

## **Biovidro 45S5: Modificações no arranjo estrutural visando atender à necessidades específicas na regeneração óssea**

Silva, A.C.<sup>1,2</sup>, Aparecida, A. H.<sup>1,3</sup>, Braga, J.F.C.<sup>2</sup>,

(1) *Consulmat Prod. Técnicos Ind. e Com. Ltda. – Rua Juan Lopes, 159, São Carlos, SP, Brasil*

(2) *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) – Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, São Paulo, SP, Brasil*

(3) *Instituto de Química de Araraquara – Unesp, Rua Prf. Francisco Degni, s/n, Araraquara, SP, Brasil*

A propriedade osteoindutora observada nos biovidros após sua implantação cirúrgica se deve à formação de grupos fosfatos de cálcio na superfície destes materiais quando em contato com os fluidos corporais. Este processo depende de fenômenos de dissolução e difusão, os quais são, por sua vez, definidos pelo arranjo estrutural do biovidro. Neste arranjo, os segmentos de sílica são unidos através de grupos fosfato, os quais definem o distanciamento entre os segmentos da rede vítrea, e por conseqüência influenciam a taxa de difusão de cátions pela rede e a dissolução da mesma. Desta forma, modificações induzidas no arranjo destes grupos fosfato, podem controlar a intensidade da característica osteoindutora do material, visando atender a necessidades específicas na regeneração óssea. Este trabalho buscou induzir a formação de *nanoclusters* de silicato-fosfato na estrutura do biovidro 45S5. Os biovidros foram preparados por fusão à 1500°C em cadinhos de platina e recozidos entre 2 e 24 h à 500°C. A caracterização foi realizada empregando-se as técnicas de Difractometria de Raios-X (DRX), espectrometria no Infra-Vermelho (FT-IR) e resistência hidrolítica. Nos Biovidros tratados termicamente por 24 horas, observou-se indícios da formação de nanocristais e expressivo aumento da taxa de dissolução e, por conseqüência na propriedade osteoindutora. Os resultados de ensaios comparativos indicam o potencial desenvolvimento de materiais para aplicações como enxerto ósseo em situações específicas.

**Palavras chave:** Biovidro, Osteoindução, Estrutura vítrea.

### **Introdução**

O aumento da expectativa de vida da população mundial tem trazido novas questões de saúde pública. Neste contexto doenças ou lesões relacionadas à estrutura óssea tem sido tema de crescente interesse, levando a especialidades tais como a ortopedia, demandar cada vez mais por novas técnicas e materiais. Diversos autores alertam para a necessidade de desenvolvimento destes novos

materiais e o aprimoramento dos dispositivos já disponíveis para a correção de problemas existentes na contínua busca por melhor qualidade de vida para os pacientes.

Materiais utilizados para a substituição e regeneração da estrutura óssea enquadram-se na classe de materiais denominados Biomateriais. Esta classe materiais deve apresentar um conjunto de propriedades físicas, químicas e biológicas que permitam aos mesmos desempenhar a função requerida, além de estimular uma resposta adequada dos tecidos vivos. Presentemente os biomateriais são conhecidos em grande variedade de formas, desde polímeros à metais, passando pelas cerâmicas, o grupo mais efetivo e promissor para a reposição óssea<sup>(1,2,3)</sup>. Dentre estas, biovidro é particular interesse por ser um material reabsorvível e osteoindutor.

Proposto inicialmente por autores tais como Hench *et al* <sup>(4,5)</sup>, biovidros tais como o 45S5, já são de uso consolidado como soluções de muitos casos em ortopedia, contudo, existe ainda a necessidade destes materiais adaptados a casos específicos, onde possa ser desejável que as propriedades de interesse, tais como a reabsorção e a osteoindução, ocorram em taxas diferentes daquelas oferecidas pelos materiais de referência. Embora contenham um teor apreciável de  $P_2O_5$  (em torno de 5 a 6% em massa), os biovidros 45S5 não podem ser considerados como vidros fosfato, classificando-se melhor, por pertencerem ao sistema de equilíbrio  $CaO:Na_2O:SiO_2$ , como vidros soda-cal. Desta forma sua estrutura se assemelha mais com a destes, que com àquela dos vidros fosfato. O  $P_2O_5$  neste caso, se posicionará entre os diversos segmentos de sílica ( $Q^4, Q^3, Q^2, Q^1, Q^0$ ), normalmente observados na estrutura de vidros silicato tais como o soda-cal, como um formador secundário, fazendo a “ligação” entre tais segmentos. A distancia entre estes segmentos, é um fator importante para a intensidade da percolação e de fenômenos de transporte iônico que venham ocorrerem em um vidro quando submetido aos fluidos corporais, em uma situação pós-cirurgia. Tais fenômenos são por sua vez, controladores das propriedades de reabsorção e de osteoindução, importantes nos biovidros. Portanto o controle da

distancia entre os grupos silicato nos biovidros, se apresenta como uma interessante possibilidade no projeto de novos materiais.

O presente trabalho, propõe uma investigação inicial da possibilidade de obter um biovidro do tipo 45S5 com maior espaçamento entre os segmentos de sílica que compõem a sua estrutura vítrea, através da formação por tratamento térmico de sementes de nucleação de  $P_2O_5$  (*nanoclusters*) na posição normalmente ocupada por um único óxido deste tipo. Buscando assim materiais com propriedades otimizadas para aplicações como biomateriais para enxerto ósseo em situações específicas.

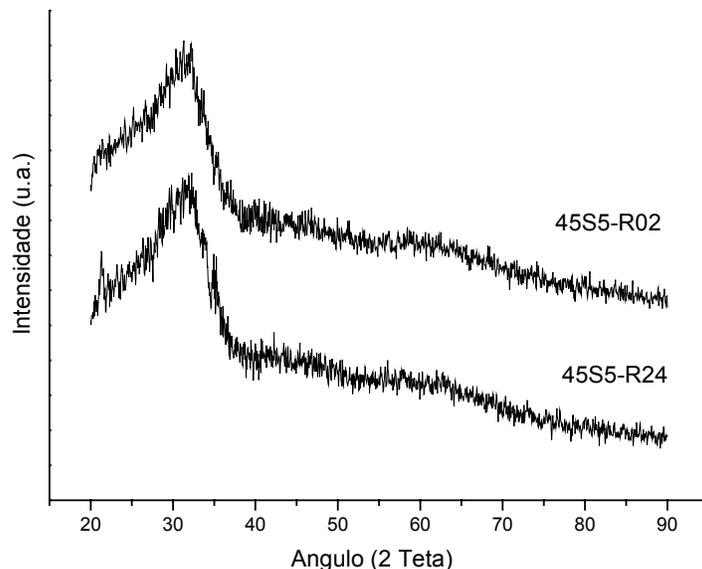
### **Materiais e métodos**

Foram preparados biovidros (45S5) à partir de diferentes matérias-primas de pureza analítica. Estes vidros foram obtidos por fusão à 1500°C durante 2h em cadinhos de alta alumina, seguida de "quenching" em molde e recozimento à 500°C. Foram adotados dois tempos diferentes de recozimento; 2 horas para os biovidros denominados **45S5-R02** e 24 H para os biovidros denominados **45S5-R24**. A resistência química dos vidros obtidos foi avaliada pelo método de resistência hidrolítica em coluna de sohlet, conforme a metodologia descrita por Day *et al* <sup>(6)</sup>. A caracterização dos mesmos foi realizada utilizando as técnicas de Difração de raios-X (DRX) para amostras pulverizadas do vidro como obtido e de amostras dos mesmos submetidas ao ataque hidrolítico. O equipamento utilizado para estes ensaios foi o Bruker AXS D8-Advance. As medidas dos espectros de infravermelho foram realizadas utilizando-se a transformada de Fourier (FTIR) a partir de amostras dos vidros moídos (pastilhas em uma dispersão de KBr, grau espectrométrico - Merck P.A) e também da camada superficial destes durante as etapas do ataque hidrolítico (DRIFT). O equipamento utilizado para estes ensaios foi o Thermo Nicolet - Nexus 870 FT-IR spectrometer.

### **3. Resultados e Discussão**

Os difratogramas dos biovidros como obtidos são mostrados na figura 01. Nesta figura podemos observar para ambos biovidros um caráter vítreo

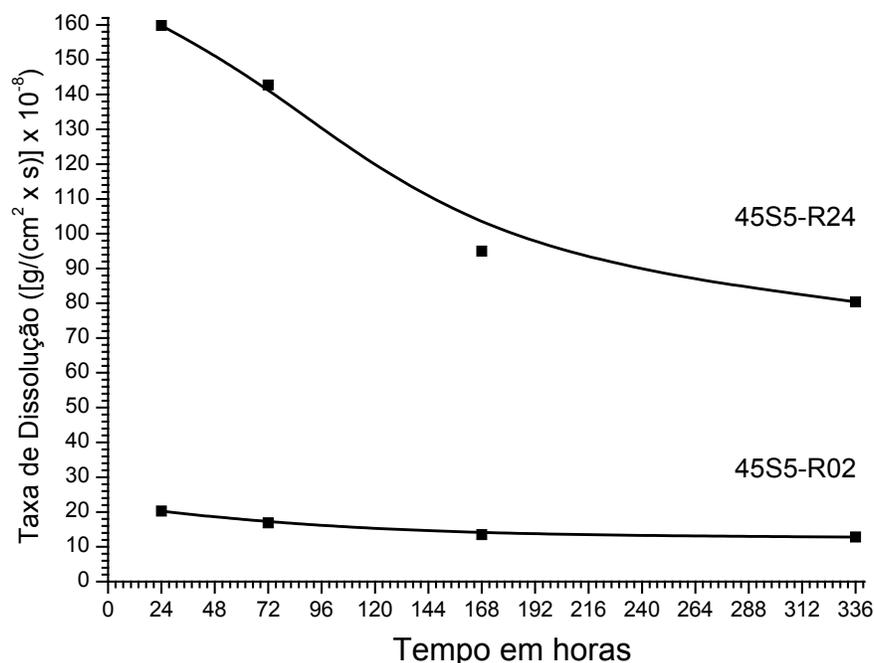
predominante. Para o biovidro **45S5-R24**, foram observados pequenos picos, os quais foram atribuídos à formação de cristais (nanoclusters) de  $P_2O_5$  (PDF 87-0952), como resultado do tratamento térmico (recozimento) prolongado (24h).



*Figura 01* – Difratogramas dos biovidros **45S5-R02** e **45S5R24**, onde pode se observar a formação de nanocristais de  $P_2O_5$  neste último.

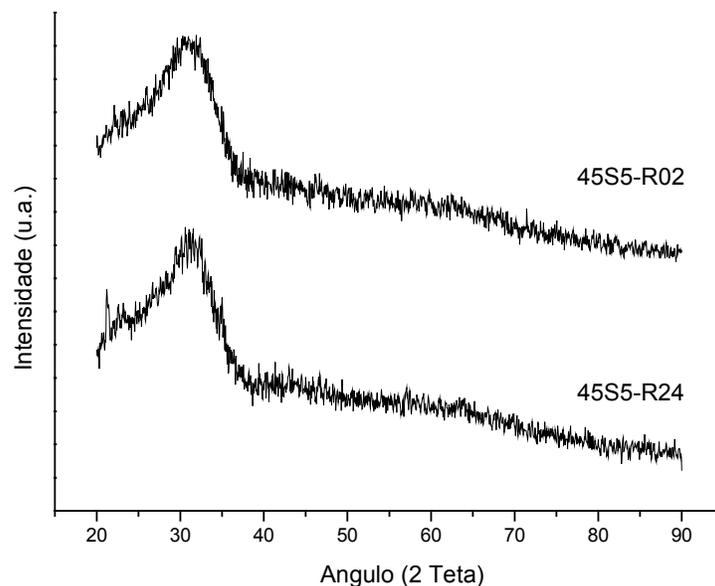
A figura 02 representa a taxa de dissolução dos biovidros **45S5-R02** e **45S5-R24** em função do tempo de ensaio no ataque hidrolítico. A taxa de dissolução é dada pela perda de massa em função da área superficial de pastilhas polidas dos materiais ensaiados. Este ensaio é mais severo que o ensaio SBF (simulated body fluid) usualmente utilizado no estudo de biomateriais. Nesta figura podemos observar diferentes taxas de dissolução para os dois materiais. No biovidro submetido à 24 h de tratamento térmico (**45S5R24**), esta foi bastante reduzida em relação ao outro material (**45S5R02**). Tal resultado está de acordo com a formação de *nanoclusters* de  $P_2O_5$  sugerida nos difratogramas representados pela figura 01. A formação de cristais de  $P_2O_5$ , com crescimento incipiente e próximo ao seu raio crítico, teria como resultado o distanciamento entre os segmentos de silicatos da rede aleatória do vidro, facilitando desta forma os fenômenos de difusão do cátion  $H^+$  e substituições de grupos alcalinos  $R^+$  e

alcalinos terrosos  $R^{2+}$  na estrutura vítrea. Tais fenômenos estão também associados à formação de grupos fosfato de cálcio na superfície do material, aos quais estão associada a propriedade osteoindutiva do biovidro. Desta forma, a formação dos nanoclusters de  $P_2O_5$  pode ser sugerida como uma forma de controle da intensidade da osteoindutividade do biovidro.



*Figura 02* – Curvas da taxa de dissolução em função do tempo de ataque hidrolítico, obtidas para os biovidros **45S5-R02** e **45S5R24**, onde pode se observar maior suscetibilidade às reações de difusão e dissolução durante o ataque para material onde também ocorreu a formação de nanocristais de  $P_2O_5$  (**45S5R24**).

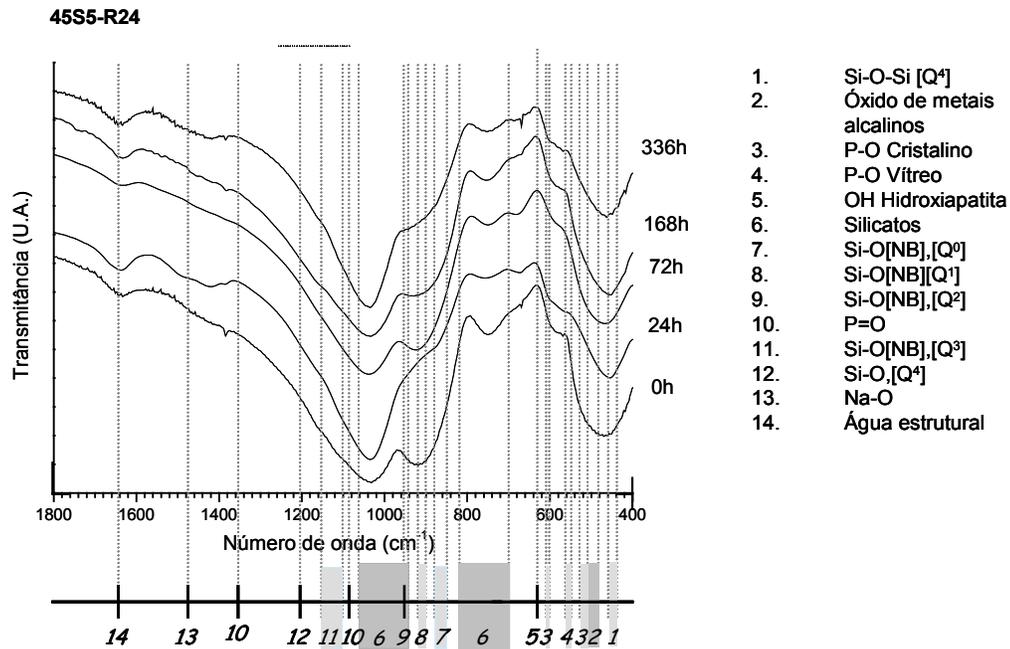
A figura 03 apresenta os difratogramas de amostra em pó dos vidros após serem submetidas à 336h de ataque hidrolítico. Comparando-se estes difratogramas com os apresentados na figura 01, podemos observar que os *nanoclusters* de  $P_2O_5$  são quimicamente estáveis e embora facilitem os fenômenos de difusão e troca catiônica, como discutido acima, não representam pontos de fragilidade da rede estrutural vítrea durante dissolução do material.



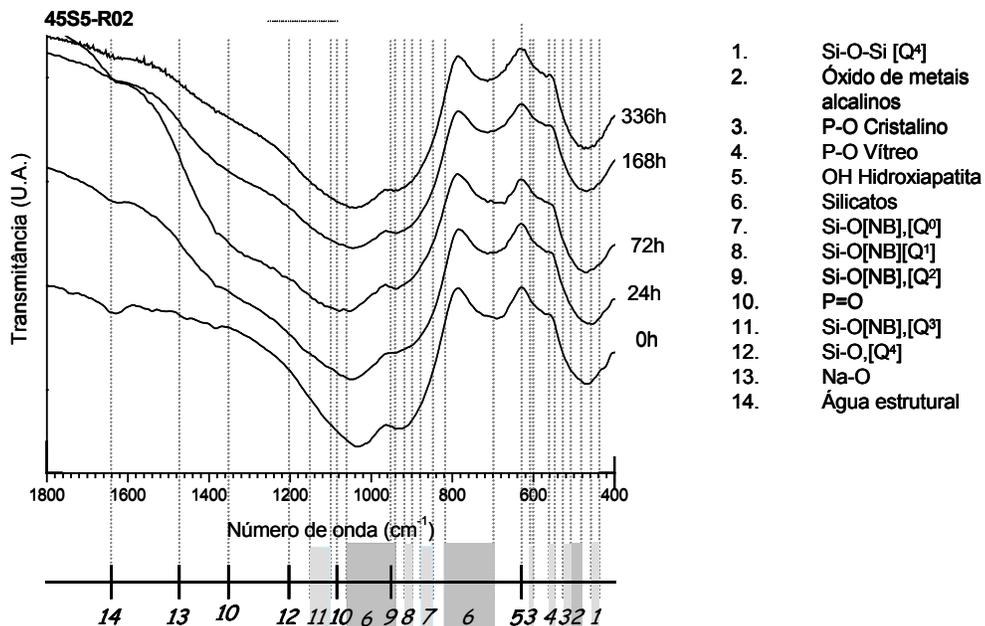
*Figura 01* – Difratogramas dos biovidros **45S5-R02** e **45S5R24** após 336hs de ataque hidrolítico, onde pode se observar a estabilidade ao ataque do nanocristais de  $P_2O_5$ .

Os espectros FTIR para os vidros **45S5-R02** e **45S5-R24**, são representados nas figuras 04 à 07. Em cada figura são representados os espectros dos vidros como obtidos, e após 24, 72, 168 e 336 horas de ataque hidrolítico. Nas figuras 04 e 05 são apresentados os espectros de transmitância ao para as amostras pulverizadas e submetidas ao ataque hidrolítico.

Comparando-se as figuras 04 e 05, observa-se que a rede de sílica do biovidro **45S5-R24** mantém-se de maneira geral menos polimerizada durante o ataque hidrolítico que o biovidro **45S5-R02**, o qual foi submetido ao tratamento térmico por menor tempo, isto é, o vidro **45S5-R24** forma arranjos curtos de silicatos  $Q^2$ ,  $Q^1$  e  $Q^0$  (bandas indicadas nas figuras por 9, 8 e 7 respectivamente) <sup>(7,8,9)</sup> indicando ser mais suscetível às reações de trocas e dissolução durante o ataque. É possível ainda observar que os picos indicativos das ligações dos grupos  $P_2O_5$ , desde a sua forma vítrea para a cristalina (bandas indicadas nas figuras por 4 e 3 respectivamente)<sup>(10)</sup>, indicam uma banda de ligações indicativas de grupos cristalinos mais acentuada para o vidro **45S5-R24**.



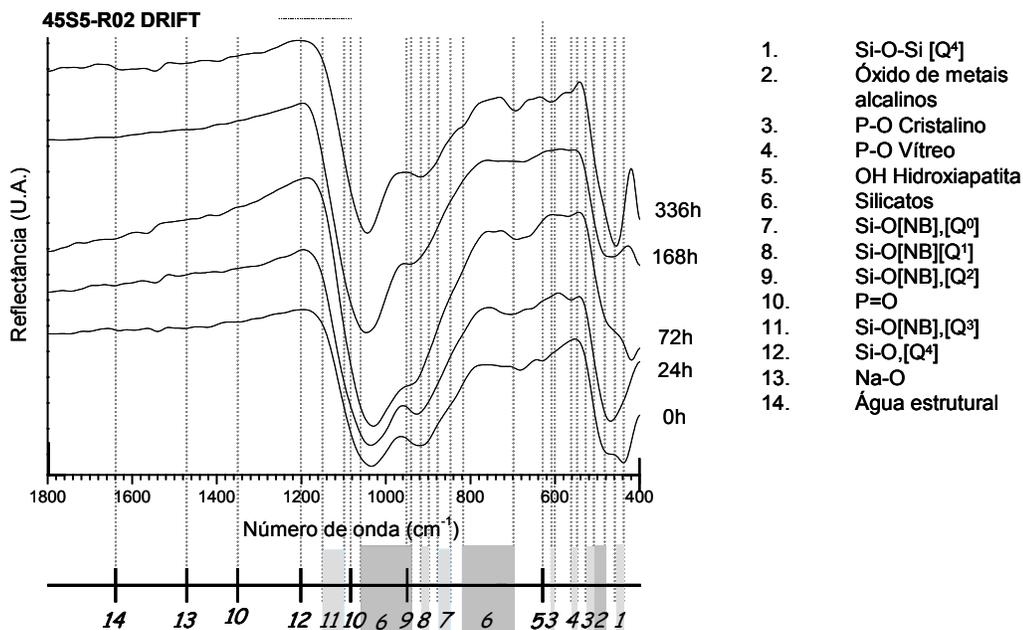
**Figura 04** - Espectros de transmitância de FTIR do biovidro **45S5-R02** como obtido, e após 24, 72, 168 e 336h de ataque ao hidrolítico (amostra pulverizada).



**Figura 05** - Espectros de transmitância de FTIR do biovidro **45S5-R24** como obtido, e após 24, 72, 168 e 336h de ataque ao hidrolítico (amostra pulverizada).

Tais resultados estão de acordo com a possibilidade de formação de nanoclusters de  $P_2O_5$ , já observada nos difratogramas de raios-X (Figura 01), e conseqüente formação de uma rede vítrea com maior espaçamento entre os segmentos de tetraedros de sílica.

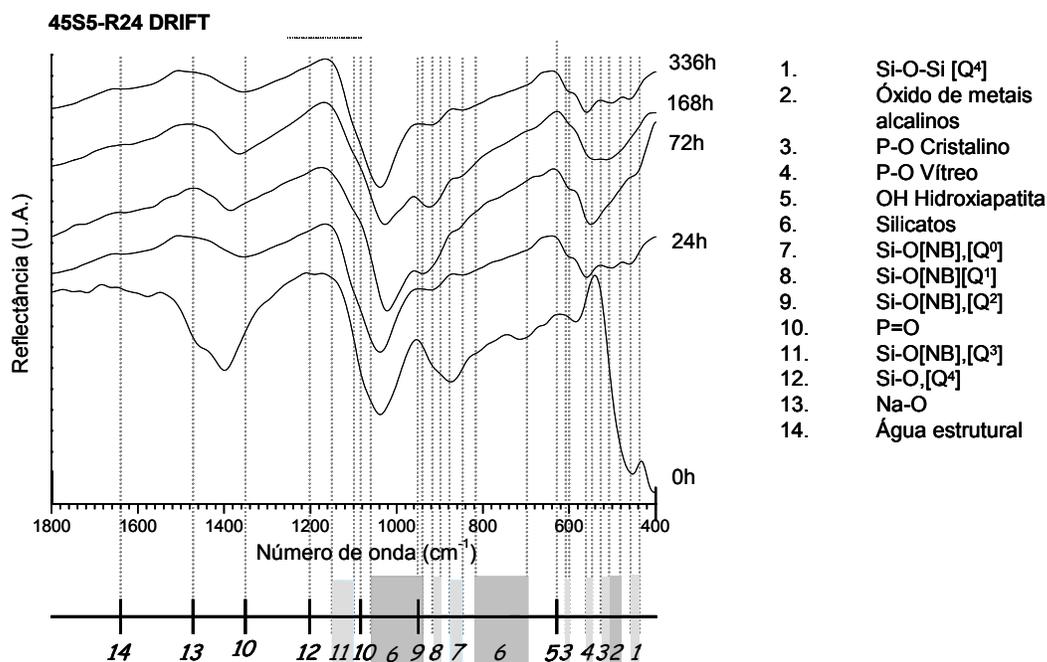
Os espectros FTIR-DRIFT para a superfície dos vidros **45S5-R02**, e **45S5-R24**, são representados nas figuras 06 e 07 respectivamente. Em cada figura são apresentados os espectros obtidos à partir da superfícies de pastilhas dos vidros (seções cortadas e polidas), submetidas à 24, 72, 168 e 336 horas de ataque hidrolítico. Nestes espectros é possível estudar as reações ocorridas na superfície dos biovidros em conseqüência do ataque hidrolítico.



**Figura 06** - Espectros de reflectância de FTIR do biovidro **45S5-R02** como obtido, e após 24, 72, 168 e 336h de ataque ao hidrolítico (amostra em pastilha).

Comparando-se as figuras 06 e 07, observa-se que de maneira geral no biovidro **45S5-R24** os arranjos curtos de silicatos  $Q^2$ ,  $Q^1$  e  $Q^0$  (bandas indicadas nas figuras por 9, 8 e 7 respectivamente)<sup>(7,8,9)</sup>, presente na superfície são mais suscetíveis à remoção devido às reações de trocas e dissolução durante o ataque,

indicando um fluxo de difusão intenso do material desde o interior para a superfície, resultado de percolação facilitada pelo arranjo estrutural proposto. É possível ainda observar a permanência das bandas indicativas das ligações dos grupos  $P_2O_5$  cristalinos (bandas indicadas nas figuras por 4)<sup>(10)</sup> para **45S5-R24**. Tais resultados estão de acordo com as discussões anteriores. No biovidro **45S5-R24**, notam-se bandas associadas da formação de ligações com metais alcalinos na superfície do material (bandas indicadas nas figuras por 2). O mecanismo de formação de fosfatos que controla a osteoindutividade e é dependente de tais tipos de ligação, quando ocorrem com grupos  $P_2O_5$  na superfície, podendo ser indício de intensa atividade osteoindutora, como característica deste material. Contudo não se observou bandas que indicassem a formação de hidroxiapatita na superfície do material (bandas indicadas nas figuras por 5).



**Figura 07** - Espectros de reflectância de FTIR do biovidro **45S5-R24** como obtido, e após 24, 72, 168 e 336h de ataque ao hidrolítico (amostra em pastilha).

#### 4 . Conclusões

É possível formar fases cristalinas, em escala nanométrica no interior de biovidros através de tratamentos térmicos simples. A formação destes cristais, ou *nanoclusters* pode levar a um rearranjo da estrutura vítrea que resulta em maior espaçamento entre as cadeias de sílica que formam a estrutura aleatória do vidro. Tal espaçamento influencia diretamente nos fenômenos de difusão na estrutura vítrea e na percolação de íons alcalinos e alcalinos terrosos em direção à superfície do material, com influência direta na propriedade osteoindutiva do biovidro. Desta forma, a formação controlada de nanoclusters de  $P_2O_5$ , apresenta interessante potencial para o desenvolvimento de biovidros com característica osteoindutora otimizada para a aplicação na regeneração óssea em casos específicos.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES/FINEP pelas bolsas de pós-doutoramento concedidas mediante o projeto PNPd/FINEP n.º 2462095 e à Fapesp/SP, projetos 96/09604-9, 99/01924-2 e 00/02483-9. Também agradecem à Dra. Sonia Regina Homem de Mello Castanho – CCTM/IPEN pela utilização dos laboratórios e equipamentos sob sua responsabilidade.

#### Bibliografia

- 1 . CHEVALIER, . J. GREMILLARD, L., Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. *Journal of the European Ceramic Society* 29 (2009) 1245–1255.
- 2 . BEST, S.M. PORTER, A.E. THIAN E.S.HUANG, J., Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society* 28 (2008) 1319–1327.
- 3 . GREENLEE JR., T. K., BECKHAM, C. A., CREBO JR., A. R. AND MALMBORG, J. C., Glass ceramic bone implants. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1972, **6**, 235–244.
- 4 . HENCH, L. L., SPLINTER, R. J., GREENLEE, T. K. AND ALLEN, W. C., Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1971, **2**(Part 1), 117–141.
- 5 . HENCH, L. L. AND PASCHALL, H. A., Direct chemical bonding of bioactive glass-ceramic materials and bone. *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, 1973, **4**, 25–42.

- 6 . DAY, D.E. WU, Z. RAY, C.S. HRMA, P. Chemically durable iron phosphate glass waste forms, **J. Non-Cryst. Solids**, v.241, p.1–12, 1998.
- 7 . SIGOLI, F.A. KAWANO, Y. DAVOLOS, M.R. JAFELICCI JR., M. Phase separation in pyrex glass by hydrothermal treatment: Evidence from micro-raman spectroscopy. *J. Non-Cryst. Solids*. v. 284, p. 49-59, 2001.
- 8 . MACDONALD, S.A. SCHARDT, C.R. MASIELLO, J.H. SIMMONS, J.H. Dispersion analysis of FTIR reaction measurements in silicate glasses. *J. Non-Cryst. Solids*. v. 275, p. 72-82, 2000.
- 9 . ZAYAS, M.E. ARIZPE-CHAVEZ, H. ESPINOZA-BELTRAN, F.J. DIAZ-FLORES, L.L. YANEZ-LIMON, J.M. GONZALES-HERNANDEZ, J., Spectroscopic studies on Na<sub>2</sub>O-SiO<sub>2</sub> glasses with different Ag concentration using silica obtained from wastes of a geothermal plant. *J. Non-Cryst. Solids*. v. 324, p. 67-72, 2003.
10. PEITL, O. ZANOTTO, E.D. HENCH, L.L., Highly bioactive P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-Na<sub>2</sub>O-CaO-SiO<sub>2</sub> glass-ceramics. *J. Non-Cryst. Solids*. v. 292 (2001) 115-126.

## **Abstract**

*After surgical implantation the osteoinductivity property, observed in bioactive materials, is mainly due to the formation of calcium phosphate on these materials surface when in body fluids contact. The dissolution and diffusion phenomena in bioglass are result of it's structural arrangement and govern the osteoinductivity property. In estructural arrangement of bioglass, silica segments are linked by phosphate groups, defining the distance between the vitreous network segments and thereby influence of cations diffusion rate through the network and the dissolution rate. Thus, the induced changes in arrangement of phosphate groups can control the intensity of material osteoinductivity in order to fit bone regeneration requirements. In this study, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nanoclusters formation were induced in bioglass 45S5 network structure. The bioactive glasses were prepared by melting at 1500°C in platinum crucibles and annealed between 2 and 24 h at 500°C. The characterization was performed using the following techniques, X-ray diffraction (XRD), Infrared spectroscopy (FT-IR) and hydrolytic resistance. In bioglasses 24 hours heat-treated, there was evidence of nanocrystals formation, dissolution rate, significant increase and consequently the property of osteoinductive. The obtained results indicated the potential of development of biomaterials for specific applications in bone regeneration.*

**Keywords:** bioglass, osteoinduction, glass structure.