

CARGA ALTAMENTE POSITIVA EM SUPERFÍCIES DE TITÂNIO: EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SILANO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS.

Palavras-Chave: Titânio; Implantes dentários; Biofilmes; Tratamentos de superfície.

Autores(as):

Mariana Mireski, FOP – UNICAMP

Daniela Buenos Ayres de Castro, FOP - UNICAMP

Msc. João Pedro dos Santos Silva (co-orientador), FOP - UNICAMP

Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão (orientador), FOP - UNICAMP

1. Introdução

A eficácia e a durabilidade dos implantes dentários, particularmente os fabricados em titânio, são frequentemente comprometidas por processos infecciosos que podem levar a falha desse dispositivo. Apesar do titânio demonstrar excelente biocompatibilidade e considerável resistência à corrosão, a adesão de bactérias e a formação de biofilmes nas superfícies dos implantes ainda representam um desafio a ser superado (ARCIOLA; CAMPOCCIA, 2018). Uma abordagem promissora para contornar essas problemáticas é a modificação da superfície do titânio, que pode conferir propriedades antimicrobianas sem comprometer a biocompatibilidade e a osseointegração (BARÃO et al., 2022). Nesse sentido, o aumento de carga positiva na superfície de titânio com 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES), também conhecido como revestimento catiônico, surge como uma estratégia inovadora para melhorar a performance dos implantes frente aos microrganismos e potencialmente anticorrosiva (SILVA et al., 2023). Diferente dos outros estudos que usam o tratamento hidrotérmico como via para obtenção dos revestimentos catiônicos (SHEN et al., 2020) observamos que a combinação do APTES e do tratamento por plasma eletrolítico de oxidação (PEO) oferece propriedades superiores para aplicação na implantodontia.

O PEO é um pré-tratamento que possibilita a incorporação de elementos bioativos, criando uma superfície porosa e rugosa, o que aumenta a área de superfície disponível para interações biomoleculares (MARQUES et al., 2015a). Assim, pelo tratamento por PEO podemos funcionalizar o titânio com grupo funcional -OH, e, em seguida, as moléculas de silício (Si) presentes no silano irão interagir quimicamente com a superfície alcalinizada por meio de ligações covalente, permitindo maior estabilidade no tratamento. Finalmente, a superfície obtida inicia seu mecanismo de ação antimicrobiana por meio de interações eletrostáticas. Quando as cargas são diferentes, ocorre uma forte atração elétrica, resultando no rompimento da membrana bacteriana; por outro lado, se as cargas são semelhantes, ocorre a repulsão. No entanto, os estudos sobre essa superfície são limitados, e não há consenso sobre a quantidade de silano em relação à quantidade de prótons formados, nem sobre o efeito de concentração nas bactérias e células biológicas. Portanto, este estudo teve como objetivo desenvolver um revestimento catiônico para implantes dentários, aplicando APTES em superfícies de titânio comercialmente puro (Ticp) previamente alcalinizadas por PEO, e avaliar como as diferentes concentrações de APTES modificam as características físicas e químicas das superfícies, assim como seu impacto na atividade antimicrobiana e na formação de biofilmes.

2. Metodologia

O desenvolvimento de revestimento catiônico antimicrobiano consistiu no pré-tratamento por PEO para alcalinização da superfície (Etapa 1), seguido pela silanização por imersão em 3-aminopropiltriétoxissilano

(APTES, Sigma-Aldrich, EUA) (Etapa 2). Cinco grupos foram avaliados: Ti não tratado (controle da superfície); PEO com Ca, P e NaOH (PEO controle da superfície; PEO silanizados com 0,283 g/mL (PEO + 0,3 APTES); PEO silanizados com 0,567 g/mL (PEO + 0,6 APTES); PEO silanizados com 0,851 g/mL (PEO + 0,9 APTES). A influência das superfícies controles e experimentais nas propriedades físico-químicas e microbiológicas foi investigada.

Preparo das amostras

Discos de Ticp, grau II, com 10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura, foram polidos em uma politriz automática (EcoMet/AutoMet 250 Pro, Buehler) a 250 rpm por 1 minuto, utilizando lixa metalográfica #320 (Carbimet 2, Buehler). Após o polimento, as amostras foram limpas em uma cuba ultrassônica com sabão enzimático, água deionizada e propanol 70% (v/v), por 10 minutos cada, e secas com jatos de ar quente a 250°C (COSTA et al., 2020).

Tratamento de plasma

Os discos de Ticp polidos foram utilizados como ânodo e imersos em solução eletrolítica no interior de uma cuba de aço (cátodo) sob refrigeração. A solução foi preparada com 0,3 M de acetato de cálcio, 0,02 M de glicerofosfato dissódico e 0,4 M de NaOH em água destilada. A deposição ocorreu por 5 minutos, utilizando 500 mL da solução e dois discos por vez, com parâmetros (T=500 V, F=1000 Hz e ciclo de trabalho de 40%) controlados por uma fonte de alimentação CC pulsada (Plasma Technology Ltda). Após, os discos foram lavados com água deionizada e secos ao ar (MARQUES et al., 2015).

Silanização

As amostras de titânio alcalinizados foram submersos em tubos fechados com solução contendo 15 mL de tetrahidrofurano (THF, Quimesp química Ltda., Brasil) e diferentes concentrações de APTES (0,3, 0,6 e 0,9 mL) para reação por 24h à temperatura ambiente. Após a reação, as amostras foram lavadas em metanol e clorofórmio, cada um em três ciclos, secas e mantidas a vácuo a 80°C por 60 minutos (SILVA et al., 2023).

Caracterização da superfície das amostras

A análise morfológica das superfícies foi realizada com Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV; JEOL JSM-6010LA), utilizando aumentos de 500 a 2000x e tensão de aceleração de 15 kV. A identificação da composição química dos discos foi estudada por meio da Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS; Bruker, Germany). Três regiões de cada amostra, na ordem de ordem de 1 μm^3 , foram selecionadas e foi medido a superfície dos picos para quantificar e calcular as percentagens. As distribuições dos elementos químicos presentes nas superfícies foram investigadas por um mapa de cor (DINI et al., 2020). A composição e o estado químico dos elementos foram avaliados por Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios X (XPS; Vacuum Scientific Workshop), com elétrons excitados (Al K α , 1486,6 eV), pressão < 2x10⁻⁸ mbar e profundidade de amostragem de 15 Å. Correções de carregamento foram realizadas com referência à linha C1s (284,6 eV) (SILVA et al., 2023). Além disso, a avaliação da estrutura molecular das amostras preparadas foi realizada por Espectroscopia Infravermelha com Transformação de Fourier (Jasco FTIR 410 spectrometer, Japan), com 128 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹ (REIS et al., 2018).

A rugosidade da superfície das amostras foi analisada através de um perfilômetro (Dektak D150; Veeco, Plainview, NY). Os valores foram obtidos pela média aritmética da rugosidade da superfície (Ra), pela distância vertical média entre o pico mais alto e o vale mais profundo (Rz), a rugosidade quadrática média (Rq) e a altura máxima do perfil (Rt). Foram realizadas 3 medições em diferentes áreas e cortes de 0,25 mm a 0,05 mm/s durante 12 segundos (NAGAY et al., 2019). Para análise da molhabilidade das superfícies foi utilizado um goniômetro automático (Ramé-Hart Instrument Co., Succasunna, NJ, EUA) e empregado o método da gota séssil com uso de água deionizada. O ângulo de contato formado pela tangente entre as superfícies da gota de água (10 μL) e dos discos foi determinado e analisado com um software específico (DROPIimage Standard, Ramé-Hart Instrument Co.) (DINI et al., 2020).

Ensaio microbiológico

O efeito da carga de superfície das amostras silanizadas na viabilidade bacteriana foi verificada por meio modelo de biofilme monoespécie. Para isso, cepas Gram-positivas de *Estafilococcus aureus* e Gram-negativas de *Escherichia coli* foram cultivadas em meio Mueller–Hinton Agar (MH, Becton–Dickinson). O crescimento bacteriano exponencial foi observado e ajustado à OD de 0,3 (*S. aureus*) e 0,1 (*E. coli*) a 550nm, representando uma suspensão final contendo 10⁷ células microbianas/mL. As amostras foram submetidas a esterilização por radiação UV (4 W, λ = 280nm, Osram Ltd., Alemanha), em ambos os lados, por 20 minutos e inseridas em placas

de poços contendo 900µL de meio MH e 100µL de inóculo bacteriano ajustado. As placas foram incubadas por 1h (adesão microbiana) e 24h (biofilme) em condições aeróbicas (37 °C; 10% CO₂). Em seguida, os discos foram lavados para a remoção das bactérias não aderidas, transferidos para tubos criogênicos contendo 1 mL de NaCl a 0,9% e sonificados (Potência 7 W por 30s) (Sonifier®, Branson Ultrasonics Corporation). A suspensão de células bacterianas foi serialmente diluída em NaCl 0,9%, e 20 µL de cada diluição foi semeada em placas petri contendo meio MH e incubados nas condições já relatadas. A contagem foi realizada com uso de microscópio e os dados foram expressos em unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL) (COSTA et al., 2020)(DINI et al., 2020).

3. Resultados e Discussão

A observação morfológica das superfícies, realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Figura 1A), revelou diferenças entre as amostras tratadas por PEO e o Ti não tratado. As superfícies de titânio usinadas e polidas eram relativamente lisas e homogêneas, com pequenas imperfeições do polimento. Em contraste, os discos tratados por PEO exibiram uma estrutura altamente porosa e irregular, com poros semelhantes a formações vulcânicas, resultante da oxidação e crescimento de camadas de óxidos de Ti (MARQUES et al., 2015). Essa topografia está associada a melhor osseointegração por aumentar a área de contato e mimetizar o tecido ósseo, além de uma melhor interação celular, adesão e proliferação celular osteogênica, o que pode promover uma resposta biológica favorável no ambiente peri-implantar (SOUZA et al., 2019). Após a silanização, a análise de MEV mostrou uma cobertura uniforme de APTES sobre as estruturas porosas criadas pelo PEO, sem alterar significativamente a morfologia original. Entretanto, a silanização desempenha um papel crucial na modificação química da superfície, pois permite a ancoragem de biomoléculas que podem favorecer a adsorção de proteínas e adesão celular. Isso sugere que, enquanto a estrutura física da superfície permanece intacta, as propriedades químicas podem ser finamente ajustadas para otimizar a biocompatibilidade e a estabilidade dos implantes de titânio tratados por PEO (SILVA et al., 2023).

Através do mapeamento da EDS (Figura 1B), observou-se a distribuição dos elementos químicos titânio (Ti), carbono (C) e oxigênio (O) em todos os grupos, com maior quantidade de O nos grupos tratados por PEO, indicando formação de óxidos durante o processo. Além disso, visto que a superfície precisa estar hidroxilada, o elemento oxigênio (O) foi visto em concentrações consideráveis, o que sugere presença de grupos funcionais -OH necessários para a ligação com APTES (SILVA et al., 2023). Adicionalmente a camada nanoporosa de óxido de Ti, a superfície tratada por PEO e silanizada foi quimicamente ativada para melhorar seu comportamento em aplicações clínicas. Essa ativação pode ser observada pela dopagem com componentes inorgânicos como Ca e P, essenciais para o metabolismo ósseo, visto que são componentes do tecido ósseo relacionado à ativação de osteoblastos em processos de osteogênese (MARQUES et al., 2015). Já o elemento sódio (Na) encontrado, é resíduo do processo de alcalinização que utiliza uma solução com NaOH. Nas superfícies tratadas com APTES, o mapeamento identificou os elementos nitrogênio (N) e silício (Si) presentes na molécula do aminosilano. O Si é elemento essencial para a ligação química entre o APTES e a superfície alcalinizada, sendo observado percentual crescente conforme o aumento da concentração do silano. A união entre moléculas de Si ou entre Si e grupos funcionais (-OH) explicam a capacidade de ligação entre APTES e a superfície alcalinizada (SHEN et al., 2020).

A composição química da camada de óxidos superficiais foi analisada por XPS, identificando elementos com base na energia de ligação em eV de fótons emitidos a partir das amostras. Na Figura 1C é apresentado os espectros obtidos, indicando a presença de picos esperados para todos os grupos, incluindo de Ti2p, C 1s, O 1s e N 1s. Para averiguar a confiabilidade e precisão dos dados, o pico de 284,8 eV do carbono adventício (C1s) foi utilizado como referência de carga (COSTA et al., 2020). O espectro de O 1s indicou a presença de TiO₂ na superfície como resultado da camada de óxido principal na superfície, além de íons -OH e ligações Si-O nos grupos PEO e PEO + APTES. Os picos de O 1s nos grupos experimentais, sugerem ligações Ti-O-Si e Si-O-Si, indicando uma ligação covalente entre o aminosilano e o Ti. O espectro N 1s, com picos variando 399,1 a 398,4 eV, indicam que o nitrogênio está presente, principalmente sob a forma de grupos -NH₂ que ocorrem em razão da reação com o agente silano. Durante a etapa de cura no processo de silanização ocorre a conversão de quaisquer aminas protonadas em aminas neutras. No entanto, em condições fisiológicas a presença destes grupos sugere aumento de carga da superfície e eficácia na formação de um revestimento catiônico (SENNA et al., 2021). Aminas geralmente então associadas a valores altos de Pka, e em solução aquosa, como no ambiente intersticial, podem interagir com moléculas de água aceitando prótons. Além disso, esse comportamento é

especialmente pronunciado em soluções aquosas em ambientes ácidos, onde a disponibilidade de prótons é alta, o que pode ser vantajoso em aplicações clínicas em regiões com tecidos inflamados. O pico de Na 1s foi observado em grupos tratados com NaOH. Os espectros de FTIR, na faixa de 4000 cm^{-1} a 500 cm^{-1} , apresentados na Figura 1D mostra absorções para diferentes grupos deste estudo. Na região de $3700\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, observa-se uma banda larga atribuída ao estiramento dos grupos hidroxila (-OH), que sugere a eficácia na alcalinização das superfícies tratadas por PEO. A região de $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ apresenta picos menores associados ao estiramento C-H de grupos alquila, presentes na estrutura das amostras tratadas por PEO e PEO + APTES. Na faixa de $1250\text{--}1020\text{ cm}^{-1}$, as amostras contendo APTES exibem picos que correspondem ao estiramento de ligações Si-O. O pico característico entre a faixa de 1100 e 1000 cm^{-1} é causado pela vibração de estiramento de ligações tipo siloxano Si-O-Si (TAN et al., 2011). O pico aproximado de absorção em 1165 cm^{-1} surge de grupos Si-OH devido à hidrólise parcial dos grupos silano. Além disso, o aparecimento de pico aproximado em 950 cm^{-1} corresponde a ligação covalente Ti – O – Si como resultado da reação de condensação de Si (OH) e a produção hidrolisada na superfície do titânio (BAI et al., 2017).

Consistente com os resultados da morfologia, a rugosidade das superfícies aumentou em todas as amostras tratadas por PEO, com valores de Ra para Ti de $0,4\text{ }\mu\text{m}$ e para PEO de $2,2\text{ }\mu\text{m}$ (Figura 2A). A imobilização de APTES aumentou ainda mais a rugosidade, possivelmente devido a formação de aglomerados silânicos. Além disso, a imobilização APTES aumentou a hidrofobicidade da superfície. O ângulo de contato com a água para discos de Ti polidos não tratados foi de $76,3^\circ$. Após o tratamento por PEO, a superfície tornou-se altamente hidrofílica, mas a adição de APTES elevou os ângulos de contato. Com $0,3\text{ mL}$ ($135,9^\circ$) e $0,6\text{ mL}$ ($146,4^\circ$) de APTES, os ângulos de contato aumentaram, mostrando características hidrofóbicas. Essa característica se deve à presença do silano, que possui uma cadeia alquílica em sua composição. Com $0,9\text{ mL}$ de APTES, a média dos ângulos de contato ultrapassou 150° , indicando uma superfície superhidrofóbica (Figura 2B) (UPPU et al., 2016). Estudos mostram que superfícies com hidrofobicidade podem apresentar bons resultados biológicos, como visto em estudo *in vivo* anterior (JAMCOSKI et al., 2022), além de resposta biológica potencializada pela presença da amina no APTES, facilitando a adesão celular (SOMASUNDARAM, 2018).

Os testes microbiológicos confirmaram que a imobilização do APTES na superfície de titânio tratada por PEO proporciona um efeito antimicrobiano notável. Conforme ilustrado pelos gráficos na Figura 3, as superfícies funcionalizadas com diferentes concentrações de APTES exibem atividade antibacteriana tanto contra cepas de *E. coli* quanto contra *S. aureus*. Além disso, foram observadas diferenças estatisticamente significativas em relação à adesão (1h) e à formação de biofilme (24h) entre os grupos Ti não tratado, PEO e superfícies experimentais silanizadas. No entanto, não houve diferenças significativas entre os grupos imobilizados com diferentes concentrações de APTES para ambas as cepas bacterianas. Esse efeito antimicrobiano pode ser atribuído à presença de grupamentos amina, que confere uma polarização positiva à superfície conforme sugere os resultados da análise de XPS. O mecanismo antimicrobiano ocorre por interação eletrostática, onde a atividade antibacteriana observada pode ser explicada pela interação entre grupos amina protonados e grupos carregados negativamente das membranas bacterianas. Essa interação pode levar à ruptura da membrana celular por meio da repulsão ou forte atração eletrostática, resultando na lise das células microbianas. A ruptura compromete a

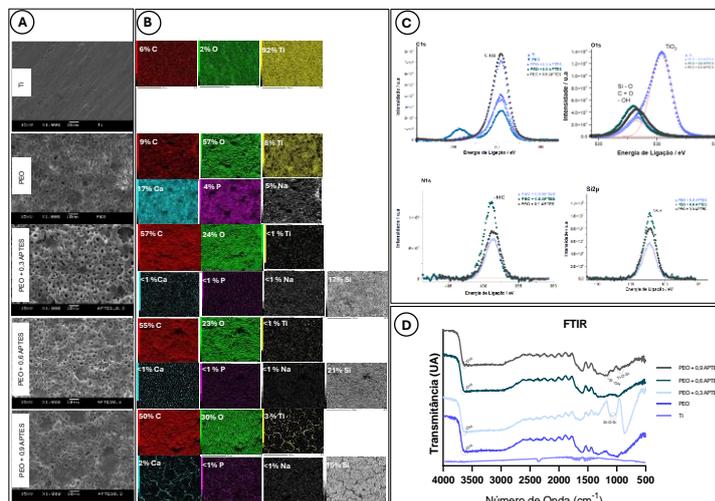


Figura 1. Topografia e química da superfície. A) Micrografias em magnificações de 1000x; B) Mapa dos elementos químicos individuais, sua porcentagem e distribuição. C) Espectros do XPS para Ti2p, C 1s, O 1s e Na 1s. Os elementos destacados foram identificados a partir da energia do elétron. D) Espectros de FTIR ($4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$) na superfície das amostras.

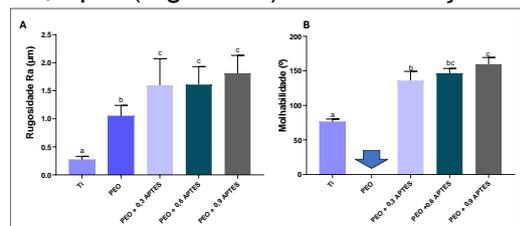


Figura 2. Caracterização físico-química. A) Ângulo de contato com água; a seta indica superfície altamente hidrofílica. B) Valores de rugosidade Ra (aritmética); letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$, Tukey's HSD) e as barras de erro dos desvios padrão.

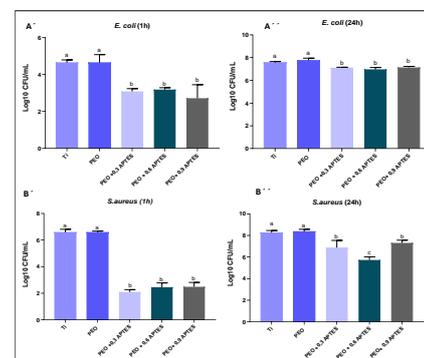


Figura 3. Quantificação da adesão bacteriana após 1 e 24 horas utilizando unidades formadoras de colônias (CFU) Log_{10} . A') 1h de adesão de *E. coli*; A'') Biofilme de 24h de *E. coli*; B') 1h de adesão de *S. aureus*; B'') Biofilme de 24h de *S. aureus*; letras diferente indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$, Tukey's HSD) e as barras de erro indicam desvios padrão.

integridade da membrana celular, causando a liberação de materiais citoplasmáticos e, conseqüentemente, a morte celular (GOTTENBOS et al., 2001)(TIAN et al., 2021).

4. Conclusão

Os resultados dos testes microbiológicos e de caracterização confirmam que a imobilização do APTES nas superfícies de titânio tratadas por PEO confere um efeito antimicrobiano. A análise morfológica mostrou que as superfícies funcionalizadas mantêm a topografia porosa criada pelo PEO, sem alterar a morfologia original. Caracterizações adicionais, como medições de rugosidade e análise das propriedades químicas, revelaram que as superfícies com diferentes concentrações de APTES apresentam rugosidade aumentada e alterações na hidrofobicidade, fatores que influenciam a adesão celular e a formação de biofilmes. Além disso, a presença de grupos amino cria polarização positiva na superfície, favorecendo interações eletrostáticas que podem levar à ruptura das membranas bacterianas e, conseqüentemente, redução da adesão bacteriana e formação de biofilmes. Os dados demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre as superfícies experimentais e os controles, embora não tenham sido observadas variações relevantes na atividade antibacteriana entre as diferentes concentrações de APTES. Esses achados ressaltam que eficácia do revestimento catiônico independe da concentração do silano. A funcionalização com APTES, aliada ao pré-tratamento por PEO, não apenas aprimora as propriedades antimicrobianas das superfícies de titânio, mas também preserva e até melhora as características físicas e químicas essenciais à biocompatibilidade e à osseointegração. Essa combinação representa um avanço significativo na área de biomateriais e implantologia, reduzindo o risco de infecções e criando um ambiente mais propício à integração dos implantes.

5. Referências

- ARCIOLA, C. R.; CAMPOCCIA, D. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, p. 397–409, 2018.
- BAI, Y. et al. Higher UV-shielding ability and lower photocatalytic activity of TiO₂@SiO₂/APTES and its excellent performance in enhancing the photostability. **RSC Advances**, p. 21758–21767, 2017.
- BARÃO, V. A. R. et al. Emerging titanium surface modifications: The war against polymicrobial infections on dental implants. **Brazilian Dental Journal Dent J**, v. 33, n. 1, p. 1–12, 2022.
- COSTA, R. C. et al. Synthesis of bioactive glass-based coating by plasma electrolytic oxidation: Untangling a new deposition pathway toward titanium implant surfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 579, p. 680–698, 1 nov. 2020.
- DINI, C. et al. UV-photofunctionalization of a biomimetic coating for dental implants application. **Materials Science and Engineering C**, v. 110, n. December 2019, 2020.
- GOTTENBOS, B. et al. Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. 1, p. 7–13, 2001.
- JAMCOSKI, V. H. et al. Retrospective Multivariate Clinical Analysis of 2707 Dental Implants with Hydrophilic and Hydrophobic Surfaces: Survival Rates after Up to 5 Years. **Journal of Long-Term Effects of Medical Implants**, v. 32, n. 1, p. 65–71, 2022.
- MARQUES, I. DA S. V. et al. Incorporation of Ca, P, and Si on bioactive coatings produced by plasma electrolytic oxidation: The role of electrolyte concentration and treatment duration. **Biointerphases**, v. 10, n. 4, p. 041002, 2015.
- NAGAY, B. E. et al. Visible-Light-Induced Photocatalytic and Antibacterial Activity of TiO₂ Codoped with Nitrogen and Bismuth: New Perspectives to Control Implant-Biofilm-Related Diseases. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 11, n. 20, p. 18186–18202, 2019.
- REIS, M. C. DOS et al. Surface characteristics and optical properties of plasma deposited films on indirect aesthetic restorative dental materials. **Surface and Coatings Technology**, v. 348, p. 55–63, 25 ago. 2018.
- SENNA, P. M. et al. Silane-coating strategy for titanium functionalization does not impair osteogenesis in vivo. **Materials**, v. 14, n. 7, p. 1–9, 2021.
- SHEN, J. et al. A tailored positively-charged hydrophobic surface reduces the risk of implant associated infections. **Acta Biomaterialia**, v. 114, p. 421–430, set. 2020.
- SILVA, J. P. DOS S. et al. Boosting Titanium Surfaces with Positive Charges: Newly Developed Cationic Coating Combines Anticorrosive and Bactericidal Properties for Implant Application. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 9, n. 9, p. 5389–5404, 2023.
- SOMASUNDARAM, S. Silane coatings of metallic biomaterials for biomedical implants: A preliminary review. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 106, n. 8, p. 2901–2918, 2018.
- SOUZA, J. C. M. et al. Nano-scale modification of titanium implant surfaces to enhance osseointegration. **Acta Biomaterialia**, v. 94, p. 112–131, 2019.
- TAN, G. et al. Preparation and characterization of APTES films on modification titanium by SAMs. **Thin Solid Films**, v. 519, n. 15, p. 4997–5001, 2011.
- TIAN, X. et al. Single-Chain Nanoparticle-Based Coatings with Improved Bactericidal Activity and Antifouling Properties. **Biomacromolecules**, 2021.
- UPPU, D. S. S. M. et al. Side Chain Degradable Cationic-Amphiphilic Polymers with Tunable Hydrophobicity Show in Vivo Activity. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 9, p. 3094–3102, 2016.