INFLUÊNCIA DO COLÁGENO NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ANTIBIÓTICO ASSOCIADO AO SISTEMA HA/COLÁGENO

Eliane Leal de Lara (PIBIC/CNPq/UEPG), Jesiane S. S. Batista, Eder Carlos Ferreira de Souza, Christiane P. F. Borges, André Vitor Chaves de Andrade, Sandra Regina Masetto Antunes (Orientadora), e-mail: sandrareg@uepg.com
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Ciências Exatas e da Terra, Química, Química Inorgânica.

Palavras-chave: Biomateriais, Compósito, Incorporação.

Resumo

Biomateriais apresentam a função de tratamento, substituição, reparação ou sustentação de tecidos biológicos removidos e/ou danificados do corpo. Os avanços na área de biomateriais estão associados ao desenvolvimento de novos biomateriais ou o aperfeiçoamento dos utilizados na atualidade por meio de associações com outros compostos ou mudanças estruturais. Dentre os biomateriais utilizados na medicina e odontologia, destaca-se a hidroxiapatita (HA), componente mineral natural de ossos e dentes que pode ser obtida de maneira sintética, mantendo sua semelhança com a estrutura natural do composto. A fim de otimizar as características deste biomaterial, neste trabalho obteve-se a HA associada a outros compostos, como o colágeno e antibiótico. O colágeno foi utilizado devido as suas características biocompatíveis e reabsorvíveis, além de facilitar o manuseio do compósito durante a aplicação. Além do colágeno, realizou-se a associação com antibiótico com o objetivo de uma liberação localizada do mesmo. As amostras obtidas foram caracterizadas por FTIR, DRX e MEV. Pelas análises dos resultados verificou-se que os compósitos obtidos possuem uma morfologia de partículas nanométricas com a formação de aglomerados. O efeito antimicrobiano foi avaliado por meio do antibiograma frente à *Staphylococcus aureus,* observou-se que o crescimento bacteriano foi inibido pelo compósito HA/Col/Am.

Introdução

A hidroxiapatita (HA) é um dos principais biomateriais utilizados devido sua similaridade com as estruturas naturais, designada a aumentar a regeneração ou substituir tecidos biológicos funcionais ou estruturais danificados (APPEL et al., 2013). É um dos componentes majoritários na formação estrutural de ossos e dentes, composta de fosfato de cálcio, com razão Ca/P de 1,67 e referência na área de enxertos ósseos, de aplicação médica e odontológica (NAYAK; LAHA; SEM. 2011). Porém, o uso da HA como enxerto ósseo possui desafios, como sua dispersão e difícil manuseio na forma de pó. Tal limitação pode ser minimizada com a associação da HA com o colágeno. Este biocompósito, além de facilitar o manuseio, auxilia na osteogênese formando matrizes de calcificação (E'GUES; PAULA; GOISSIS, 2008), otimizando a característica reabsorvível do compósito (DELLA PORTA et al., 2016).

Mesmo minimizando o problema do manuseio e dispersão do material, o uso da HA sintética como enxerto ósseo, não isenta o implante de casos de rejeição ou infecção (OGAWA; PLEPIS, 2002). Tais ocorrências levam à busca de associações que possuam a capacidade de combater infecções e complicações no tecido, levando ao uso de antibióticos. A associação da HA com o colágeno e outros polímeros auxilia na liberação lenta de antibióticos, pois a camada externa destes materiais impede a difusão inicial e rápida do antibiótico, permitindo a obtenção de concentrações desejáveis diretamente nos ossos (DALLA PORTA et al., 2016).

No trabalho exposto foi realizado um estudo da associação HA/colágeno/antibiótico ß-lactâmico. O método de síntese utilizado foi o da precipitação por via úmida, consistindo na adição de íons fosfato à suspensões contendo íons cálcio, controlando-se os parâmetros de envelhecimento, pH e velocidade da adição de reagentes.

Material e Métodos

A hidroxiapatita foi sintetizada pela reação de precipitação em via úmida, utilizando-se $Ca(OH)_2$ e H_3PO_4 como precursores de íons cálcio e fosfato, respectivamente, controlando-se a velocidade de adição dos reagentes e o pH, por meio da adição de NH_4OH até atingir pH 10 antes do início do envelhecimento. O envelhecimento das amostras foi de 36 horas, após as quais realizou-se a filtração a vácuo e secagem das amostras em estufa, sendo as mesmas desaglomeradas manualmente até a obtenção de pós. As amostras foram caracterizadas por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (SHIMADZU IR PRESTIGE 21 no modo de transmitância com 64 scans, num comprimento de onda de 4000 a 400 cm-1), difração de raios x (difratômetro da marca SHIMADZU XRD – 6000, de geometria Bragg – Brentano, com tubo de cobre operando a 40 kV e 30 mA), microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo marca TESCAN MIRA3 LM (MEV-FEG) acoplada a um espectrômetro por dispersão de energia (EDS) e área superficial específica pelo método BET.

O colágeno foi incorporado às amostras de hidroxiapatita em diferentes proporções utilizando-se moinho de bolas, sendo as amostras colocadas em estufa para a secagem e caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho e microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo.

A incorporação de antibiótico foi realizada em moinho de bolas, fixando-se a proporção entre os compósitos HA/Colágeno e a amoxicilina, sendo as amostras submetidas à secagem em estufa em temperatura moderada. O efeito antimicrobiano foi avaliado com a liberação gradual e controlada com antibiograma frente à *Staphylococcus aureus*.

Resultados e Discussão

Os pós obtidos foram caracterizados estruturalmente pela difratometria de raios X, cuja as análises dos difratogramas indicam uma hidroxiapatita monofásica. Além da análise estrutural, foi realizada a espectroscopia na região do infravermelho para verificar se as amostras possuíam os grupos funcionais referentes à hidroxiapatita e se houve alguma substituição iônica na estrutura. Por meio do espectro obtido pode-se visualizar a presença de grupos carbonatos na estutura,

caracterizando uma hidroxiapatita carbonatada, o espectro é mostrado na figura 1 (a).

A incorporação do colágeno se deu pelo moinho de bolas, sendo a caracterização feita por meio da espectroscopia na região do infravermelho, onde pode-se observar as bandas características da hidroxiapatita pura, bem como as bandas características do colágeno, as quais apresentaram maior intensidade com a diminuição da proporção HA/Col.

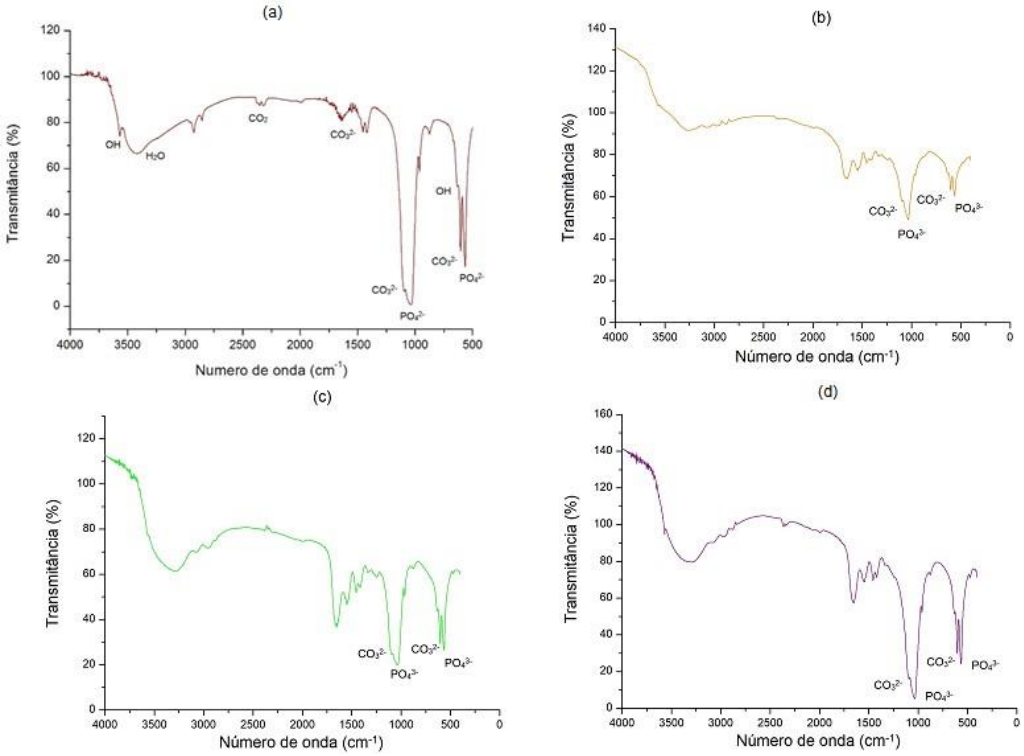


Figura 1 – Espectros FTIR das amostras de (a) HA pura e do compósito HA/Col nas proporções (b) HA/Col 4,8:1 (c) HA/Col 2,4:1 e (d) HA/Col 1,6:1.

Utilizou-se o moinho de bolas também na incorporação da amoxicilina ao compósito HA/Col, cujos espectros FTIR mostram as bandas características da hidroxiapatita e do colágeno (região entre 1750 e 1250 cm^{-1}), com a inclusão das bandas características da amoxicilina, como mostra a figura 2.

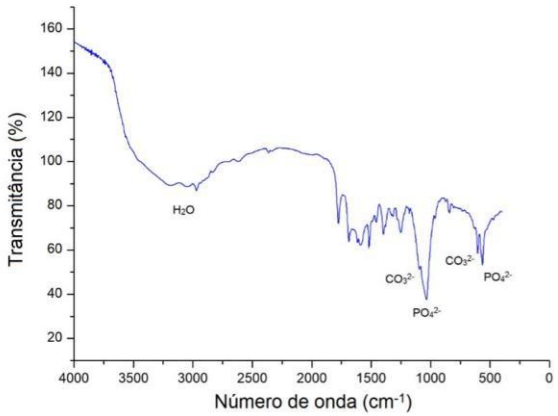


Figura 2 – Espectro FTIR da amostra do compósito HA/Col/Am.

Após a incorporação do antibiótico, foi analisada a atuação do mesmo em antibiograma frente à *Staphilococcus aureus*, que demonstrou a inibição do crescimento bacteriano do compósito, mesmo em diferentes concentrações de colágeno.

Conclusões

A hidroxiapatita obtida apresentou-se em fase única, identificada na análise do DRX e apresentou uma estrutura carbonatada, devido aos grupos carbonatos expostos nas análises de infravermelho (IV). A incorporação do colágeno no moinho de bolas foi efetiva, como mostrado nos espectros de IV do compósito HA/Col em comparação com o espectro da HA pura. O mesmo resultado foi obtido em relação à incorporação da amoxicilina, também avaliada pelos espectros de IV. Tanto a HA pura quanto os compósitos possuem uma morfologia de partículas nanométricas com a formação de aglomerados. O crescimento bacteriano foi inibido pelo compósito HA/Col/Am.

Agradecimentos

CNPq, C-LABMU, UEPG, CAPES, Fundação Araucária.

Referências

APPEL, A. Alyssa, et al. Imaging challenges in biomaterials and tissue engineering. **Biomaterials**, v.34, n.28., p. 6615-6630. 2013.

DELLA PORTA, G., et al. Injectable PLGA/Hydroxyapatite/Chitosan Microcapsules Produced by Supercritical Emulsion Extraction technology: an in vitro study on teriparatide/gentamicin controlled release. **Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 105, n. 6., 2016.

E'GUES, A.M. Miguel., PAULA, Márcio., GOISSIS, Gilberto. Compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita como material para endodontia: preparação e caracterização. **Rev. odonto ciênc**, v.23, n.2., p. 134-140, 2008.

NAYAK, K. Amit., LAHA, Bibek., SEM K. Kalyan. Development of hydroxyapatite-ciprofloxacin bone-implants using Quality by design. **Acta Pharm**, v.61, n.1., p. 25-36. 2011.

OGAWA, A. Claudia, PLEPIS, M.G. Ana. Liberação In Vitro de Cloridrato de Ciprofloxacina em Compósitos Hidroxiapatita: Colágeno. **Polímeros**, v.12, n.2., 2002.