAp fibrous nanocomposites materials for osseous tissue regeneration. **AUTEX Research Journal**, v. 14, n. 2, p. 95-110, 2014.

KUMTA, P. N. et al. Nanostructured calcium phosphates for biomedical applications: novel synthesis and characterization. **Acta Biomaterialia**, v. 1, n. 1, p. 65-83, 2005.

KUŚNIERUK, S. et al. Influence of hydrothermal synthesis parameters on the properties of hydroxyapatite nanoparticles. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 7, p. 1586-1601, 2016.

LAM, C. X. F. et al. Composite PLDLLA/TCP scaffolds for bone engineering: Mechanical and in vitro evaluations. In: LIM, C. T.; GOH, J. C. H. **13th International Conference on Biomedical Engineering - IFMBE Proceedings**. Berlin: Springer, v. 23, 2009.

LAM, C. X. F. et al. Composite PLDLLA/TCP scaffolds for bone engineering: Mechanical and in vitro evaluations. In: LIM, C. T.; GOH, J. C. H. **13th International Conference on Biomedical Engineering - IFMBE Proceedings**. Berlin: Springer, v. 23, 2009.

LANDI, E. et al. Sr-substituted hydroxyapatites for osteoporotic bone replacement. **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 6, p. 961-969, 2007.

LANDI, E. et al. Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to in vivo behavior. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 1, p. 239-247, 2008.

LANDI, E. et al. Development of Sr and CO₃ co-substituted hydroxyapatites for biomedical applications. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 3, p. 656-663, 2008.

LASKUS, A.; KOLMAS, J. Ionic substitutions in non-apatitic calcium phosphates. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 12, p. E2542-2564, 2017.

LASSRI, S. et al. Mechanical properties of calcium phosphate biomaterials. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 628, n. 1, p. 198-203, 2016.

LEGEROS, R. Z. **Calcium phosphates in oral biology and medicine**. Basel: Karger, 1991.

LI, S. Hydrolytic degradation characteristics of aliphatic polyesters derived from lactic and glycolic acids. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 48, n. 3, p. 342-353, 1999.

LIN, K.; CHANG, J. Structure and properties of hydroxyapatite for biomedical applications. In: MUCALO, M. **Hydroxyapatite (HAp) for Biomedical Applications**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2015. p. 3-19.

LIUYUN, J. et al. Effect of n-HA with different surface-modified on the properties of n-HA/PLGA composite. **Applied Surface Science**, v. 259, p. 72-78, 2012.

LOWENSTAM, H. A.; WEINER, S. **On Biomineralization**. New York: Oxford University Press, 1989.

MAKADIA, H. K.; SIEGEL, S. J. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. **Polymers**, v. 3, p. 1377-1397, 2011.

MATHEW, M. et al. The crystal structure of α -Ca₃(PO₄)₂. **Acta Crystallographica Section B**, v. B33, p. 1325-1333, 1977.

MATSUNAGA, K. et al. First-principles calculations of divalent substitution of Ca²⁺ in tricalcium phosphates. **Acta Biomaterialia**, v. 23, n. 1, p. 329-337, 2015.

MCCONNELL, D. **Apatite: Its crystal chemistry, mineralogy, utilization, and geologic and biologic occurrences**. Viena: Springer-Verlag, 1973.

MELO, L. P. et al. Influence of processing conditions on the mechanical behavior and morphology of injection molded poly(lactic-co-

glycolic acid) 85:15. **International Journal of Biomaterials**, v. 2017, 2017.

MERLINI, C. **Desenvolvimento de membranas eletrofiadas de poli (fluoreto de vinilideno) com polipirrol para aplicação em sensores de compressão**. 2014. 171f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

MEYER, F. et al. Effects of lactic acid and glycolic acid on human osteoblasts: a way to understand PLGA involvement in PLGA/calcium phosphate composite failure. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 30, n. 6, p. 864-871, 2012.

MIDDLETON, J. C.; TIPTON, A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. **Biomaterials**, v. 21, n. 23, p. 2335-2346, 2000.

MOHAN, D. et al. Current implants used in cranioplasty. In: ANTONIAC, I. V. **Handbook of Bioceramics and Biocomposites**. Cham: Springer, 2016. p. 1275-1308.

MOTTA, A. C. **Síntese e caracterização de poli(L-ácido láctico) - PLLA e poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico) - PLGA e estudo da degradação "in vitro"**. 2002. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica, área de concentração de Materiais e Processos de Fabricação) – Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

MURARIU, M.; DUBOIS, P. PLA composites: From production to properties. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 107, p. 17-46, 2016.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Development of nanocomposites for bone grafting. **Composites Science and Technology**, v. 65, n. 15-16, p. 2385-2406, 2005.

NADDARI, T. et al. Substitution mechanism of alkali metals for strontium in strontium hydroxyapatite. **Materials Research Bulletin**, v. 38, n. 2, p. 221-230, 2003.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 762-798, 2007.

NIAOUNAKIS, M. **Biopolymers: Applications and Trends**. Oxford: William Andrew, 2015.

NOZAKI, A. C. M. et al. **Avaliação da citotoxicidade de membranas de colágeno visando à aplicação como biomaterial**. Avaliação da citotoxicidade de membranas de colágeno visando à aplicação como biomaterial. Natal: 7ª ed. 2012.

OGOSE, A. et al. Comparison of hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors.

Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, v. 72, n. 1, p. 94-101, 2005.

OLIVEIRA, M. V. **Desenvolvimento de revestimento poroso de titânio para implantes cirúrgicos**. 2003. 176f. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

PARK, J. B. **Biomaterials Science and Engineering**. New York: Plenum Press, 1984.

PARK, J. B.; LAKES, R. S. **Biomaterials: An Introduction**. 3ª. ed. New York: Springer, 2007.

PARK, J.; KANG, S. Study on surface, thermal and mechanical properties of absorbable PLGA plate. **International Journal of Control and Automation**, v. 6, n. 6, p. 73-82, 2013.

PARK, S. et al. Evaluation of poly(lactic-co-glycolic acid) plate and screw system for bone fixation. **The Journal of Craniofacial Surgery**, v. 24, n. 3, p. 1021-1025, 2013.

PATERNIO JUNIOR, D. Biomateriais. **Implacil De Bortoli**, 2015. Disponível em: <<http://www.debortoli.com.br/detalheArtigo.asp?id=950>>. Acesso em: 20 de outubro de 2016.

PELEIAS JUNIOR, F. S. **Desenvolvimento da metodologia para síntese do poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) para utilização na produção de fontes radioativas**. 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 2013.

PEREIRA, A. P. V.; VASCONCELOS, W. L.; ORÉFICE, R. L. Novos Biomateriais: Híbridos Orgânicos-Inorgânicos Bioativos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 9, p. 104-109, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/po/v9n4/6190>>. Acesso em: 20 de outubro de 2016.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

RABELO NETO, J. S. et al. Synthesis and characterization of calcium phosphate compounds with strontium and magnesium ionic substitutions. **International Journal of Morphology**, v. 33, n. 3, p. 1189-1193, 2015.

RABELO NETO, J. S. **Hidroxiapatita sintética nanoestruturada e esmalte dental aquecidos e irradiados por laser de**

Er,Cr: YSGG. Caracterização por FTIR e por DRX. 2009. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RABELO NETO, J. S. **Efeitos da substituição iônica por estrôncio na morfologia de cristais de fosfatos de cálcio e no polimorfismo da hidroxiapatita hexagonal e monoclinica.** 2015. 174f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

RAMAKRISHNA, S. et al. **An introduction to biocomposites.** London: Imperial College Press, 2004.

RAMALHO, E. G. **Obtenção de cerâmicas à base de tricálcio fosfatos utilizando óxido de manganês como aditivo.** 2006. 72f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2006.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine.** 2ª. ed. San Diego: Academic Press, 2004.

REN, F. et al. Synthesis, characterization and ab initio simulation of magnesium-substituted hydroxyapatite. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 7, p. 2787-2796, 2006.

REY, C. et al. Characterization of calcium phosphates using vibrational spectroscopies. In: BEN-NISSAN, B. **Advances in Calcium Phosphate Biomaterials.** Berlin: Springer-Verlag, 2014. p. 229-266.

REZWAN, K. et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 18, p. 3413-3431, 2006.

ROCHA, D. N. et al. Mg substituted apatite coating from alkali conversion of acidic calcium phosphate. **Materials Science and Engineering: C**, v. 70, p. 408-417, 2017.

RUEDA, C. et al. Degradation of poly(lactic-L(+)-co-glycolic acid) in chloroform. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 14, n. 3, p. 813-827, 2015.

RUIZ-AGUILAR, C. et al. Characterization of β -tricalcium phosphate powders synthesized by sol-gel and mechanosynthesis. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 57, n. 5, p. 213-220, 2018.

SAKKA, S.; BOUAZIZ, J.; AYED, F. B. Mechanical properties of biomaterials based on calcium phosphates and bioinert oxides for applications in biomedicine. In: PIGNATELLO, R. **Advances in**

Biomaterials Science and Biomedical Applications. [S.l.]: InTech, 2013. p. 23-50.

SAKKA, S.; BOUAZIZ, J.; AYED, F. B. Mechanical properties of biomaterials based on calcium phosphates and bioinert oxides for applications in biomedicine. In: PIGNATELLO, R. **Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications.** [S.l.]: InTech, 2013. p. 23-50.

SALGADO, A. J.; COUTINHO, O. P.; REIS, R. L. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. **Macromolecular Bioscience**, v. 4, n. 8, p. 743-765, 2004.

SANADA, J. T. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. **Journal of Applied Oral Science**, v. 11, n. 3, p. 209-215, 2003.

SANTOS, D. V. **Estudo das propriedades mecânicas de compósitos a base de poli(L-ácido láctico) e nano-hidroxiapatita obtidos por extrusão.** 2011. 140f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

SANTOS, D. V. et al. Development of polymer/nanoceramic composite material with potential application in biomedical engineering. **Materials Science Forum**, v. 727-728, p. 1142-1146, 2012.

SANTOS, P. L. et al. Review article bone substitutes for peri-implant defects of postextraction implants. **International Journal of Biomaterials**, p. 1-7, 2013.

SHAH, A. M.; JUNG, H.; SKIRBOLL, S. Materials used in cranioplasty: a history and analysis. **Neurosurg Focus**, v. 36, n. 4, p. E19, 2014.

SHEIKH, Z. et al. Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications. **Materials**, v. 8, p. 5744-5794, 2015.

SHIKINAMI, Y.; OKUNO, M. Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics. **Biomaterials**, v. 20, n. 9, p. 859-877, 1999.

SHIKINAMI, Y.; OKUNO, M. Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part II. Practical properties of miniscrews and miniplates. **Biomaterials**, v. 22, n. 23, p. 3197-3211, 2001.

SHIRAZI, R. N. et al. Nanomechanical properties of poly(lactic-co-glycolic) acid film during degradation. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 11, p. 4695-4703, 2014.

SILVA, A. T. C. R. et al. Synthesis, characterization, and study of PLGA copolymer in vitro degradation. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 6, n. 1, p. 8,19, 2015.

SIN, L. T.; RAHMAT, A. R.; RAHMAN, W. A. W. A. **Polylactic Acid: PLA Biopolymer Technology and Applications**. Oxford: Elsevier, 2012.

SOUZA, F. L. **Metodologia de análise de implante bioreabsorvível aplicado em coluna lombar utilizando modelagem por elementos finitos e curva de degradação**. 2011. 108f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

SOUZA, S. G. **Desenvolvimento de membranas de PLGA funcionalizadas com agentes antimicrobianos nanoestruturados**. 2017. 66f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2017.

SUCHANEK, W.; YOSHIMURA, M.. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. **Journal of Materials Research**, p. 94-117, 1998.

SURACE, R. et al. The micro injection moulding process for polymeric components manufacturing. In: _____ **New Technologies – Trends, Innovations and Research**. [S.l.]: Intech Open, 2012. p. 65-90.

TAMPIERI, A. et al. Magnesium doped hydroxyapatite: synthesis and characterization. **Key Engineering Materials**, v. 264-268, p. 2051-2054, 2004.

TAMPIERI, A. et al. Hydroxyapatite: From nanocrystals to hybrid nanocomposites for regenerative medicine. In: ANTONIAC, I. V. **Handbook of Bioceramics and Biocomposites**. Cham: Springer, 2016. p. 119-144.

TÕNSUAADU, K. et al. A review on the thermal stability of calcium apatites. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 110, n. 2, p. 647–659, 2012.

TOSHIMA, T. et al. Morphology control of brushite prepared by aqueous solution synthesis. **Journal of Asian Ceramic Societies**, v. 2, p. 52-56, 2015.

URAL, E. et al. Poly(d,l-lactide/ε-caprolactone)/hydroxyapatite composites. **Biomaterials**, v. 21, n. 21, p. 2147-2154, 2000.

VALLET-REGÍ, M. Ceramics for medical applications. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, v. 0, n. 2, p. 97-108, 2001.

VALLET-REGÍ, M.; ARCOS, D. **Biomimetic nanoceramics in clinical use from materials to applications**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008.

VAN DE VELDE, K.; KIEKENS, P. Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. **Polymer Testing**, v. 21, n. 4, p. 433-442, 2002.

VERBERCKMOES, S. C. et al. Effects of strontium on the physicochemical characteristics of hydroxyapatite. **Calcified Tissue International**, v. 75, n. 5, p. 405-415, 2004.

VERT, M. et al. Stereoregular bioresorbable polyesters for orthopaedic surgery. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 5, p. 30-41, 1981.

WANG, P. et al. Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process. **Powder Technology**, v. 203, n. 2, p. 315-321, 2010.

WANG, W.; YEUNG, K. W. K. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. **Bioactive Materials**, v. 2, n. 4, p. 224-247, 2017.

WANG, X. et al. Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: A review. **Biomaterials**, v. 83, p. 127-141, 2016.

WUISMAN, P. I. J. M.; SMIT, T. H. ioresorbable polymers: heading for a new generation of spinal cages. **European Spine Journal**, v. 15, n. 2, p. 133-148, 2006.

XIA, W. Ion substitution of bioceramics: The role of ions. **Journal of Powder Metallurgy & Mining**, v. 2, n. 2, 2013.

XIE, X.-H. et al. Biofabrication of a PLGA–TCP-based porous bioactive bone substitute with sustained release of icaritin. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 9, n. 8, p. 961–972, 2015.

XU , Y. et al. Effects of both Sr and Mg substitution on compositions of biphasic calcium phosphate derived from hydrothermal method. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 15, p. 210–222, 2018.

YANG, Y. et al. In vitro degradation of porous poly(L-lactide-co glycolide)/b-tricalcium phosphate (PLGA/b-TCP) scaffolds under dynamic and static conditions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 93, n. 10, p. 1838-1845, 2008.

YANG, Z.; BEST, S. M.; CAMERON, R. E. The influence of α -tricalcium phosphate nanoparticles and microparticles on the degradation

of poly(D,L-lactide-co-glycolide). **Advanced Materials**, v. 21, n. 38-39, p. , 2009., v. 21, n. 38-39, p. 3900-3904, 2009.

YASHIMA, M. et al. Crystal structure analysis of β -tricalcium phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ by neutron powder diffraction. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 175, n. 2, p. 272-277, 2003.

YUAN, X. et al. Wet-chemical synthesis of Mg-doped hydroxyapatite nanoparticles by step reaction and ion exchange processes. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, p. 6551–6559, 2013.

ZHANG, N. et al. Fabrication of nanocrystalline hydroxyapatite doped degradable composite hollow fiber for guided and biomimetic bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 27, n. 3, p. 599-606, 2007.

ZHOU, H.; LEE, J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 7, p. 2769-2781, 2011.

ZYMAN, Z. et al. Magnesium-substituted hydroxyapatite ceramics. **Materialwissenschaft und Werkstofftechnik**, v. 37, p. 474-477, 2006.