DESENVOLVIMENTO DE COMPÓSITO BIORREABSORVÍVEL A BASE DE HIDROGEL VISANDO REGENERAÇÃO ÓSSEA

Paula Fachini Freitas, Ermelinda Silvana Junckes, Marcia Margarete Meier

INTRODUÇÃO

A regeneração óssea frequentemente demanda a reconstrução não apenas do tecido duro, mas também da interface com o tecido mole adjacente, zona de transição crítica para a distribuição de tensões mecânicas e para a integração funcional do material implantado (Carvalho et al., 2021; Mattheos, 2011; Miranda Júnior; Paim, 2022). Micro e nanotecnologias avançadas têm possibilitado o desenvolvimento de *scaffolds* em gradiente, capazes de mimetizar a transição natural entre osso e tecido mole e aprimorar a transferência de tensão mecânica e os desfechos de cicatrização (Xu et al., 2026; Gao et al., 2021). Hidrogéis à base de gelatina metacrilada (GelMA) apresentam potencial para essa função de interface, por reterem grande quantidade de água, mimetizarem a matriz extracelular e exibirem módulo mecânico compatível com tecidos moles; no entanto, costumam demandar a incorporação de componentes bioativos para potencializar seu desempenho biológico e ajustar sua rigidez (Bupphathong et al., 2022). A brushita (DCPD, fosfato dicálcio di-hidratado) é um fosfato de cálcio com solubilidade superior à hidroxiapatita (HAp), o que favorece sua rápida reabsorção e a liberação de íons Ca^{2+} em meio fisiológico (Boanini et al., 2021), enquanto a N-acetilcisteína (NAC) é um fármaco de reconhecida atividade antioxidante e bactericida, cuja adsorção sobre fosfatos de cálcio pode contribuir para a liberação controlada do princípio ativo (Golovanova; Golovchenko, 2019). A literatura relata que nanocristais de celulose (CNC) podem influenciar a nucleação de outros fosfatos de cálcio, reduzindo o tamanho de partícula e aumentando a área superficial disponível (Fang et al., 2016; Mathew et al., 2021), efeito que este trabalho buscou investigar também para a brushita. Diante disso, este trabalho teve como objetivos sintetizar e caracterizar brushita, com e sem a incorporação de CNC, obter GelMA por funcionalização de gelatina, e avaliar preliminarmente a capacidade de adsorção de NAC nos fosfatos de cálcio sintetizados, em busca do desenvolvimento futuro de um compósito de interface entre tecido mole e tecido ósseo.

DESENVOLVIMENTO

A síntese de brushita foi realizada por precipitação aquosa a partir de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) e ácido fosfórico (H_3PO_4), mantendo razão molar Ca/P igual a 1,00, adaptando a metodologia de Savicki (2022) e considerando parâmetros experimentais de estudos correlatos (Pham Minh et al., 2013), com monitoramento contínuo de pH e temperatura; o material foi seco em estufa a 37 °C. Para investigar o efeito da incorporação de nanocristais de celulose, sintetizou-se também o compósito DCPD-CNC, com auxílio de ponteira ultrassônica para dispersão homogênea, monitorando-se pH e temperatura ao longo de toda a reação. Ambos os materiais foram caracterizados por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) (Bruker, INVENIO-S), no modo de reflectância total atenuada (ATR), Difração de Raios-X (DRX) (SHIMADZU, modelo 6000) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Neo Scope, modelo JCM-7000).

Paralelamente, realizou-se a funcionalização de gelatina (tipo A, lote M5679, Gelnex Indústria e Comércio, Brasil) com anidrido metacrílico (0,2 mL/g) (lote STBK4121, Sigma Aldrich®), adaptando o método de Krama (2023), com correção de pH a cada adição, seguida de purificação por diálise (MWCO de 12.000 Da, lote D6191, Sigma Aldrich®) e liofilização, obtendo-se a gelatina metacrilada (GelMA). O grau de metacrilação foi determinado por ressonância magnética nuclear (RMN) (AVANCE III HD 400MHz – Bruker)

de ^{1}H, considerando o sinal da lisina (2,96 ppm) e o sinal aromático da fenilalanina como referência interna.

Por fim, conduziram-se ensaios preliminares de adsorção de NAC em DCPD, DCPD-CNC e hidroxiapatita (HAp), com soluções de 5 a 30 mM em PBS (pH 7,4), sob agitação (300 rpm, 2 h), repouso (24 h) e centrifugação. Na quantificação empregou-se colorimetria por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) (Shimadzu, UV-1280) com ferrozina-Fe^{2+} (562 nm), construída com base em curva de calibração previamente estabelecida no grupo de pesquisa.

RESULTADOS

A caracterização por FTIR confirmou a obtenção da fase brushita, evidenciada pelas bandas de estiramento de hidroxila (3481 e 3146 cm^{-1}), deformação da água estrutural (1645 cm^{-1}) e estiramento do grupo fosfato (1117, 1057, 985 cm^{-1}) e carbonato (872 cm^{-1}) (fig. 1a). O difratograma de raios-X apresentou os picos característicos da fase monoclínica da brushita ($2\theta \approx 11,6°$; 20,9°; 23,4°; 29,2° e 30,5°), em concordância com o padrão ICDS nº 00-003-0836 (fig. 1b), sem indícios de fases secundárias de apatita ou monetita. As imagens de MEV revelaram partículas alongadas em forma de placas organizadas em aglomerados, morfologia típica da brushita (fig. 1c).

A funcionalização da gelatina foi confirmada por RMN de ^{1}H, que evidenciou o surgimento de sinais vinílicos entre 5,3 e 6,2 ppm, o aumento do sinal em 1,8–1,9 ppm (CH_3 do éster metacrílico) e a redução do sinal da lisina em 2,96 ppm (fig. 2a), indicando grau de metacrilação de 94,41 ± 2,60 %.

A síntese do compósito DCPD-CNC também foi realizada, com monitoramento de pH e de temperatura ao longo de toda a reação, indicando controle adequado do processo. Nos ensaios preliminares de adsorção, observou-se redução consistente da absorbância das soluções de NAC após contato com DCPD, DCPD-CNC e HAp (hidroxiapatita), indicando a ocorrência do processo de adsorção nas três matrizes avaliadas (Fig. 2b). As diferenças de capacidade adsortiva entre os materiais e o eventual papel da incorporação de CNC nesse processo ainda estão sendo quantitativamente avaliados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstram a viabilidade da síntese de brushita, com e sem CNC, e a obtenção de GelMA com alto grau de metacrilação, além de evidências preliminares de que os fosfatos de cálcio sintetizados são capazes de adsorver N-acetilcisteína. Esses materiais constituem a base para o desenvolvimento de um compósito de GelMA e brushita com rigidez ajustável, capaz de atuar como *scaffold* de interface entre tecido mole e tecido ósseo, hipótese a ser explorada nas próximas etapas do projeto. Como continuidade, serão finalizadas as análises de adsorção de NAC, avaliando comparativamente o efeito da CNC sobre a capacidade adsortiva dos fosfatos de cálcio, e desenvolvido e caracterizado o compósito GelMA/brushita, subsidiando a construção futura de um sistema multifuncional para regeneração dessa interface.

Palavras-chave: scaffold de gradiente; enxertia óssea; GelMA; brushita; N-acetilcisteína.

ANEXOS

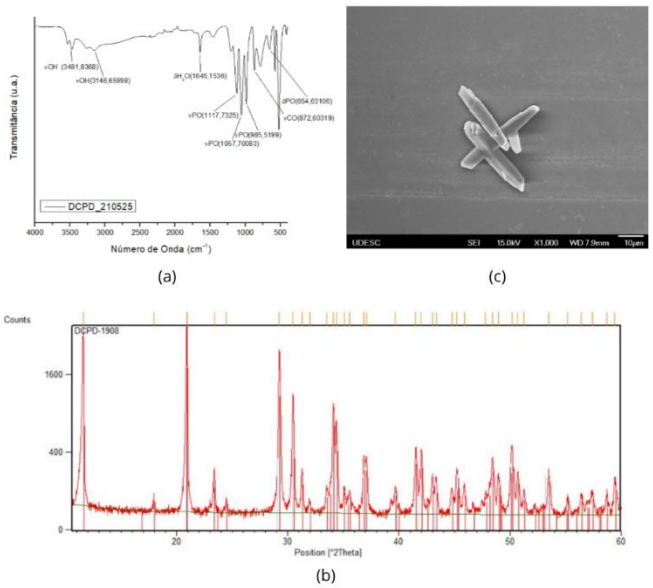


Figura 1. *Espectro de FTIR (a) de brushita (fosfato de cálcio hidratado), (b) difratograma de raios-x de brushita, (c) imagem de MEV de brushita.*

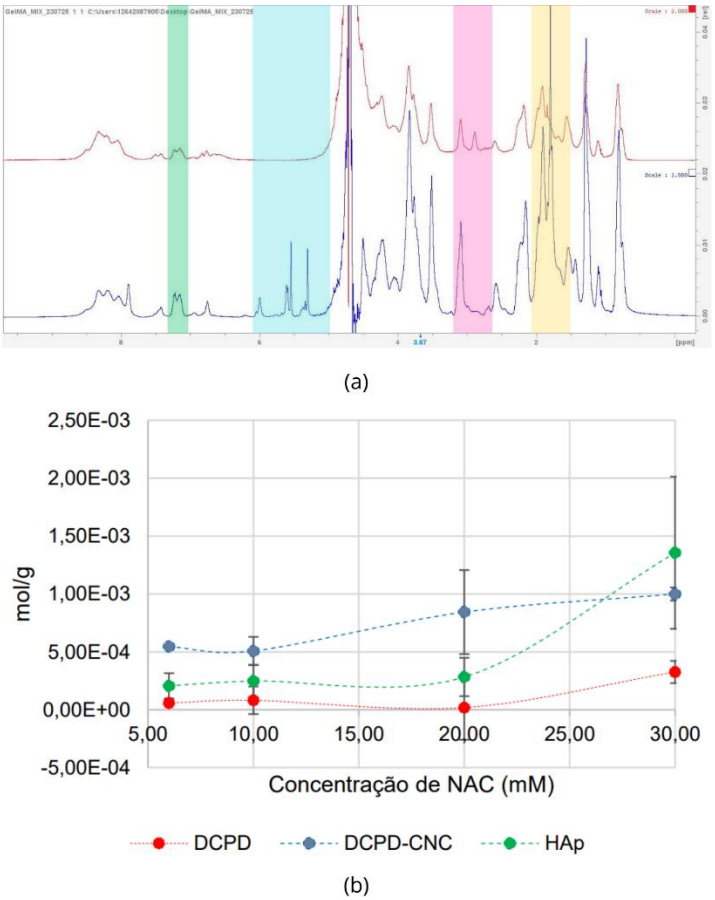


Figura 2. *Espectro de RMN ^{1}H (a) de gelatina pura (vermelho) e gelMA (azul) e (b) Isotermas de adsorção preliminar de NAC em DCPD, DCPD-CNC e HAp em PBS 7,4.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOANINI, Elisa et al. Synthesis and Hydrolysis of Brushite (DCPD): The Role of Ionic Substitution. Crystal Growth & Design, v. 21, n. 3, p. 1689–1697, 2021.

BUPPHATHONG, Sasinan et al. Gelatin Methacrylate Hydrogel for Tissue Engineering Applications — A Review on Material Modifications. Pharmaceuticals, v. 15, n. 2, p. 171, 2022.

CARVALHO, L. M. DE; CARRIJO, M. O.; SOUZA, M. T. O. E; CAMARGO, M. R. Como escolher qual técnica de enxertia aplicar? Uma revisão sobre os diferentes tipos de enxerto ósseo dentário. Rev Saúde Mult, v. 9, n. 1, p. 1519, 2021.

FANG, Wancai et al. Hydroxyapatite Crystal Formation in the Presence of Polysaccharide. Crystal Growth & Design, v. 16, n. 3, p. 1247–1255, 2016.

GAO, Jingming et al. Cell-Free Bilayered Porous Scaffolds for Osteochondral Regeneration Fabricated by Continuous 3D-Printing Using Nascent Physical Hydrogel as Ink. Advanced Healthcare Materials, v. 10, n. 3, p. 2001404, 2021.

GOLOVANOVA, O. A.; GOLOVCHENKO, K. K. Amino Acid Adsorption on Surfaces of Brushite and Hydroxylapatite. Russian Journal of Physical Chemistry A, v. 93, n. 11, p. 2275–2283, 2019.

KRAMA, Angelita Rita. Produção de material para enxertia óssea: uma alternativa para aplicação de carga imediata. 2023. 116 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2023.

MATHEW, Meldin et al. Facile One-Step Synthesis of Calcium Phosphate/Cellulose Composite: Synthesis, Morphology, Structure and Properties. Macromolecular Symposia, v. 398, n. 1, p. 2000264, 2021.

MATTHEOS, N. Interventions for replacing missing teeth: Dental implants in fresh extraction sockets (immediate, immediate-delayed and delayed implants): Commentary. Australian Dental Journal, v. 56, n. 1, p. 100–102, 2011.

MIRANDA JÚNIOR, J. N.; PAIM, R. C. Aspectos relevantes sobre aplicabilidade de carga imediata em implantodontia. JNT- Facit Business and Technology Journal, v. 2, n. 39, p. 293–304, 2022.

PHAM MINH, Doan et al. One-Step Synthesis of Calcium Hydroxyapatite from Calcium Carbonate and Orthophosphoric Acid under Moderate Conditions. Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 52, n. 4, p. 1439–1447, 2013.

SAVICKI, Cristiane. Produção de hidrogéis de hidroxiapatita/colágeno tipo I como sistemas de bioativação e liberação dos antibióticos doxiciclina e cefalexina. 2022. 200 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, 2022.

XU, Yan et al. Recent advances in biomaterials and structural design of 3D printed multiphasic scaffolds for osteochondral regeneration. Materials Science and Engineering: R: Reports, v. 170, p. 101210, 2026.