

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E  
EXTENSÃO - PROPIEX  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE  
MATERIAIS – PPGCEM**

**ANA SONIA MATTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE *SCAFFOLDS* DE UM VITROCERÂMICO DO  
SISTEMA  $\text{Li}_2\text{O}\cdot\text{ZrO}_2\cdot\text{SiO}_2\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$  COM PROPRIEDADES BIOATIVAS PARA  
ENTREGA DE MEDICAMENTOS NA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

**CRICIÚMA**

**2024**

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E**  
**EXTENSÃO - PROPIEX**  
**DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU***  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE**  
**MATERIAIS – PPGCEM**

**ANA SONIA MATTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE *SCAFFOLDS* DE UM VITROCERÂMICO DO**  
**SISTEMA  $\text{Li}_2\text{O}\cdot\text{ZrO}_2\cdot\text{SiO}_2\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$  COM PROPRIEDADES BIOATIVAS PARA**  
**ENTREGA DE MEDICAMENTOS NA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: prof. Dr. Oscar Rubem Klegues  
Montedo

Coorientadora: profa. Dra. Sabrina Arcaro

**CRICIÚMA**

**2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M444d Mattos, Ana Sonia.

Desenvolvimento de *scaffolds* de um vitrocerâmico do sistema  $\text{Li}_2\text{O ZrO}_2 \text{SiO}_2 \text{Al}_2\text{O}_3$  com propriedades bioativas para entrega de medicamentos na regeneração óssea / Ana Sonia Mattos. - 2024.

172 p. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, 2024.

Orientação: Oscar Rubem Klegues Montedo.

Coorientação: Sabrina Arcaro.

1. Materiais biomédicos. 2. Vitrocerâmicos. 3. Engenharia biomédica. 4. Mesoporo. 5. Ossos - Regeneração. 6. Entrega controlada de medicamentos.  
I. Título.

CDD 23. ed. 610.28

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101  
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

Ana Sônia Mattos

Desenvolvimento de *scaffolds* de um vitrocerâmico do sistema  $\text{Li}_2\text{O}\cdot\text{ZrO}_2\cdot\text{SiO}_2\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$  com propriedades bioativas para entrega de medicamentos na regeneração óssea.

Esta Tese de Doutorado – TD foi julgada adequada à obtenção do grau de Doutor(a) em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PPGCEM (Área de concentração: Tecnologia de Materiais) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Criciúma, SC, 27 de setembro de 2024.

**Banca Examinadora:**

Documento assinado digitalmente



ELIDIO ANGIOLETTO

Data: 30/09/2024 16:01:47-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Elídio Angioletto**

Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente



ELIANDRA DE SOUSA TRICHES

Data: 01/10/2024 12:28:59-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliandra de Sousa**

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Documento assinado digitalmente



ENORI GEMELLI

Data: 01/10/2024 10:47:50-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Enori Gemelli**

Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Documento assinado digitalmente



RICARDO ANDREZ MACHADO DE ÁVILA

Data: 01/10/2024 14:14:23-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila**

Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus pela oportunidade e força para realizar e concluir este trabalho.

Aos meus pais, Ademar Mattos e Cecilia Cesconetto Mattos, e a toda família, pelo apoio e pelas palavras de incentivo, que me ajudaram a superar todos os obstáculos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Oscar Rubem Klegues Montedo, pela oportunidade, confiança e dedicação prestada durante este período.

A minha coorientadora, Prof. Dr. Sabrina Arcaro, pelos inúmeros conselhos e ajuda sempre que necessário.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/Brasil, processo 88887.374486/2019-00) pelo apoio financeiro a este trabalho.

À UNESCO, aos professores do PPGCEM e à Vivian pela cooperação com todas as atividades do programa.

A todos dos laboratórios do Instituto de Engenharia e Tecnologia (IDT), do Laboratório de Cerâmica Técnica (CERTEC), do Laboratório de Desenvolvimento de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos (LADEBIMA), do laboratório de fisiopatologia experimental (FISIOPAT), do Instituto de Pesquisas Ambientais Tecnológicas (IPAT), ao professor Emílio e ao professor Ricardo Andres do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da UNESCO, que auxiliaram na execução dos ensaios realizados, tornando possível essa etapa do trabalho.

A Renata Bochanoski da Costa, companheira de projeto, com quem compartilhei tanto preocupações, aflições e muito trabalho, quanto descobertas e conquistas durante esta caminhada.

Sou grata também a Mariana Polla pela amizade, prontidão e ensinamentos que me proporcionou neste período em que trabalhamos juntas.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta com a realização deste trabalho.

## RESUMO

A osteoporose é uma doença moderna que reduz a capacidade de autorregeneração do tecido ósseo. Tal condição pode ser tratada usando estratégias de medicina regenerativa utilizando-se materiais bioativos, que podem atuar como suporte biologicamente compatível (*scaffolds*) para adesão e proliferação celular óssea, além de poder fazer a entrega de medicamentos (*drug delivery*). Devido à bioatividade, osteocondução e elevada resistência mecânica, os vitrocerâmicos bioativos têm se tornado boas opções dentre os materiais existentes. Assim, este estudo apresenta um novo método de geração de *scaffolds* bioativos para uso como *drug delivery*. Para isso, pós do vidro precursor de composição molar  $14,6\text{Li}_2\text{O}\cdot 8,6\text{ZrO}_2\cdot 67,3\text{SiO}_2\cdot 9,5\text{Al}_2\text{O}_3$  foram tratados termicamente a  $725\text{ }^\circ\text{C}$  por 3 h para a cristalização. A seguir, foram submetidos à ataque químico com ácido fluorídrico, 6% vol% por 40 s, para dissolução do vidro residual e lavadas com água deionizada e carbonato de cálcio para neutralizar o ácido. A estrutura, microestrutura, bioatividade e hemocompatibilidade do material, além da capacidade de entrega de três fármacos, foram avaliadas. Poros de tamanho  $4,19 \pm 0,04\text{ nm}$  foram obtidos, classificando o material como mesoporoso. Fosfatos de cálcio foram identificados nas amostras imersas em fluido corporal simulado (SBF) a partir de 24 h. Observou-se que o vidro do sistema LZSA, depois de adequados tratamentos térmico (para cristalização) e químico (para geração de porosidade superficial), pode ser empregado como *scaffold*, que promovem a deposição de hidroxiapatita comprovando sua bioatividade. A cinética de entrega de lítio mostrou que os *scaffolds* obtidos liberam lítio em quantidade adequada para apresentar bioatividade sem gerar toxicidade apreciável. Os ensaios de MTT e hemocompatibilidade, mostraram que esses *scaffolds* não apresentam danos ao organismo humano. Pela técnica de imersão, comprovou-se que esse material pode ser empregado como *drug delivery* para tratamento da osteoporose. Assim, a microestrutura obtida tem potencial para se tornar um *scaffold* para regeneração óssea e *drug delivery*.

**Palavras-chave:** Vitrocerâmico, *scaffolds*, mesoporo, regeneração óssea.

## ABSTRACT

Osteoporosis is a modern disease that reduces the self-regeneration capacity of bone tissue. This condition can be treated using regenerative medicine strategies employing bioactive materials, which can function as biologically compatible scaffolds for bone cell adhesion and proliferation, as well as facilitate drug delivery. Due to their bioactivity, osteoconduction, and high mechanical strength, bioactive glass-ceramics have become favorable options among existing materials. Thus, this study presents a new method for generating bioactive scaffolds for use in drug delivery. To achieve this, precursor glass powders with the molar composition  $14.6\text{Li}_2\text{O}\cdot 8.6\text{ZrO}_2\cdot 67.3\text{SiO}_2\cdot 9.5\text{Al}_2\text{O}_3$  were thermally treated at 725 °C for 3 h to induce crystallization. Subsequently, they were subjected to chemical etching with 6 vol% hydrofluoric acid for 40 s to dissolve the residual glass, followed by washing with deionized water and calcium carbonate to neutralize the acid. The structure, microstructure, bioactivity, hemocompatibility of the material, and the drug delivery capacity of three drugs were evaluated. Pores with an average size of  $4.19 \pm 0.04$  nm were obtained, classifying the material as mesoporous. Calcium phosphates were identified in samples immersed in simulated body fluid (SBF) from 24 h onwards. It was observed that the LZSA glass system, after appropriate thermal (for crystallization) and chemical (for generating surface porosity) treatments, can be employed as a scaffold, promoting the deposition of hydroxyapatite, thereby proving its bioactivity. The lithium release kinetics showed that the obtained scaffolds release lithium in adequate amounts to exhibit bioactivity without causing appreciable toxicity. MTT and hemocompatibility assays demonstrated that these scaffolds do not cause damage to the human body. The immersion technique confirmed that this material can be used as a drug delivery system for the treatment of osteoporosis. Thus, the obtained microstructure has the potential to become a scaffold for bone regeneration and drug delivery.

**Keywords:** Glassceramic, scaffolds, mesoporous, bone regeneration.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução dos biomateriais .....	26
Figura 2 - Evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo de seu desenvolvimento .....	27
Figura 3 - Representação esquemática de respostas biológicas a íons metálicos em matrizes biocerâmicas e vidros .....	34
Figura 4 - Fundamentos da Engenharia de Tecido Ósseo .....	59
Figura 5 - Gráfico esquemático da concentração do medicamento versus tempo para as formas mais comuns de administração do medicamento .....	64
Figura 6 - Microestrutura do vitrocerâmico do sistema LZSA após tratamento térmico a 900 °C por 30 min.....	73
Figura 7 - Procedimento experimental do tratamento térmico.....	78
Figura 8 - Metodologia do tratamento químico .....	81
Figura 9 - Resultado da análise térmica diferencial do vidro LZSA .....	99
Figura 10 - DRX do vitrocerâmico LZSA sem o tratamento químico e com tratamento químico.....	101
Figura 11 - Isotermas de adsorção-dessorção do <i>scaffold</i> LZSA.....	105
Figura 12 - Imagens de MEV da superfície de: (a) vidro LZSA, (b) HF/6/40/H <sub>2</sub> O/CaCO <sub>3</sub> , (c) HF/HCl/6/40/H <sub>2</sub> O/CaCO <sub>3</sub> , (d) HF/HCl/6/40/H <sub>2</sub> O/NH <sub>4</sub> OH, (e) HF/6/60/H <sub>2</sub> O e (f) HF/6/40/H <sub>2</sub> O.....	106
Figura 13 - Curvas de potencial Zeta para os <i>scaffolds</i> .....	107
Figura 14 - Imagens MEV de (a) vidro LZSA, (b) LZSA tratado termicamente e quimicamente, (c) LZSA tratado quimicamente e imerso em SBF por 28 dias indicando a formação de fosfato de cálcio e (d) EDS do LZSA tratado quimicamente e imerso em SBF mostrando Ca e P.....	109
Figura 15 - FTIR das amostras imersas nos tempos: 1, 3, 5, 7 e 24 h e 7, 14, 21, e 28 dias.....	111
Figura 16 - Cinética de liberação de lítio no <i>scaffold</i> .....	115
Figura 17 - Ensaio de citotoxicidade in vitro de diferentes concentrações (10, 20 e 40 µg/mL) do vidro, do vitrocerâmico e do <i>scaffold</i> .....	119
Figura 18 - Teste de hemocompatibilidade dos compostos em diferentes concentrações (0,5, 1 e 2 mg/mL).....	121
Figura 19 - Dano à proteína: conteúdo de sulfidrilas por mg de material .....	123
Figura 20 - Microscopia óptica comparando grânulos de <i>scaffold</i> impregnados com azul de metileno por meio das técnicas: Imersão (a) e Ultrassom (b) ...	125
Figura 21 - FTIR do <i>scaffold</i> , vitrocerâmico e vidro contendo azul de metileno inoculado por imersão .....	127
Figura 22 - Estrutura química do corante azul de metileno .....	127
Figura 23 - Termogravimetria do vidro, vitrocerâmico e <i>scaffold</i> com corante azul de metileno .....	129
Figura 24 - FTIR do <i>scaffold</i> e dos medicamentos: ácido zoledrônico, alendronato de sódio e risedronato de sódio. ....	130
Figura 25 - FTIR do <i>scaffold</i> sem e com medicamentos .....	131
Figura 26 - Imagens das moléculas dos medicamentos: (a) Alendronato de sódio; (b) Risedronato de sódio e (c) Ácido zoledrônico .....	133

Figura 27 - Termogravimetria dos <i>scaffolds</i> contendo os medicamentos usados .....	135
Figura 28 - Viabilidade celular pelo teste de MTT em linhagem celular NIH3T3 dos <i>scaffolds</i> carregados com medicamentos (risedronato de sódio, ácido zoledrônico e alendronato de sódio). .....	137
Figura 29 - Viabilidade celular pelo teste de MTT em linhagem celular NIH3T3. Efeito do alendronato de sódio, <i>scaffold</i> , <i>scaffold</i> contendo alendronato de sódio (10, 20 e 40 µg/mL) na viabilidade celular em cultura de células imortalizadas de fibroblastos (NIH3T3). .....	138
Figura 30 - Crescimento celular nos <i>scaffolds</i> tratados com os medicamentos .....	140
Figura 31 - Imagens de microscopia ópticas do crescimento celular obtidas durante o ensaio de <i>Scratch</i> .....	142
Figura 32 - Curva cinética de entrega de Risedronato de sódio.....	145
Figura 33 - Curva cinética de entrega de ácido zoledrônico .....	148
Figura 34 - Curva cinética de entrega de alendronato de sódio .....	150
Figura 35 - Curva cinética de entrega dos medicamentos .....	152

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Sistemas de biovidros e vitroceramicos bioativos e suas características .....	44
Quadro 2 – Características indispensáveis dos <i>scaffolds</i> .....	56
Quadro 3 - Processos biológicos visando a variação de poros dos <i>scaffolds</i> ..	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da frita do sistema LZSA.....	74
Tabela 2 - Planejamento do tratamento térmico da frita LZSA empregada.....	78
Tabela 3 – Condições de tratamento químico do vitrocerâmico LZSA.....	80
Tabela 4 - Quantificação pelo método de Rietveld do LZSA tratado e não tratado quimicamente (m%) .....	102
Tabela 5 - Análise BET e BJH amostras sem tratamento químico.....	103
Tabela 6 - Concentração iônica de Zr, Al e Si (Medidos por ICP-OES) em 7 e 28 dias de imersão em TRIS-HCl.....	113
Tabela 7 - Análise de entrega de íons nos <i>scaffolds</i> LZSA.....	117
Tabela 8 - Modelos cinéticos do Risedronato de sódio .....	144
Tabela 9 - Modelos cinéticos do ácido zoledrônico .....	147
Tabela 10 - Modelos cinéticos do alendronato de sódio .....	149
Tabela 11 - Quantidade relativa de medicamento liberado (%) em função do tempo .....	152

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BET - *Brunauer-Emmet-Teller*

BGs - Vidros bioativos

BJH - *Barrett-Joyner-Halenda*

DTA - Análise térmica diferencial

DMEM - *Dulbecco's Eagle* Modificado

DMO - Densidade mineral óssea

DRX - Difração de raios X

EDS - Espectroscopia de raios X de energia dispersiva

FTIR - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

HA - Hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )

ICSD - *Inorganic Crystal Structure Database*

LAS -  $\text{Li}_2\text{O}-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$

LZS -  $\text{Li}_2\text{O}-\text{ZrO}_2-\text{SiO}_2$

LZSA -  $\text{Li}_2\text{O}-\text{ZrO}_2-\text{SiO}_2-\text{Al}_2\text{O}_3$

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

MEV - Microscópio eletrônico de varredura

NIH3T3 - Fibroblasto murino

ODS - Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

OMS - Organização Mundial da Saúde

ONU - Organização das Nações Unidas

PGA - Ácido poliglicólico

PLA - Ácido polilático

PHB - Ácido polihidroxibutirato

PCL - Policaprolactona

SBF - Fluido corporal simulado

SLC - Sistemas de Entrega Controlada

TCP - Fosfato tricálcico

$\text{LiAl}(\text{Si}_2\text{O}_6)$  - Espodumênio

$\text{Li}_2\text{SiO}_3$  - Metassilicato de lítio

$\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$  - Dissilicato de lítio

$\text{ZrSiO}_4$  - Silicato de zircônio

$\text{SiO}_2$  - Quartzo

45S5 (*Bioglass*) - ( $\text{SiO}_2$ -CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....	17
1.2 PROBLEMA E HIPÓTESES .....	20
1.3 ORIGINALIDADE .....	21
1.4 OBJETIVOS .....	22
<b>1.4.1 Objetivo geral</b> .....	<b>22</b>
<b>1.4.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>22</b>
1.5 ESTRUTURA DA TESE .....	22
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>24</b>
2.1 BIOMATERIAIS .....	24
2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOMATERIAIS .....	28
<b>2.2.1 Biomateriais metálicos</b> .....	<b>30</b>
<b>2.2.2 Biomateriais poliméricos</b> .....	<b>31</b>
<b>2.2.3 Biomateriais cerâmicos</b> .....	<b>32</b>
2.2.3.1 Alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) .....	34
2.2.3.2 Zircônia ( $\text{ZrO}_2$ ) .....	35
2.2.3.3 Hidroxiapatita .....	36
2.2.3.4 Fosfatos .....	38
2.2.3.5 Vidros Bioativos .....	39
2.2.3.6 Uma comparação dos sistemas .....	42
2.3 PROPRIEDADES .....	43
<b>2.3.1 Propriedades dos biomateriais metálicos</b> .....	<b>43</b>
<b>2.3.2 Propriedades dos biomateriais poliméricos</b> .....	<b>45</b>
<b>2.3.3 Propriedades das biocerâmicas</b> .....	<b>46</b>
2.4 APLICAÇÕES E USOS DOS BIOMATERIAIS .....	48
<b>2.4.1 Metálicos</b> .....	<b>48</b>
<b>2.4.2 Poliméricos</b> .....	<b>49</b>
<b>2.4.3 Cerâmicos</b> .....	<b>49</b>
<b>2.4.4 Compósitos</b> .....	<b>51</b>
2.5 SCAFFOLDS .....	53
2.6 BIOMATERIAIS PARA A REGENERAÇÃO ÓSSEA .....	57
<b>2.6.1 Medicamentos para a regeneração óssea utilizados no tratamento da osteoporose</b> .....	<b>60</b>

2.7 ENTREGA DE MEDICAMENTOS – <i>DRUG DELIVERY</i> .....	63
2.7.1 Entrega controlada de fármacos .....	65
2.7.2 Biocerâmica e nanocerâmica para entrega de drogas .....	70
2.7.3 Porosidade das biocerâmicas para entrega de drogas .....	71
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>74</b>
3.1 MATERIAIS .....	74
3.1.1 Frita vitrocerâmica .....	74
3.1.2 Reagentes para tratamento químico .....	74
3.1.3 Fluido corporal simulado (SBF) .....	75
3.1.4 Solução tampão Tris-HCl .....	75
3.1.5 Linhagem celular .....	76
3.1.6 Medicamentos .....	76
3.2 OBTENÇÃO DE <i>SCAFFOLDS</i> .....	76
3.2.1 Análise térmica .....	76
3.2.2 Tratamento térmico .....	77
3.2.3 Tratamento químico .....	79
3.2.4 Caracterização dos <i>scaffolds</i> de vitrocerâmica LZSA: Porosidade e formação da microestrutura .....	81
3.2.4.1 Análise estrutural .....	81
3.2.4.2 Análise de área superficial específica e isoterma de adsorção .....	82
3.2.4.3 Análise morfológica .....	82
3.2.4.4 Potencial Zeta .....	83
3.3 COMPREENSÃO DO MECANISMO DE DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA .....	83
3.3.1 Imersão em fluido corporal simulado (SBF) .....	83
3.3.2 Análise morfológica .....	84
3.3.3 Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	84
3.3.4 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES (Al, Zr, Si) .....	84
3.4 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DE LÍTIO .....	85
3.4.1 Tris-HCl (tris(hidroximetil)aminometano) com ácido clorídrico .	85
3.4.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) .....	85
3.5 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR .	86
3.5.1 Ensaio de viabilidade celular (MTT) .....	86
3.5.2 Teste de hemocompatibilidade .....	87

<b>3.5.3 Dano à proteína</b> .....	89
3.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ADSORÇÃO/DEPOSIÇÃO E ENTREGA DOS FÁRMACOS NOS SCAFFOLDS OBTIDOS .....	90
<b>3.6.1 Inoculação com corante azul de metileno</b> .....	90
3.6.1.1 Técnica do ultrassom.....	90
3.6.1.2 Técnica da imersão.....	91
3.6.1.3 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR) .....	92
3.6.1.4 Perda de massa por Termogravimetria (TG) .....	92
<b>3.6.2 Imersão em medicamentos</b> .....	93
3.6.2.1 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR) .....	93
3.6.2.2 Perda de massa por Termogravimetria (TG) .....	93
3.6.2.3 Ensaio de viabilidade celular (MTT).....	94
3.6.2.4 Avaliação da migração celular em uma "ferida" criada artificialmente (SCRATCH) .....	94
3.6.2.5 Ensaio de entrega de medicamentos (UV-VIS).....	95
3.6.2.5.1 <i>Entrega e Determinação Quantitativa de Risedronato de sódio</i> ..	96
3.6.2.5.2 <i>Entrega e Determinação Quantitativa de Ácido zoledrônico</i> .....	96
3.6.2.5.3 <i>Entrega e Determinação Quantitativa de Alendronato de sódio</i> ..	97
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>98</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SCAFFOLDS.....	98
<b>4.1.1 Análise térmica</b> .....	98
<b>4.1.2 Análise estrutural</b> .....	100
<b>4.1.3 Análise de área superficial específica e isoterma de adsorção</b>	103
<b>4.1.4 Análise morfológica</b> .....	105
<b>4.1.5 Potencial Zeta</b> .....	<b>106</b>
4.2 COMPREENSÃO DO MECANISMO DE DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA: BIOATIVIDADE .....	108
<b>4.2.1 Análise morfológica</b> .....	109
<b>4.2.2 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)</b> .....	110
<b>4.2.3 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES (Al, Zr, Si)</b> .....	112
4.3 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DE LÍTIO.....	114
<b>4.3.1 Tris-HCl (tris(hidroximetil)aminometano) com ácido clorídrico</b>	114
<b>4.3.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES (Al, Zr, Si)</b> .....	117
4.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR	118
<b>4.4.1 Ensaio de viabilidade celular (MTT)</b> .....	119

<b>4.4.2 Teste de hemocompatibilidade .....</b>	<b>120</b>
<b>4.4.3 Dano à proteína.....</b>	<b>122</b>
<b>4.5 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ADSORÇÃO/DEPOSIÇÃO E ENTREGA DOS FÁRMACOS NOS SCAFFOLDS OBTIDOS .....</b>	<b>124</b>
<b>4.5.1 Escolha da técnica de impregnação com corante azul de metileno .....</b>	<b>125</b>
4.5.1.1 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR) .....	126
4.5.1.2 Perda de massa por Termogravimetria (TG) .....	128
<b>4.5.2 Caracterização dos <i>scaffolds</i> com medicamento .....</b>	<b>130</b>
4.5.2.1 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	130
4.5.2.2 Perda de massa por Termogravimetria (TG) .....	135
4.5.2.3 Ensaio de viabilidade celular (MTT).....	136
4.5.2.4 Avaliação da migração celular em uma "ferida" criada artificialmente (SCRATCH) .....	139
4.5.2.5 Entrega de medicamento (UV-VIS).....	141
4.5.2.5.1 <i>Entrega e Determinação Quantitativa de Risedronato de sódio</i> .....	143
4.5.2.5.2 <i>Entrega e Determinação Quantitativa de Ácido zoledrônico</i> .....	146
4.5.2.5.3 <i>Entrega e Determinação Quantitativa de Alendronato de sódio</i> .....	149
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>154</b>
<b>6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>157</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>158</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A medicina tem se desenvolvido ao longo dos anos com intuito de melhorar a saúde da população e a prevenção de doenças, considerando todas as formas de tratamento para se buscar a cura ou amenizar seus efeitos. Uma das novas áreas de atuação é a chamada Medicina Regenerativa, uma área promissora para profissionais de saúde que desejam desenvolver novas soluções para a saúde de seus pacientes. A medicina regenerativa constitui uma mudança do paradigma médico convencional, que procura regenerar o organismo ao nível celular ou tecidual (Diniz; Brito; Santos, 2022).

A perda óssea ocorre de maneira natural com o avanço do envelhecimento da população, de forma progressiva ao longo dos anos. Com o decorrer do tempo, os ossos apresentam diversos problemas, como desgaste, diminuição do desempenho, diminuição da atividade biológica e surgimento de doenças, dentre elas a osteoporose (Schober; Maus; Dimai, 2023). Com o passar dos anos, observa-se que a degeneração óssea afeta seriamente a qualidade de vida de pacientes de meia-idade e idosos, e a prevenção e o tratamento ainda são desafios para os cirurgiões clínicos.

Dentre as doenças que acarretam maior perda óssea está a osteoporose. A osteoporose afeta mais de 200 milhões de pessoas no mundo todo e se traduz por ser uma doença óssea progressiva, multifatorial e de evolução silenciosa, caracterizada por perda óssea e deterioração da microarquitetura óssea, cujo desfecho clínico mais importante é a ocorrência de fraturas por baixo impacto (Radominski *et al.*, 2017). Ela é considerada um problema de saúde global por ter um grande impacto na qualidade de vida, risco de mortalidade e onerar os sistemas públicos. O aumento da expectativa de vida fez com que doenças, como a osteoporose e o risco de fraturas, ficassem mais comuns na sociedade, principalmente, nas mulheres após a menopausa. O sexo feminino possui risco muito maior, pois desde o período pré-menopausa já ocorre uma perda óssea considerável. Isto está, geralmente, associado à perda de hormônios produzidos nas glândulas sexuais ou diminuição de absorção de

minerais, devido à deficiência de estrogênio, sendo a coluna e o quadril os lugares mais acometidos (Berriche *et al.*, 2017; Kanis, 2002).

O tecido ósseo está entre os tecidos altamente organizados, com o potencial de reconstruir sua estrutura original por meio dos processos de renovação e remodelação. Esta atividade é consequência, em sua maior parte, da atividade de dois tipos celulares principais, característicos do tecido ósseo: os osteoblastos e os osteoclastos, sendo necessário que o suprimento sanguíneo seja mantido (Ralston, 2021).

Nos últimos anos, as terapias injetáveis baseadas em biomateriais têm atraído muita atenção no tratamento da degeneração óssea, devido às suas propriedades minimamente invasivas e capacidade de realizar o reparo preciso de defeitos irregulares (Kong *et al.*, 2019). No entanto, o *design* preciso e o controle funcional de biomateriais bioativos injetáveis para o tratamento da perda óssea permanecem um desafio. Os tratamentos tradicionais não podem retardar ou mesmo reverter a progressão da degeneração óssea. Com base nas funções regenerativas e reparadoras dos biomateriais, destacando-se a biocompatibilidade e a biodegradabilidade, esses materiais se tornaram um importante foco de pesquisa para propor novas opções de tratamento para doenças degenerativas de perda da densidade mineral óssea, promovendo a regeneração e reparação do sistema musculoesquelético, trazendo uma nova esperança para o tratamento dessas doenças degenerativas (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Spezzia, 2020).

A maioria dos medicamentos disponíveis no mercado atua na redução da perda óssea ao inibir a reabsorção óssea. No entanto, novas terapias, como o uso de biomateriais, podem não apenas inibir a reabsorção, mas também estimular diretamente a formação e o aumento da massa óssea. Merecem destaque as biocerâmicas, que atuam no sistema biológico, no intuito de suprir, incluir e tratar, como dispositivos biomédicos (biossensores), materiais implantáveis (suturas, placas e substitutos ósseos), órgãos artificiais (coração, rim, fígado, pâncreas, pulmões, pele) e curativos (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

Em especial, os vidros bioativos têm demonstrado grande potencial na reparação de tecidos ósseos (Fernandes *et al.*, 2018; Hench, 2006). Os vidros bioativos (BGs) e as vitrocerâmicas têm se mostrado adequados para emprego como *scaffolds*, pois apresentam boa biocompatibilidade e degradabilidade,

podendo ser utilizados em tecidos circunvizinhos, produzindo condução óssea, como também como dispositivos para entrega de medicamentos.

Espera-se que os biomateriais desempenhem um papel multifuncional quando implantados, coordenando o processo de regeneração dos tecidos e fornecendo ao corpo a capacidade de se curar (Schatkoski *et al.*, 2021). Porém, devido à capacidade de autorregeneração do osso, estudos são realizados dentro da medicina regenerativa a fim de se identificar estratégias de aperfeiçoar o tratamento de perdas ósseas, como a osteoporose, por meio da regeneração ou substituição das células ósseas, utilizando-se métodos e materiais que apresentem bioatividade (Diniz; Brito; Santos, 2022). Materiais bioativos são aqueles capazes de interagir com o tecido ósseo danificado e restaurá-lo, sem causar mutação celular ou qualquer tipo de dano.

Para aplicações cirúrgicas que precisam de colocação de implantes ou que necessitem de crescimento ósseo e boa adesão entre o osso e o biomaterial, o vidro e a vitrocerâmica despontam como boas opções de uso (Paul; Sharma, 2007).

O comportamento biológico de vidros à base de lítio em contato com osteoblastos humanos mostrou proliferação e migração celular (filopódios) (Souza *et al.*, 2018). Estudos recentes concluíram que o lítio é um íon biologicamente ativo, o que é benéfico para o papel do material em nível celular e acelera o processo de deposição da hidroxiapatita, que confirma a bioatividade (Possolli *et al.*, 2021; Possolli *et al.*, 2022). Possivelmente, comportamento similar seria obtido com vidros ou vitrocerâmicos do sistema LZSA ( $\text{Li}_2\text{O}-\text{ZrO}_2-\text{SiO}_2-\text{Al}_2\text{O}_3$ ).

A vitrocerâmica obtida a partir do vidro de lítio pode ter o nível de cristalização ajustado para controlar a quantidade de lítio liberado e melhorar outros aspectos da estrutura formada. O aprimoramento dessa estrutura química está relacionado à simulação da macroscopia e da microestrutura do tecido ósseo, podendo promover a condução e osteoindução óssea local e, portanto, representa uma possibilidade de melhorar a deposição local do tecido em defeitos ósseos. Nestes casos, a resistência mecânica não precisa ser elevada. No entanto, o material deve apresentar propriedades mecânicas que permitam sua aplicação à deposição de tecido em sua estrutura. E é nesses casos que as cerâmicas de vidro à base de lítio se mostram promissoras (Kawachi *et al.*, 2000;

Possolli *et al.*, 2021). Assim, esses biomateriais podem atuar como suportes biologicamente compatíveis (*scaffolds*), auxiliando na proliferação celular óssea mediante formação de hidroxiapatita e entrega de medicamento (*drug delivery*), onde o fármaco é incorporado no material e inserido no osso defeituoso para, assim, auxiliar na sua regeneração. Estudos têm demonstrado que o uso de *scaffolds* como transportadores de medicamentos para o tratamento da osteoporose é um campo de pesquisa crescente (Khajuria; Razdan; Mahapatra, 2011).

## 1.2 PROBLEMA E HIPÓTESES

A obtenção de *scaffolds* varia de acordo com o material ou o método utilizado, tornando distintas as suas características conforme os parâmetros de preparo são modificados, podendo variar em tamanho de poros, resistência ou estrutura. Diversas maneiras de preparação das microestruturas são investigadas na busca da metodologia ideal, buscando-se características específicas cada vez melhores. Alguns vitrocerâmicos tornam-se boas opções, como o vitrocerâmico do sistema LZSA, por possuir elevada resistência mecânica e microestrutura controlável (cristalinidade e porosidade). No entanto, para que possa atuar como *drug delivery*, deve apresentar outras características fundamentais, tais como osteocondução, biocompatibilidade e bioatividade (formação de hidroxiapatita). A porosidade é também um fator de grande importância para a inoculação do medicamento, que neste caso depende das condições de cristalização (temperatura e tempo).

A porosidade de vitrocerâmico LZSA, que depende do mecanismo de cristalização e das condições de tratamento térmico, dentre outros aspectos, assume papel importante para a inoculação do medicamento. Considerando-se que neste sistema vitrocerâmico a cristalização é do tipo superficial, isto é, os cristais crescem em forma de colunas a partir da superfície em direção ao centro, circundados pela fase vítrea residual e que esta pode ser dissolvida por meio de uma lavagem com ácido forte, uma estrutura altamente porosa pode ser produzida, conforme observado por Montedo *et al.* (2021). Assim, esta estrutura de características potencialmente bioativas, considerando-se os trabalhos de Possolli *et al.* (2021 e 2022), e com elevada porosidade superficial, que

permitisse a inoculação de fármacos, poderia ser adequada para a formação de *scaffolds* para uso como *drug delivery*.

Assim, as seguintes hipóteses devem ser testadas:

- O vidro do sistema LZSA, após adequados tratamentos térmico (para cristalização) e químico (para geração de porosidade superficial), poderia ser empregado como *scaffold*?
- Os *scaffolds* obtidos promoveriam a deposição de hidroxiapatita, isto é, apresentariam bioatividade?
- Os *scaffolds* obtidos liberariam lítio em quantidade adequada para gerar bioatividade sem gerar toxicidade apreciável?
- Esses *scaffolds* apresentariam citotoxicidade e promoveriam a proliferação celular?
- Esse material apresentaria entrega controlada de medicamento para ser empregado como *drug delivery* para tratamento da osteoporose?

### 1.3 ORIGINALIDADE

Depois de uma detalhada pesquisa bibliográfica, identificou-se que ainda não existem estudos que avaliem sistematicamente a bioatividade, dissolução e citotoxicidade da vitrocerâmica do sistema LZSA *in vitro*, bem como a formação de *scaffolds* para entrega de medicamento. Este estudo visa proporcionar um novo método de fabricação de *scaffolds* biologicamente compatíveis, utilizando-se o processo de tratamento químico em vitrocerâmico LZSA ( $\text{Li}_2\text{O-ZrO}_2\text{-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ ), com parâmetros de obtenção preestabelecidos, e tratado termicamente para cristalização do material. Sua resposta biológica em contato com fibroblasto murino (NIH3T3) será analisada avaliando-se sistematicamente a bioatividade, dissolução e citotoxicidade deste sistema *in vitro* e o perfil de adsorção/deposição e entrega dos fármacos nos *scaffolds* obtidos.

O tema central dessa tese atende a pelo menos dois dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU):

- ODS 3 – Saúde e bem-estar;
- ODS 9 – Indústria, inovação e infraestrutura.

## 1.4 OBJETIVOS

### 1.4.1 Objetivo geral

Estudar a obtenção de *scaffolds* a base de vitrocerâmico do sistema LZSA e suas propriedades bioativas para entrega de medicamentos na regeneração óssea

### 1.4.2 Objetivos específicos

São objetivos específicos relacionados a cada uma das hipóteses identificadas:

- Obter *scaffolds* de vitrocerâmico do sistema LZSA mesoporosos por meio de tratamento térmico e tratamento químico;
- Compreender o mecanismo de deposição de hidroxiapatita nos *scaffolds* obtidos;
- Estudar a cinética de dissolução de lítio dos *scaffolds* analisados;
- Avaliar a citotoxicidade e proliferação celular dos *scaffolds* estudados;
- Avaliar o perfil de adsorção/deposição e entrega dos fármacos nos *scaffolds* obtidos.

## 1.5 ESTRUTURA DA TESE

A tese se divide em seis capítulos. A Introdução apresentou uma contextualização do tema, a problemática envolvida, as hipóteses a serem investigadas, a originalidade do tema e os objetivos. O segundo capítulo é dedicado à revisão da literatura dos tópicos relevantes para a sustentação teórica ao tema proposto, assim como o estado da arte. O capítulo três apresenta a metodologia empregada, considerando os materiais, métodos e ensaios realizados para se testar cada uma das hipóteses consideradas. A seguir, o capítulo quatro vai apresentar os resultados obtidos a partir da metodologia empregada e as discussões relativas a estes resultados obtidos. O capítulo cinco vai apresentar as principais conclusões obtidas e relacionadas aos objetivos

propostos, enquanto o capítulo seis apresentará as sugestões para trabalhos futuros, com algumas lacunas de conhecimento identificadas no decorrer do trabalho e passíveis de interesse para futuros projetos de pesquisa.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 BIOMATERIAIS

Os avanços da biotecnologia levaram a uma melhoria da qualidade de vida da população, aumentando sua expectativa de vida. Por outro lado, é importante destacar que, com o envelhecimento do indivíduo, vários problemas de saúde surgem. Os ossos, por exemplo, passam a apresentar os mais diversos problemas, entre os quais podemos citar: desgaste, redução do desempenho e redução da atividade biológica (Cao; Wang, 2009).

O uso de biomateriais não é recente e sua aplicação na correção dos mais diversos tipos de problemas relacionados à saúde humana remonta à antiguidade (Jones, 2015).

Sendo assim, os métodos iniciais usados no desenvolvimento e aplicação dos biomateriais eram basicamente do tipo tentativa e erro. Na década de 1950, buscava-se obter de forma sistematizada os materiais bioinertes. Com o passar do tempo, a característica desejada passou a ser a bioatividade dos biomateriais. Recentemente, o objetivo tem sido a regeneração de um tecido funcional de fato, com foco, então, no aspecto biológico (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Ratner, 2013).

Nos últimos anos, a combinação da ciência dos materiais com a ciência biomédica tem contribuído para o desenvolvimento de biomateriais, que reconstruem ou substituem tecidos danificados (Ribas *et al.*, 2019).

Segundo Gautam, Kumar e Kumar (2022), biomateriais são materiais naturais ou sintéticos usados para substituir ou reparar tecidos vivos danificados. Segundo Wagner *et al.* (2020), também podem ser considerados materiais que o corpo humano pode suportar e tolerar.

A busca constante por biomateriais, que possam estimular e promover a reposição de tecidos vivos afetados e lesados para restaurar suas funções fisiológicas, tem sido amplamente estudado. Dentre os biomateriais, vem se destacando as biocerâmicas e vidros bioativos, devido às suas características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioatividade e condução óssea (Best *et al.*, 2008; Vallet-Regí, 2010). A biocerâmica surgiu no final da década de 60, fruto de concentração de esforços para vencer dificuldades originadas de falhas

de biocompatibilidade, relacionadas aos implantes metálicos empregados em cirurgia ortopédica (Teixeira; de Moraes; de Oliveira, 2021).

Convém destacar os conceitos de biocompatibilidade e bioatividade, conforme descrito a seguir, tendo em vista se tratar das características dos biomateriais.

A biocompatibilidade é a capacidade dos tecidos entram em contato com um determinado material e não manifestarem qualquer tipo de experiência tóxica, irritante, inflamatória, alérgica ou de fundo mutagênico ou carcinogênico.

Atualmente, esse conceito envolve tudo, desde a engenharia tecidual e entrega de medicamentos à nanotecnologia e modificação genética, o que torna ainda mais urgente o estudo do mecanismo e da interconexão dessa ação e a clareza de sua função e funcionamento (Williams, 2008). Bioatividade pode ser descrita como a capacidade dos materiais se ligarem ou aderirem aos tecidos vivos, de forma a estimular os processos físico-químicos básicos dos sistemas biológicos, permitindo a integração dos materiais biológicos no ambiente receptor (Hench, 2015; Silva Junior; Oréfice, 2001).

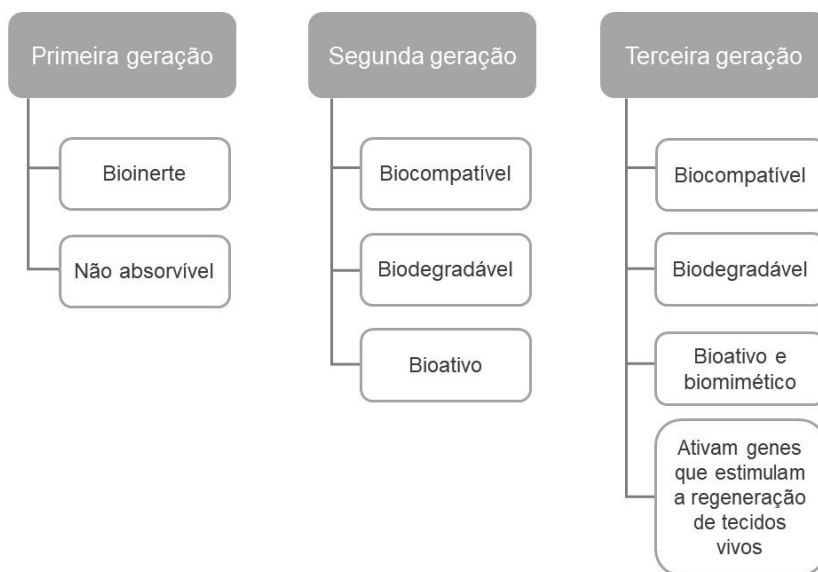
O objetivo dos biomateriais, neste caso, é o de substituir ou auxiliar tecidos e órgãos lesados de forma plena, bem como na recuperação das funções nos mais diversos trabalhos da área médica (Matsunaka; Frantz, 2021).

Foi somente no século XVIII que se iniciou o uso controlado desses materiais na prática clínica. Na ortopedia, foi a partir do século XIX que o gesso (sulfato de cálcio hidratado,  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) tem sido utilizado para o reparo ósseo (Siqueira; Zanotto, 2011). A evolução dos biomateriais se deu a partir de três gerações, ocorrendo o aperfeiçoamento das propriedades dos materiais, conforme o surgimento das necessidades, bem como a aplicabilidade molecular (Notes, 2020).

Neste sentido, a evolução dos biomateriais é mostrada na Figura 1 de forma sucinta, enfatizando as gerações dos biomateriais.

Os biomateriais de primeira geração eram apenas biologicamente inertes e usados para fornecer suporte e fixação para os ossos defeituosos; os de segunda geração constituem aqueles dedicados às características de bioinércia, bioatividade e biodegradabilidade; já os de terceira geração visam induzir ambientes biológicos específicos, por meio da adição de substâncias de orientação biológica (Gautam; Kumar; Kumar, 2022).

Figura 1 - Evolução dos biomateriais



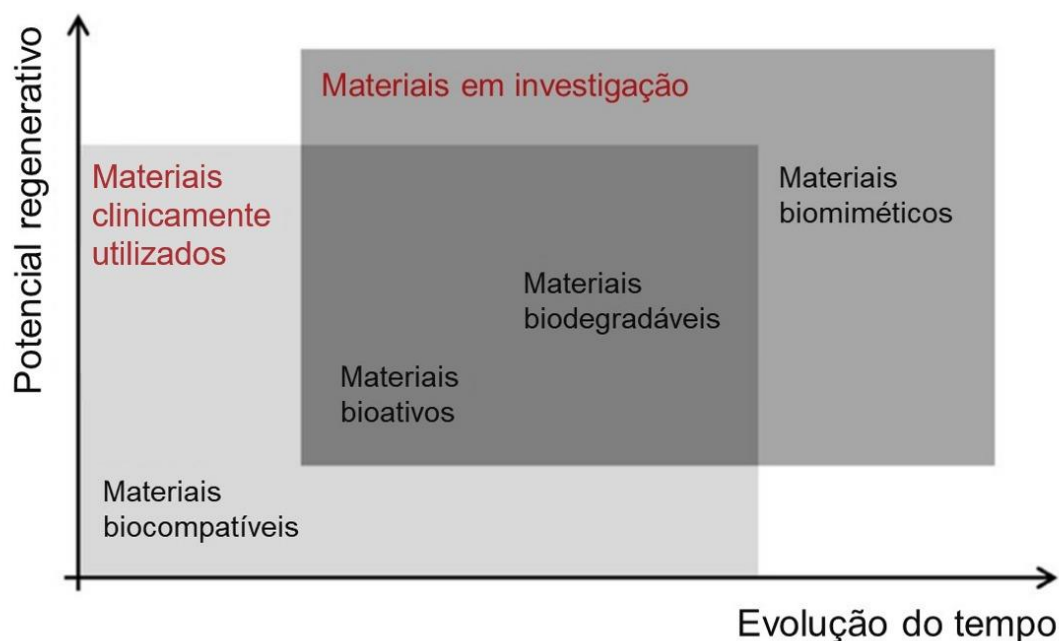
Fonte: Adaptado de Gautam, Kumar e Kumar (2022).

No Brasil, a Constituição proíbe o uso e a comercialização de materiais de origem humana e os materiais biológicos frequentemente utilizados são os xenógenos de origem animal e os sintéticos ou aloplásticos (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Spezzia, 2020).

O conceito evolutivo no desenvolvimento e uso destes tipos de biomateriais é demonstrado na Figura 2, que retrata a evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo de seu desenvolvimento (Holzapfel *et al.*, 2013).

Em um primeiro momento, buscou-se substituir os tecidos danificados e proporcionar o surgimento de suporte mecânico, utilizando materiais visando minimizar a resposta biológica do paciente. Posteriormente, buscou-se ampliar a vida útil do implante, inter-relacionando com a área de interação do tecido hospedeiro. Em seguida, atentou-se para o foco no desenvolvimento de materiais que pudessem ser absorvidos, após a dissolução, pelo tecido do hospedeiro (Holzapfel *et al.*, 2013).

Figura 2 - Evolução da funcionalidade e da capacidade regenerativa dos biomateriais ao longo de seu desenvolvimento



Fonte: Adaptado de Holzapfel *et al.* (2013) e Pires, Bierhalz e Moraes (2015).

Atualmente, o conceito de biomimética vem sendo estudado, buscando-se materiais que participem ativamente do processo de recuperação, agindo sobre os tecidos de forma específica (Diaz-Rodriguez; Sánchez; Landin, 2018).

Nos últimos anos, avanços importantes têm sido feitos no campo dos biomateriais, a maioria dos quais relacionados à obtenção de materiais biologicamente ativos. O desenvolvimento de biomateriais bioativos é tão lógico quanto o desenvolvimento de medicamentos bioativos. A atividade farmacológica é baseada no princípio do reconhecimento biológico, como a inibição competitiva de receptores ou enzimas, bloqueio de sítios de ligação e regulação de certas vias biológicas. Na maioria das aplicações, pode-se considerar a função de dispositivos baseados em biomateriais de forma semelhante a um produto farmacêutico (Hubbell, 1999).

Historicamente, a principal função dos biomateriais e implantes era substituir tecidos doentes ou danificados. No entanto, nos últimos trinta anos, a estratégia da pesquisa de biomateriais começou a mudar do desenvolvimento de biomateriais com respostas de tecido biologicamente inertes, para a produção

de ingredientes bioativos que possam desencadear efeitos controlados e respostas em um ambiente fisiológico (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

Desde o final da década de 1990, o potencial de aplicação do vidro bioativo nas áreas de medicina regenerativa e engenharia tecidual é enorme. A engenharia do tecido ósseo é uma das aplicações clínicas mais interessantes do vidro bioativo no futuro.

Desta forma, a evolução dos biomateriais se traduz como um importante aspecto de estudo e utilização na busca de elementos capazes de serem usados na reparação e regeneração óssea.

Portanto, é muito importante analisar detalhadamente os tipos de compostos químicos utilizados para construir os biomateriais, com propriedades, vantagens, limitações e aplicabilidade importantes. Além desses biomateriais já terem sua aplicação firmada e consolidada, a criação de novos biomateriais renovadores e transformadores, como novos *scaffolds* com aplicação na engenharia tecidual, bem como para células tronco, vêm despertando interesse e estudos mais aprofundados, haja vista que somente uma parte da população tem acesso a esses dispositivos (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

## 2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOMATERIAIS

Os biomateriais podem ser classificados quanto ao tipo, de acordo com sua origem e comportamento fisiológico com relação à espécie biológica, quanto ao meio e em relação às propriedades biológicas, conforme descrito a seguir.

A classificação dos biomateriais quanto ao tipo compreende metais, polímeros, cerâmicas e compósitos. Os metais mais comumente utilizados são o titânio, os aços inoxidáveis e as ligas metálicas. Por sua vez, os polímeros são classificados como sintéticos ou naturais. Os cerâmicos são aqueles utilizados na reparação e regeneração óssea, sendo os mais utilizados o fosfato de cálcio, vidros bioativos e a alumina. Os compósitos consistem na junção de mais de um tipo de material, ou seja, de polímero e material cerâmico, por exemplo (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Ratner, 2013).

Os biomateriais são classificados de acordo com sua origem, mecanismo de ação e comportamento fisiológico em:

- quanto à sua origem, tem-se os materiais biológicos, sintéticos e aloplásticos. Materiais biológicos são aqueles que se realizam por meio de reações ao meio biológico (Spezzia, 2021). Autógenos são materiais que provém do próprio indivíduo. Xenógenos são materiais de implante retirados de uma espécie e transplantados para outra (origem de indivíduos de várias espécies). Aloplásticos se caracterizam por serem materiais de implante sintéticos ou inorgânicos utilizados como substitutos aos enxertos ósseos;

- quanto ao meio os biomateriais, são classificados como:

Bioativos: Um material bioativo é aquele que apresenta interação com o organismo humano e o meio ambiente, sem provocar danos. Como exemplos de materiais bioativos, temos vidros, vitrocerâmicas, compostos de fosfato de cálcio e hidroxiapatita;

Bioabsorvíveis: são aqueles que são absorvíveis pelo corpo sem causar danos à saúde. Como exemplos de materiais bioabsorvíveis temos o fosfato tricálcico (TCP) e o poliácido láctico (PLA) (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015);

Bioinertes: são aqueles que não causam reação no organismo, visto que possuem alta estabilidade química. Como exemplos de materiais bioinertes, temos alumina, zircônia, titânio, óxido de nióbio e carbono (Spezzia, 2021).

Os biomateriais implantados classificam-se em relação às propriedades biológicas como (Hubbell, 1999; Pires; Bierhalz; Moraes, 2015):

- Tóxicos: aqueles que resultam na morte das células em torno do implante;
- Não tóxicos ou praticamente inertes: aqueles que não têm reações maléficas ao organismo, formando um tecido fibroso em volta do implante;
- Não tóxicos e bioativos: os que interagem com o ambiente ao redor da prótese, permitindo desse modo a formação de tecido humano sobre ela, evitando a rejeição por parte do organismo;
- Não tóxicos e biodegradáveis: capazes de serem desintegrados por agentes biológicos ou serem biorreabsorvíveis, cujo produto da sua degradação participa do processo metabólico do organismo humano.

Os biomateriais naturais, por terem propriedades semelhantes às encontradas no corpo humano, não proporcionam as reações adversas causadas pela toxicidade encontrada nos materiais sintéticos. Por exemplo, tem-se colágeno, queratina, quitina e celulose (Spezzia, 2021). Os dispositivos ortopédicos, tais como as placas, pinos, parafusos e próteses são geralmente confeccionados em metais puros, ou com cerâmicos e polímeros, tendo sua utilização na fixação de fratura óssea ou em substituição de tecidos duros. Diante da baixa resistência mecânica e alto módulo de elasticidade dos produtos disponíveis no mercado, está se ampliando a exploração de novos materiais para implantes e próteses ortopédicas (Silva, 2017).

### **2.2.1 Biomateriais metálicos**

Inicialmente, o uso bem-sucedido de biomateriais metálicos para reparo ósseo, incluindo aço inoxidável e ligas de cobalto-cromo, ocorreu por volta do século XX, tendo em vista que seu principal atributo é a capacidade de resistir à corrosão no ambiente interno. No entanto, também exibe certo grau de resistência mecânica e alta resistência à fadiga, tração e fratura (Oliveira *et al.*, 2010). Portanto, observando-se estas características, os metais vêm sendo bastante usados como componentes estruturais, objetivando a substituição, reforço ou estabilização de tecidos duros frequentemente sujeitos a altas cargas de tração e compressão (Oliveira *et al.*, 2010).

Desta forma, os primeiros biomateriais desenvolvidos foram composições de aço inoxidável, bem como as ligas metálicas, por exemplo, a de titânio desenvolvidas no intuito de aprimorar as propriedades de resistência mecânica e anticorrosão. Todavia, determinadas substâncias metálicas têm apresentado ação tóxica *in vivo*, tais como o vanádio (V) e o níquel (Ni) (Silva, 2017).

As ligas de titânio, devido à sua biocompatibilidade, densidade baixa e valor do módulo de elasticidade, têm melhor resistência à corrosão do que o aço inoxidável; por esta razão, vêm sendo frequentemente utilizadas como prótese permanente e fixador de fratura. Portanto, o titânio beneficia o processo de

osseointegração, indispensável para implantes de longa duração (Ibrahim *et al.*, 2017).

Além disso, as ligas de titânio feitas de alumínio (Al), estanho (Sn) e zircônio (Zr) apresentam boa resistência à corrosão, mas sua resistência mecânica a baixas temperaturas é pequena e limitada. Já as ligas à base de cobalto e cromo (Co-Cr) são amplamente utilizadas para a confecção de próteses ortopédicas para os joelhos, ombros e quadris, bem como na fixação de ossos fraturados (Asri *et al.*, 2017).

Portanto, os biomateriais metálicos tendem a se deteriorar excessivamente durante o atrito frequente e contínuo e a combinação com tecidos adjacentes causa a entrega de íons metálicos por meio de dissolução, desgaste ou corrosão. Sendo assim, sua superfície precisa ser alterada e agregada a outros tipos de materiais, como polímeros, que lhe conferem maior resistência mecânica e permitem o contato adequado em locais com atrito suficiente, como próteses de articulação do quadril, por meio do contato com materiais biológicos (Dee; Puleo; Bizios, 2002).

Além disso, a desvantagem dos biomateriais metálicos é a perda da estimulação mecânica nos ossos do local de fixação do material, levando à falha, dano e perda do implante. Por outro lado, diversos biomateriais metálicos contêm fases ferromagnéticas, que produzem efeitos opostos em um campo magnético, e podem ser utilizados em técnicas diagnósticas, como a ressonância magnética (Kawachi *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2010).

### **2.2.2 Biomateriais poliméricos**

O objetivo principal dos polímeros é serem biodegradáveis e podem existir em forma natural ou sintética.

É importante salientar que os polímeros naturais e sintéticos são usados como modelos na engenharia tecidual (os *scaffolds*) para formar cartilagens, ligamentos, meniscos e discos intervertebrais em estruturas tridimensionais, especialmente polímeros sintéticos biodegradáveis (Navarro *et al.*, 2008).

Desta forma, os polímeros de reparo ósseo mais frequentemente usados incluem ácido poliglicólico (PGA), ácido polilático (PLA), ácido polihidroxibutírico (PHB) e policaprolactona (PCL).

Os biomateriais poliméricos são os mais utilizados na área médica, eis que são mais fáceis de usar e produzir em diferentes arranjos estruturais; por isso recebem diferentes formatos, como partículas, filmes, fios, hidrogéis, entre outros. Por outro lado, em comparação com outros materiais biológicos, os baixos custos de produção são muito atrativos; sendo assim, podemos dizer que os biomateriais poliméricos são amplamente utilizados para a confecção de próteses, ou seja, aparelhos de uso temporário que auxiliam em determinadas funções corporais (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

Portanto, quando o tratamento ocorrer, ele pode repor o tecido lesado dentro do tempo necessário para que a reparação e recuperação da área infectada ocorra naturalmente; assim, os polímeros são obtidos por meio de reações de polimerização ou organismos. As áreas com maior desenvolvimento clínico de implantes biodegradáveis são joelhos, ombros e quadris (Silva, 2017).

### **2.2.3 Biomateriais cerâmicos**

No campo da biomedicina, as cerâmicas têm sido utilizadas na odontologia e na ortopedia.

Segundo Paul e Sharma (2003), existem várias substâncias cerâmicas no mercado que podem ser utilizadas como substitutos ósseos. Dentre eles, cerâmicas monofásicas de fosfato de cálcio, de fosfato tricálcico (TCP) ou hidroxiapatita (HA), cerâmicas de fosfato de cálcio bifásico em vidro bioativo e cimento de fosfato de cálcio sintético multifásico, que podem ser usados em engenharia tecidual e administração de drogas.

Em termos de regeneração óssea, as cerâmicas à base de fosfato de cálcio se sobressaem às demais cerâmicas, que visam garantir maior eficiência, eis que possuem composição química semelhante à formação de minerais do tecido ósseo, o que pode melhorar efetivamente sua resistência com diferentes materiais (Fernandes et al., 2018). No entanto, sua porosidade aumenta o risco de fratura, tornando-os inadequados para uso onde é necessário maior esforço mecânico. Desta forma, as principais cerâmicas do mercado para reparo, reconstrução e substituição do tecido ósseo são hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ),  $\beta$ -fosfato tricálcico ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) e zircônia ( $\text{ZrO}_2$ ) (Oliveira et al., 2010; Soares, 2012).

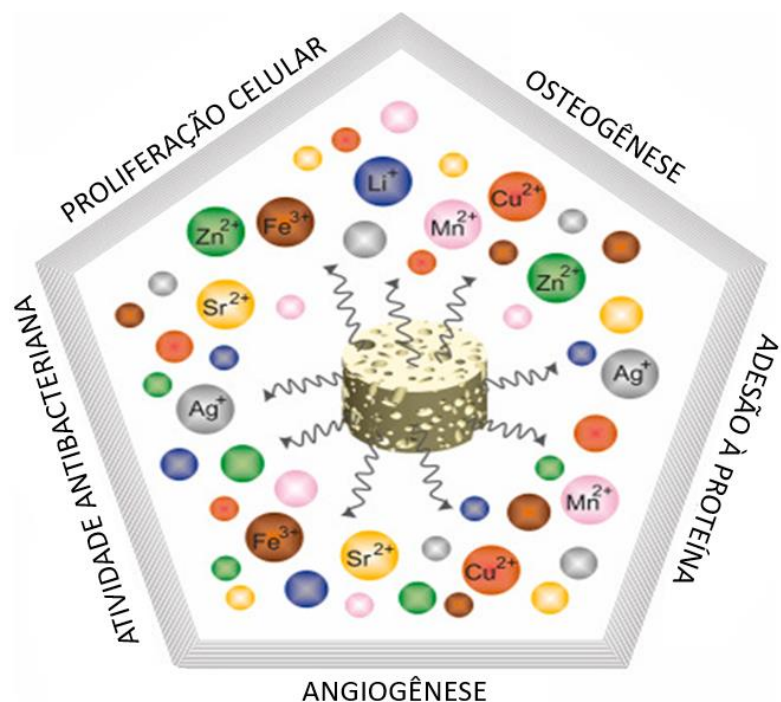
Além do mais, tendem a ter baixa resistência mecânica para suportar cargas estáticas e dinâmicas, razão pela qual limita seu uso no preenchimento ósseo, nos defeitos e revestimentos de próteses metálicas ortopédicas (Busuioc *et al.*, 2016).

As cerâmicas bioativas interagem com os tecidos circundantes, visando estimular a cura (cicatrização) e o sistema tissular (do tecido) a responder ao material como se fosse tecido natural. Exemplos desta categoria são hidroxiapatita, vidros e vitrocerâmicos bioativos.

Os materiais bioabsorvíveis participam do processo metabólico do corpo humano (estrutura) e têm a característica de serem degradados por efeitos químicos ou biológicos e serem lentamente substituídos por células em crescimento. Eles também são estáveis a longo prazo e minimizam a possibilidade de entrega do implante. Essas cerâmicas incluem fosfato tricálcico e gesso (Ratner, 2013). Dentre os biomateriais cerâmicos, merece destaque a alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), a zircônia, a hidroxiapatita (HA) e os fosfatos.

Íons metálicos específicos com efeitos terapêuticos (como  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ ) têm sido adicionados à estrutura química de biocerâmicas e vidros bioativos (BGs) para superar as deficiências de materiais puros e facilitar seu uso em diferentes aplicações biomédicas.  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$  são oligoelementos essenciais envolvidos em várias funções metabólicas e são necessários para o crescimento e desenvolvimento (Baiano, 2018). Assim, incorporá-lo a materiais biológicos pode estimular a angiogênese e a formação óssea (Maciejewska; Drzazga; Kaszuba, 2014). Devido ao importante papel desses cátions, a dopagem de  $\text{Ag}^+$  e  $\text{Cu}^{2+}$  na estrutura de biocerâmicas e BGs tem sido repetidamente estudada para prevenir infecções microbianas em diferentes processos metabólicos e em muitas aplicações biomédicas. Para este fim, biocerâmicas dopadas são funcionalizadas com drogas ou biomoléculas como nanocarreadores direcionados ou componentes de *scaffolds* (Schatkoski *et al.*, 2021), que são representados conforme expostos na Figura 3 (Ryan *et al.*, 2019).

Figura 3 - Representação esquemática de respostas biológicas a íons metálicos em matrizes biocerâmicas e vidros



Fonte: Adaptado de Schatkoski *et al.* (2021).

### 2.2.3.1 Alumina ( $Al_2O_3$ )

A alumina ( $Al_2O_3$ ) é uma cerâmica biologicamente inerte e biocompatível (Chatzistavrou *et al.*, 2011). Apresenta boas propriedades mecânicas e é altamente compatível com tecidos humanos. Além disso, a adição de alumina aos biomateriais pode melhorar as propriedades mecânicas sem reduzir significativamente a biocompatibilidade.

Além disso, o  $Al_2O_3$  pode prevenir a formação de apatita na superfície de cerâmicas de vidro ativo em contato com fluidos corporais simulados (Andersson; Sodergard, 1999).

Em particular, muitos métodos propostos têm sido aplicados ao desenvolvimento de cerâmicas compostas, que são importantes materiais de bioengenharia, tais como processos de mistura e sinterização por compressão, métodos de processamento baseados em suspensão e prensas a quente, dentre outros (Kokubo; Kim; Kawashita, 2003).

Trabalhos recentes em cerâmica para aplicações biomédicas também levaram ao uso de processos básicos usando soluções e suspensões, aplicando-se pulverização eletrodinâmica, rotação e métodos semelhantes (Deubener *et al.*, 2018; Hench, 2015).

Por outro lado, foi constatado que ao adicionar uma pequena quantidade de alumina e estrôncio à composição do Bioglass® 45S5, supera-se algumas das deficiências bem conhecidas do 45S5, como janela de processamento pobre e tendência de alta cristalização, e também melhora significativamente as propriedades mecânicas e tribológicas (Araujo *et al.*, 2021).

O alumínio tem um efeito significativo na melhoria das propriedades mecânicas dos vidros bioativos (Rabiee *et al.*, 2015). No entanto, em uma quantidade suficiente, a solubilidade pode ser ajustada a um limite aceitável para fazer a camada de hidroxiapatita durar mais e ainda ser capaz de se ligar aos ossos enquanto aumenta as propriedades mecânicas (Araujo *et al.*, 2021).

As cerâmicas bioativas se combinam e se integram espontaneamente aos ossos vivos do corpo, sem formar tecido fibroso ao seu redor (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015). Neste sentido, a adição de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  geralmente melhora a estabilidade a longo prazo do implante, necessária para reparar defeitos ósseos. Esta alta responsividade é sua principal vantagem no reparo e aumento ósseo. Isso porque os produtos da reação obtidos, a partir desses tipos de vidros e fluidos fisiológicos, produzem uma fase semelhante à apatita cristalina, semelhante à composição inorgânica dos ossos em espécies de vertebrados (Radin *et al.*, 1996).

#### 2.2.3.2 Zircônia ( $\text{ZrO}_2$ )

A zircônia ( $\text{ZrO}_2$ ) é uma cerâmica inerte que possui uma estrutura polimórfica com três tipos diferentes de cristal: monoclinica (M), cúbica (C) e tetragonal (T). A estrutura monoclinica é observada em temperaturas de até 1170 °C. Acima desta, ocorre a transformação para a fase tetragonal e a 2370 °C, a zircônia adota a fase cúbica (Afzal, 2014). No processo de resfriamento da temperatura de processamento, a fase tetragonal se transforma em uma fase monoclinica, que é acompanhada por expansão de volume (3 a 4%), que gera tensões internas na microestrutura do material, produz trincas e o torna bastante

frágil. Como resultado, as propriedades mecânicas e refratárias da zircônia pura ficam comprometidas, limitando sua aplicação (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

Para aumentar a resistência mecânica e a tenacidade, as fases cristalinas tetragonal e cúbica do cristal podem ser estabilizadas em baixas temperaturas usando aditivos como óxidos de magnésio, cério, ítrio e cálcio. Dependendo da concentração de aditivos, este processo pode produzir zircônia tetragonal policristalina (TZP), zircônia totalmente estabilizada (FSZ, geralmente em fase cúbica) e zircônia parcialmente estabilizada (PSZ), na qual partículas tetragonais metaestáveis finas são dispersas em uma matriz cúbica (Yoshimura *et al.*, 2007).

Dentre as diferentes formas modificadas, a cerâmica de zircônia tetragonal policristalina estabilizada com ítria (Y-TZP) se destaca por exibir grãos finos e baixa porosidade. Esses fatores possibilitam a obtenção de materiais com elevada resistência à flexão, tenacidade e resistência à erosão e ao desgaste, que podem ser utilizados com sucesso em aplicações que suportam tensões mecânicas (Yoshimura *et al.*, 2007).

Comparada com a alumina, esta cerâmica apresenta menor dureza e menor módulo de elasticidade. A principal aplicação da zircônia é como material alternativo à alumina, utilizado na fabricação de cabeças femorais em próteses do quadril, próteses da articulação do joelho e do ombro, e materiais odontológicos (Piconi; Maccauro, 1999). Há também um interesse crescente no uso combinado de zircônia e alumina para obter dispositivos com características mecânicas e de degradação adequadas à aplicação desejada (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

#### 2.2.3.3 Hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HA) é um mineral natural localizado no osso, que corresponde de 30 a 70% da massa oriunda dos ossos e dentes; por isso diz-se que ela é um dos principais integrantes do osso. E, por esta razão, é bastante utilizada e estudada na medicina, sendo um dos biomateriais mais importantes, o que a torna oportuna e conveniente para aplicações biológicas (Ferreira *et al.*, 2017).

Por volta da década de 1960/1970, quando prevalecia a busca por melhor biocompatibilidade dos materiais de implantes, surgiu um novo conceito de materiais biocerâmicos mais semelhantes ao tecido ósseo natural. Nesse sentido, a hidroxiapatita, composta por minerais cerâmicos naturais, também era considerada parte mineral do osso. Portanto, a hidroxiapatita sintética era considerada o único material totalmente compatível com o corpo humano (Nair; Laurencin, 2007).

Como biomaterial, a HA apresenta vantagem como a rápida adaptação óssea, sem formação de tecido fibroso, reduzido tempo de cicatrização e íntima adesão implante/tecido. As limitações desse composto estão relacionadas à sua lenta biodegradação, que ocorre gradativamente por mecanismos celulares 4 a 5 anos após o implante. Esse comportamento pode ser atribuído à razão molar Ca/P de 1,67, que torna a HA aproximadamente quase insolúvel em meios neutros (Shi *et al.*, 2021; Aparecida *et al.*, 2007).

A hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) está entre os fosfatos de cálcio mais divulgados. Para a aplicação como *scaffolds* na área de engenharia tecidual, a hidroxiapatita e o fosfato—tricálcico (TPC) nas formas polimórficas  $\alpha$  e  $\beta$  ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), estão em constante pesquisa. No entanto, como o TCP se degrada mais rápido que a HA (ele é afetado por mecanismos celulares e químicos) é mais difícil prever e controlar sua taxa de degradação. Portanto, o uso do TCP e da HA juntos tornou-se uma alternativa viável para aumentar a velocidade de absorção da HA. Nestes casos, a velocidade de dissolução da mistura HA/TCP é controlada pela quantidade de TCP usado (Aparecida *et al.*, 2007).

A busca por materiais mais parecidos e capazes de criar e produzir hidroxiapatita sintética, idêntica ao composto mineral do osso, se faz necessário a fim de possibilitar uma regeneração óssea eficiente e adequada, no intuito da diminuição dos riscos de rejeição de processos inflamatórios no organismo (Fihri *et al.*, 2017).

Sendo assim, a hidroxiapatita demonstra possibilidade de regeneração óssea, tendo em vista as propriedades que capacita e possibilita sua utilização como substitutos ósseos (Costa *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2017). A hidroxiapatita possui propriedade de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna bastante indicada para o uso na regeneração óssea.

#### 2.2.3.4 Fosfatos

A partir da década de 50, surgiram os primeiros tipos de cerâmicas de fosfato de cálcio (Ferreira *et al.*, 2017; Suárez *et al.*, 2020). O vidro bioativo e o fosfato de cálcio são considerados biomateriais de preenchimento, arcabouços e ainda substitutos para os enxertos ósseos. Além disso, o vidro bioativo fosfatado é mais favorável e benéfico em termos de qualidade da combinação química com o tecido ósseo, não causando interferência e intervenção no tecido, estimulando a regeneração (Gutierrez *et al.*, 2005).

Vale lembrar que os vidros bioativos fosfatados são compostos principalmente por sílica, cálcio, sódio e fósforo, o que os torna mais fácil de fundir e quimicamente mais instáveis que o silicato, o que favorece a sua biodegradação e bioabsorção (Araujo *et al.*, 2021; Ribas *et al.*, 2019).

Desta forma, dada a sua semelhança com o tecido ósseo, o fosfato de cálcio é o mais utilizado para substituir o osso (Whited *et al.*, 2006).

As cerâmicas de fosfato de cálcio se destacam na área médica e odontológica pelo uso na regeneração óssea; também podem ser utilizadas como revestimento bioativo em implantes metálicos (Asri *et al.*, 2017; Schatkoski *et al.*, 2021). Os fosfatos de cálcio têm sido amplamente estudados e usados em aplicações que abrangem todo o sistema esquelético, como reconstruções crânio-maxilofacial e tratamento de defeitos ósseos (Busuioc *et al.*, 2016; Guastaldi; Aparecida, 2010).

Cerâmicas de fosfato de cálcio porosa podem até ser usadas como um suporte útil para a entrega de diferentes compostos nelas contidos, tais como hormônios, vacinas, antibióticos e drogas com atividade anticâncer, incluindo compostos radioativos e cisplatina (Paul; Sharma, 2003).

As principais limitações do uso de fosfatos de cálcio provêm do fato de serem muito quebradiços e com baixa resistência à fadiga. Portanto, os revestimentos densos ou porosos destas cerâmicas são frequentemente usados em implantes metálicos de sustentação para permitir a fixação biológica ou osseointegração.

Os fosfatos de cálcio são compostos basicamente por sais de ácido fosfórico ou ácido ortofosfórico e podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , em condições alcalinas ou ácidas. A

razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo (Ca/P) varia entre 0,5 e 2,0 e é frequentemente usada como uma forma de classificar diferentes fosfatos de cálcio. Compostos com maior razão Ca/P apresentam menor solubilidade em condições neutras e menor taxa de degradação (Guastaldi; Aparecida, 2010).

Os fosfatos tricálcicos (TCP) possuidores de Ca/P de 1,5 não são instáveis em solução aquosa e na presença de umidade, sendo reabsorvidos entre 6 a 15 semanas após a implantação, dependendo de alguns fatores, tais como porosidade, cristalinidade, pureza química e rugosidade superficial do biomaterial (Kawachi *et al.*, 2000).

As formas alotrópicas  $\alpha$  e  $\beta$ -TCP apresentam a mesma osteocondutividade, mas a fase  $\alpha$ -TCP tem maior bioatividade, o que é atribuído ao arranjo estrutural desta fase, permitindo que ocorra maior troca de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $(\text{PO}_4)^{3-}$  com o meio biológico (Hoppe; Güldal; Boccaccini, 2011).

#### 2.2.3.5 Vidros Bioativos

Os vidros bioativos denominados vidros bioativos são caracterizados por serem materiais sintéticos com alto teor de sílica, cálcio e fósforo, razão pela qual são bastante usados na ortopedia para a regeneração e restauração do tecido ósseo, desencadeando uma reação química (ligação tecido-biomaterial) após implantação no corpo humano (Hench, 1991).

O primeiro vidro bioativo foi desenvolvido em 1969 por Larry Hench, da Universidade da Flórida, nos Estados Unidos. Hench criou um material usando sílica como material hospedeiro (principal) e cálcio e fósforo para formar um vidro, que foi, posteriormente, denominado de vidro bioativo. O objetivo era descobrir um material capaz de regenerar ossos normais e estimular o crescimento de novos ossos entre as fraturas, os quais poderiam combinar e conectar fraturas e ossos quebrados (Hench, 2006), chamado de *Bioglass* 45S5; esse material, ainda em uso, se caracteriza por sua capacidade de promover uma rápida e durável ligação química com o tecido ósseo.

Desta forma, o vidro bioativo se manifestou com uma ligação rápida, forte e estável com o tecido do hospedeiro. Na década de 80, foi constatado e observado que os vidros bioativos poderiam ser usados na forma particular, instigando e impulsionando a osteogênese, levando assim ao que se entende

por regeneração de tecido (Hench, 2015). Posteriormente, foi descoberto também que os íons de dissolução dos vidros agiam como fatores de crescimento e assim forneciam sinais às células.

Por outro lado, o vidro bioativo pode promover e incentivar a regeneração do tecido ósseo com diferentes composições químicas e estimular o crescimento de novos tecidos, tornando-os extremamente úteis para a saúde e medicina regenerativa (Gerhardt; Boccaccini, 2010). A adição de novos íons na cristalização controlada do vidro bioativo e/ou obtenção de compósitos é capaz de reverter-se em melhor bioatividade, mostrando que a reação específica a cada componente do vidro desempenha um papel vital na formação do tecido.

Assim, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo*, os efeitos da angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) e da osteogênese (processo de formação e desenvolvimento ósseo) de íons tais como Si, B, Cu, Co e Sr liberados do vidro bioativo foram descobertos (Kirste *et al.*, 2017; Rabiee *et al.*, 2015).

No início da década de 1990, o processo sol-gel foi usado para preparar vidro bioativo pela primeira vez. Além disso, o vidro bioativo poroso pode ser preparado pela hidrólise e polimerização de hidróxidos metálicos, alcóxidos e/ou sais inorgânicos (Hench, 2015). Quando o corpo contém materiais chamados inertes, como silicone, polimetacrilato de metila, ouro, platina, dentre outros (Hench, 2015), uma fina camada fibrosa é formada ao redor do implante; portanto, é impossível conectar-se de forma mais adequada à junção entre o tecido receptor e o implante. Esta conexão é muito relevante para implantes inseridos e projetados para substituir partes do corpo que exerçam e realizam funções estruturais (Vieira *et al.*, 2017). Muitos materiais passaram a ser reconhecidos após atravessarem longo percurso, ou seja, passaram de inertes a compatíveis e, atualmente, tornando-se regenerativos (Menazea; Abdelghany, 2020).

Além do mais, tem sido usado para aplicações clínicas em cirurgia plástica e aplicações odontológicas desde 1985. Ao longo dos anos, muitos outros vidros de silicato, borato e fosfato foram propostos para aplicações biomédicas (Baino, 2018). O vidro bioativo também pode ser usado como um carreador para entrega local de íons selecionados e pode controlar funções celulares específicas. As cerâmicas de vidro bioativas pertencem aos materiais

bioativos caracterizados por osteocondução e osteoindução, respectivamente. O vidro bioativo Bioglass® 45S5 é composto por sistema quaternário do tipo  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , que ainda é considerado o modelo base para vidro bioativo, contendo 45% em massa de  $\text{SiO}_2$  e a proporção de  $\text{CaO}$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$  deve ser 5:1, a fim de que ocorra a combinação da interface com os ossos (Jones, 2015). Essa composição possui excelentes propriedades de interação com tecido vivo e osteoindução. As preparações contendo 52 a 60% em massa de  $\text{SiO}_2$  têm uma taxa mais lenta de ligação ao tecido ósseo. Mais de 60% de  $\text{SiO}_2$  não formará ligação com o tecido e o material apresenta e atinge conduta e desempenho inerte (Siqueira; Zanotto, 2011).

Ao ser implantado no corpo, uma camada de carbonato de hidroxiapatita bioativa é formada na superfície desse material, responsável pela interface forte de ligação com o tecido ósseo (Siqueira; Zanotto, 2011). A força de adesão interfacial resiste a um grande número de forças e ações mecânicas e, em muitos casos, é maior do que a resistência (força) coesiva do material de implante ou do tecido.

Desde que a interface seja fixa, o Bioglass® também pode interagir com o tecido conjuntivo (Siqueira; Zanotto, 2011). Recentemente, observou-se que a dissolução iônica de produtos de vidro bioativo (Si, Ca, P) estimula a expressão de diversos genes celulares osteoblásticos e a angiogênese *in vitro* e *in vivo* (Hoppe; Güldal; Boccaccini, 2011). A formação da camada de hidroxiapatita ocorre por um mecanismo químico com cinco estágios distintos. No primeiro estágio, os íons  $\text{Na}^+$  na superfície do vidro são rapidamente trocados pelos íons  $\text{H}^+$  e  $\text{H}_3\text{O}^+$  na solução. No segundo estágio, a sílica solúvel ( $\text{SiO}_2$ ) do vidro é liberada na forma de  $\text{Si(OH)}_4$  para a solução, tendo como consequência a ruptura das ligações siloxano ( $\text{Si-O-Si}$ ) e da formação de grupos silinol ( $\text{Si-OH}$ ) na interface. A terceira etapa é caracterizada pela policondensação dos grupos silanol, que formam uma camada porosa rica em sílica na superfície do material que já carece de cátions alcalinos e alcalino-terrosos.

No estágio seguinte, íons  $\text{Ca}^{2+}$  e grupos  $(\text{PO}_4)^{3-}$  migram da superfície para formar um filme rico em  $\text{CaO-P}_2\text{O}_6$ , que cresce em uma forma amorfa incorporando adicionalmente cálcio solúvel e fosfato em soluções fisiológicas. Na última etapa, o filme amorfo é cristalizado pela incorporação de íons  $\text{OH}^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  presentes na solução, dando origem à camada de hidroxiapatita

carbonatada. O tamanho dos cristais formados na superfície do vidro bioativo tende a ser de escala nanométrica, o que equivale à fase cristalina do osso (Hench; Roki; Fenn, 2014).

A capacidade do vidro bioativo de estimular o crescimento ósseo excede a dos implantes à base de hidroxiapatita. O índice de bioatividade relacionado com o tempo para que mais de 50% da superfície do biomaterial esteja aderida às células do tecido, é de 12,5 para o Bioglass® 45S5 e o índice de bioatividade da hidroxiapatita é 3,1 (Hench; Roki; Fenn, 2014). Portanto, enquanto o índice de bioatividade do Bioglass® 45S5 levaria cerca de 8 dias para 50% da superfície aderir às células do tecido, se usado nas mesmas condições, o HA levará cerca de 32 dias.

As aplicações mais comuns de vidros bioativos incluem reparo e regeneração óssea, incluindo ortopedia, doença periodontal, reconstrução maxilofacial, cirurgia de coluna vertebral e reconstrução otorrinolaringológica (Hench; Roki; Fenn, 2014). As limitações deste composto são sua baixa resistência mecânica, especialmente sua resistência à fratura, e da limitada usabilidade (Siqueira; Zanotto, 2011). Foi analisado que a produção de vitrocerâmicas compostas por ingredientes semelhantes ao *Bioglass® 45S5*, com a microestrutura controlada, vem sendo constantemente examinados e averiguados, objetivando ajustar e combinar as excelentes propriedades mecânicas das vitrocerâmicas e a excelente bioatividade dos vidros bioativos. Esse novo material, denominado Biosilicato®, tem cristalinidade próxima a 100%, alta bioatividade e módulo de elasticidade mais próximo ao do osso cortical. Na forma de partículas, esse material não possui arestas cortantes e seu maior potencial de uso é no tratamento da hipersensibilidade dentinária. Na presença de fluidos bucais, quando esse material é depositado nos túbulos dentinários, o material pode iniciar a formação da HA e causar sua obstrução (oclusão) por meio de ligações químicas com o material (Siqueira; Zanotto, 2011).

#### 2.2.3.6 Uma comparação dos sistemas

Tendo em vista as suas propriedades, tais como boas resistências mecânica, química e à abrasão, alta dureza e tenacidade, baixa constante

dielétrica e expansão térmica, as vitrocerâmicas são utilizadas e empregadas em uma série de conjuntos de aplicações industriais (Souza *et al.*, 2018). Sendo assim, para o uso do vidro bioativo, é imprescindível a observação de condições essenciais. O Quadro 1 considera alguns sistemas vitrocerâmicos e que apresentam os elementos químicos presentes no sistema LZSA, e suas principais características para se realizar *drug delivery*.

## 2.3 PROPRIEDADES

### 2.3.1 Propriedades dos biomateriais metálicos

A classe dos metais destaca-se por apresentar excelente desempenho mecânico, como alta resistência à fadiga e à fratura, boa condutividade elétrica e possibilidade de polimento e abrasão da superfície, bem como a facilidade de esterilização (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

As propriedades dos metais são governadas basicamente pela sua estrutura em retículo cristalino e pela força das ligações. A alta densidade advém do agrupamento dos átomos em um padrão cristalino tridimensional, de forma ordenada e repetida. Os núcleos de íons carregados positivamente ficam imersos em uma nuvem de elétrons, que podem movimentar-se livremente, sendo responsáveis pela boa condutividade térmica e elétrica dos metais.

A resistência à tração é consequência da intensidade das ligações metálicas e a deformação plástica ocorre devido às ligações não-direcionadas, que permitem que a posição dos íons metálicos seja alterada sem destruir a estrutura cristalina.

Os metais nobres, como o ouro e a prata, não são suscetíveis a processos corrosivos. No entanto, outros de seus atributos, tais como a alta densidade, resistência insuficiente e o alto custo inviabilizam as aplicações ortopédicas destes.

De forma geral, a resistência à corrosão quando em contato com os sistemas biológicos, advém de uma fina película de óxido formada espontaneamente pela exposição da superfície metálica ao ar. Esta película, na forma de camada de passivação, impede a troca de íons, protegendo a superfície.

Quadro 1 – Sistemas de biovidros e vitroceramicos bioativos e suas características

<b>Sistema</b>	<b>Biocompatibilidade/ Bioatividade</b>	<b>Reabsorvidade</b>	<b>Porosidade</b>	<b>Referência</b>
45S5 ( <i>Bioglass</i> ) (SiO <sub>2</sub> -CaO-Na <sub>2</sub> O-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	Biocompatível e Bioativo	Caráter reabsorvível	Poros de até 100 µm	Hench (2006)
LAS (Li <sub>2</sub> O-Al <sub>2</sub> O-SiO <sub>2</sub> )	Bioativo	Não há relatos dessa característica estudada anteriormente na literatura	65 vol%	Zocca <i>et al.</i> (2013)
LZS (Li <sub>2</sub> O-ZrO <sub>2</sub> -SiO <sub>2</sub> )	Bioativo	Não há relatos dessa característica estudada anteriormente na literatura	> 10 vol%	Possolli <i>et al.</i> (2022)

Fonte: Autora, 2024

Alguns fatores, no entanto, podem comprometer a resistência à corrosão, como a falta de homogeneidade na microestrutura relacionada à variação na composição, deformação superficial, presença de impurezas, precipitados, segregações e inclusões. Assim, durante o processo de fabricação, visando melhorar a resistência à corrosão pelo fortalecimento da película protetora, os implantes podem ser submetidos a tratamentos e deposição adicional de óxidos em sua superfície.

As ligas de titânio são um tipo de biomaterial metálico, compostas de alumínio (Al), estanho (Sn) e zircônio (Zr). Como característica, possuem boa resistência à corrosão, mas sua resistência mecânica a baixas temperaturas é pequena e limitada.

Além do mais, devido à sua alta resistência ao impacto, os biomateriais metálicos são mais comumente usados em aplicações em que há uma maior pressão mecânica, como cirurgia de artroplastia total de quadril e joelho, fixação espinhal e construção de próteses ortopédicas (Afzal, 2014; Rinaldi *et al.*, 2015).

### **2.3.2 Propriedades dos biomateriais poliméricos**

Os biomateriais poliméricos são formados por macromoléculas orgânicas de origem sintética ou natural, na qual suas propriedades podem ser modificadas quimicamente. Os polímeros sintéticos biodegradáveis são usados na ortopedia como componentes protéticos permanentes, devido às diferenças na composição e disponibilidades esses materiais podem ser transformados em várias formas e estruturas de baixo custo (Nair; Laurencin, 2007).

Por outro lado, como consequência, ocorre degradação imprevista e descontrolada, e sua ação e desempenho visam afetar o processo inflamatório, contribuindo para a mudança de tamanho e redução das propriedades mecânicas do dispositivo (Nair; Laurencin, 2007).

Os principais polímeros utilizados para regeneração óssea são ácido poliglicólico (PGA), ácido polilático (PLA), ácido polihidroxibutirato (PHB) e policaprolactona (PCL). Dentre suas vantagens, destacam-se o fácil controle de síntese, fontes ilimitadas, imunidade à interferência celular, biodegradabilidade e biocompatibilidade. Como desvantagem apresentam baixa resistência mecânica e diminuição de tamanho com o tempo. A interação célula polímero é

controversa porque pode causar reações tóxicas locais ao liberar produtos ácidos de degradação. Estão indicados em cirurgia ortopédica e dispositivos para administração de drogas/fármaco (Fazil *et al.*, 2016; Vallet-Regí; Balas; Arcos, 2007).

### 2.3.3 Propriedades das biocerâmicas

As cerâmicas incluem uma grande variedade de compostos que tiveram papel essencial no desenvolvimento dos biomateriais. O vasto campo de aplicação se deve, em grande parte, às propriedades cristalográficas e a superior compatibilidade química das cerâmicas com o meio fisiológico e com tecidos rígidos, como ossos e dentes.

De forma geral, as cerâmicas são menos densas do que a maioria dos metais e suas ligas. Estes materiais apresentam boa estabilidade dimensional, são resistentes ao desgaste e à compressão e estáveis em ambientes ácidos. No entanto, as fortes ligações Inter atômicas formam estruturas cristalinas tridimensionais com alto grau de compactação, tornando-os duros, quebradiços e suscetíveis a fraturas, com pouca ou nenhuma deformação plástica. Além disso, são muito sensíveis à presença de rachaduras e outros defeitos, que podem agir como pontos de início de fraturas e contribuir para a ruptura precoce do material durante o uso. Devido a estes fatores, as cerâmicas são pouco indicadas para aplicações em regiões submetidas a tensões elevadas e que requeiram sustentação.

As biocerâmicas são bastante utilizadas na reposição e restauração do tecido ósseo, apresentando várias vantagens, dentre as quais a estrutura parecida com o elemento inorgânico do osso, além de não conterem proteínas em sua constituição, assegurando assim a falta de resultado imunológico, restringindo assim o perigo de rejeição pelo organismo.

A primeira geração de biocerâmicas desenvolvidas foi a zircônia ( $ZrO_2$ ) e a alumina ( $\alpha-Al_2O_3$ ). Meados dos anos 70 foram desenvolvidas biocerâmicas de alumina ( $Al_2O_3$ ), e a partir dos anos 80 a zircônia ( $ZrO_2$ ) ambas utilizadas na confecção de cabeças femorais de próteses modulares de artroplastia total de quadril (Schwartzmann *et al.*, 2012). Suas principais características são o caráter quase bioinerte e as boas propriedades mecânicas, principalmente a resistência

ao desgaste. A segunda geração de biocerâmicas, conhecida por seu comportamento bioativo, foi desenvolvida para integrar-se aos ossos sem induzir a formação de tecido fibroso, inflamação ou toxicidade. Destacam-se a hidroxiapatita, os cimentos à base de fosfato de cálcio (CPCs) e os vidros bioativos à base de sílica como representantes dessa geração. Sua alta reatividade beneficia aplicações no reparo periodontal e aumento ósseo, promovendo a formação de uma fase semelhante à apatita, favorecendo a osteocondução. Recentemente, vidro bioativos à base de sílica exibiram osteoindução, ativando genes para estimular a regeneração óssea, marcando a terceira geração de biocerâmicas, focada na regeneração em vez de substituição do tecido ósseo (Arcos; Vallet-Regí, 2013).

Os vidros bioativos demonstram boa compatibilidade e resistência à corrosão e à compressão. Por outro lado, apresentam pouca resistência mecânica, alta densidade e baixa resistência à fratura. Neste sentido, vêm sendo utilizados suportes de polímeros biodegradáveis, tendo em vista possuírem boa compatibilidade mecânica como a hidroxiapatita (HA), estabelecendo e atribuindo assim uma resistência mecânica superior. Dessa forma, o desempenho desses compósitos se destaca em regiões onde há maior tensão e deformação do material (Frazão *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2010).

Para um material ser usado como biomaterial, se faz necessário que apresente propriedades relacionadas com a função exclusiva do implante, ou seja, mecânicas no caso do sistema ósseo. Não obstante, deve levar em conta o efeito do ambiente orgânico (corrosão e degradação), bem como o efeito do material no organismo, tendo em vista a característica da biocompatibilidade dos biomateriais (Silva Junior; Oréfice, 2001).

A tecnologia de fabricação de vidro bioativo inclui métodos tradicionais de fusão e técnicas sol-gel. A característica comum a todos os vidros bioativos, seja vidros derivados de fusão ou sol-gel, é a capacidade de interagir com tecidos vivos, especialmente a formação de fortes ligações com os ossos, o que é comumente referido como atividade biológica. Portanto, as propriedades de ósseo-integração do vidro bioativo são baseadas na reatividade química, resultando na formação de uma camada de apatita de hidroxicarbonato (HCA) no osso. Posteriormente, outras aplicações clínicas do vidro bioativo foram

propostas, como na periodontologia ou como revestimento para implantes metálicos ortopédicos (Gerhardt; Boccaccini, 2010).

## 2.4 APLICAÇÕES E USOS DOS BIOMATERIAIS

### 2.4.1 Metálicos

Os biomateriais metálicos, dentre eles os metais, vêm sendo bastante usados como componentes estruturais, objetivando a substituição, reforço ou estabilização de tecidos duros frequentemente sujeitos a altas cargas de tração e compressão. Neste âmbito, as aplicações mais comuns incluem fios, parafusos e placas para fixação de fraturas, implantes dentários e próteses para substituição de articulações (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015). Assim sendo, uma liga formada principalmente de ferro, incluindo uma pequena quantidade de carbono, cromo, níquel e molibdênio em sua formação é chamada de aço inoxidável, podendo ser utilizados como dispositivo de fixação de próteses (parafusos e placas) (Asri *et al.*, 2017).

Além dos componentes estruturais, os metais podem ser empregados na confecção de válvulas cardíacas artificiais e endopróteses expansíveis (*stents*), que requerem, além de resistência mecânica apropriada, durabilidade e possibilidade de visualização em imagens de raios X.

A boa condutividade elétrica tem favorecido a obtenção de dispositivos de estímulo neuromuscular, como os marca-passos cardíacos.

A grande versatilidade dos metais para o uso biomédico deve-se, também, à possibilidade de polimento e abrasão da superfície, bem como à facilidade de esterilização. Esta última característica torna-se responsável pela extensa aplicação dos metais em instrumentação cirúrgica (biomateriais de uso ultrarrápido), como tesouras, agulhas, fórceps, pinças e afastadores.

Além do mais, devido à sua alta resistência ao impacto, os biomateriais metálicos são mais comumente usados em aplicações em que há uma maior pressão mecânica, como cirurgia de artroplastia total de quadril e joelho, fixação espinhal e construção de próteses ortopédicas (Oliveira *et al.*, 2010).

A liga de titânio vem sendo frequentemente utilizada como prótese permanente e fixador de fratura; portanto, o titânio beneficia o processo de

ósseo-integração indispensável para implantes de longa duração (Ibrahim *et al.*, 2017).

As ligas à base de cobalto e cromo (Co-Cr) são amplamente utilizadas para a confecção de próteses ortopédicas para os joelhos, ombros e quadris, bem como na fixação de fratura (Asri *et al.*, 2017). As ligas à base de cobalto e cromo para aplicações como biomateriais estão associadas, principalmente, a próteses ortopédicas para joelho, ombro e quadril bem como a dispositivos de fixação de fraturas, implantes maxilo-faciais e dentários. Estas ligas são não-magnéticas, altamente resistentes ao desgaste, calor e à corrosão, possibilitando sua aplicação por longos períodos. A resistência ao desgaste das ligas Co-Cr supera a dos aços inoxidáveis e das ligas de titânio. As desvantagens destas ligas estão relacionadas à baixa plasticidade e dificuldade na usinabilidade (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

#### **2.4.2 Poliméricos**

Os biomateriais poliméricos são usados como modelos na engenharia tecidual para formar cartilagens, ligamentos, meniscos e discos intervertebrais em estruturas tridimensionais, especialmente polímeros sintéticos biodegradáveis (Navarro *et al.*, 2008). Além do mais, são usados em cirurgia ortopédica e dispositivos para administração de drogas ou fármacos (Navarro *et al.*, 2008).

Os biomateriais poliméricos são os mais utilizados na área médica para a confecção de próteses, ou seja, aparelhos de uso temporário que auxiliam em determinadas funções corporais (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

#### **2.4.3 Cerâmicos**

A cerâmica tem sido considerada bastante estudada por apresentar uma ampla variedade de possibilidades de uso, que pode ser o uso isolado de materiais, bem como o revestimento de próteses metálicas, podendo ser usada na regeneração ou substituição de parte de um tecido (Siqueira; Zanotto, 2011). Dessa forma, são bastante utilizadas na reposição e restauração do tecido ósseo. As aplicações dos biomateriais cerâmicos incluem a produção de

implantes e componentes ortopédicos para a reparação e regeneração do tecido ósseo por meio de óxidos, fosfatos, silicatos e carbonatos.

As aplicações abrangem as mais diversas áreas, como instrumentos de diagnóstico (termômetros, fibras endoscópicas), próteses ortopédicas, dispositivos de reconstrução dentária e maxilofacial, válvulas cardíacas, traqueia artificial e preenchedores ósseos.

As aplicações mais comuns dos vidros bioativos incluem o reparo e regeneração óssea, incluindo ortopedia, periodontia, reconstrução maxilo-facial, cirurgia da coluna vertebral e reconstruções otorrinolaringológicas (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

As cerâmicas à base de fosfato de cálcio são bastante utilizadas na medicina, seja como substitutos ósseos por meio de implantes e revestimentos, bem como em próteses dentárias e ortopédicas. Ainda, são usadas em aplicações biomédicas em substituições de quadris, joelhos e dentes, servindo também como restauração de doenças periodontais, reconstrução maxilofacial, aumento e estabilização do osso maxilar, fusão espinhal e preenchimento ósseo após cirurgia de tumor. Devido às suas semelhanças químicas e estruturais com a fase inorgânica do osso humano, a hidroxiapatita (HA) e outros fosfatos de cálcio, como  $\alpha$  ou  $\beta$ -fosfato tricálcico ( $\alpha$  ou  $\beta$ -TCP) apresentam excelente biocompatibilidade (Gerhardt; Boccaccini, 2010).

As biocerâmicas à base de fosfato são amplamente usadas na biomedicina. O fosfato de cálcio (FCs) é uma das biocerâmicas dopadas mais estudadas, utilizada para sintetizar substitutos ósseos em odontologia e cirurgia ortopédica. Embora existam vários FCs de interesse para aplicações clínicas, o mais utilizado é o HAp, pois sua composição química é semelhante a da apatita biológica. No entanto, a fim de superar o problema de baixa taxa de absorção no corpo, vários íons (como  $Mg^{+2}$  e  $Sr^{+2}$ ) são dopados na estrutura do HAp (Teixeira; De Moraes; De Oliveira, 2022).

O fosfato tricálcico (TCP) é mais facilmente absorvido do que a hidroxiapatita e exibe alta biocompatibilidade quando implantado no osso. Outra aplicação importante do TCP é o revestimento de superfície de biomateriais metálicos para melhorar as reações *in vivo* (Schatkoski *et al.*, 2021).

#### 2.4.4 Compósitos

O compósito é um tipo de material composto por uma fase contínua (matriz) e uma fase dispersa (componente de reforço ou modificador) separados por uma interface, e suas características podem integrar o desempenho abrangente de cada componente. Materiais de reforço ou modificadores podem ser usados na forma de fibras ou partículas e adicionados para vários fins, como melhorar as propriedades mecânicas, aumentar a taxa de degradação, melhorar a biocompatibilidade e a atividade biológica, ou mesmo controlar o perfil de entrega de drogas ou fatores de crescimento (Cao; Wang, 2009).

Os principais fatores que afetam o desempenho dos materiais compósitos são as características dos materiais constituintes, o teor, a distribuição e orientação das fibras ou partículas na matriz e as interações da interface (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015). A formação de biomateriais compostos pode ocorrer de diferentes maneiras, as principais associações são os tipos polímero-cerâmica e metal-cerâmica (Dee, 2002; Notes, 2020).

Nos biomateriais poliméricos utilizados para implantes ósseos, a adição de partículas de vidro bioativo, hidroxiapatita e outros fosfatos de cálcio visa aumentar a biocompatibilidade e o módulo de elasticidade da matriz. Desta forma, as propriedades mecânicas do material compósito tornam-se mais próximas das propriedades mecânicas do osso, o que ajuda a reduzir o fenômeno de proteção contra tensões, *stress-shielding* (Jones, 2015).

*Scaffolds* usados para engenharia tecidual geralmente associam a biodegradabilidade, propriedades mecânicas e facilidade de processamento de certos polímeros (como PLLA, PLGA e PCL) com a osteocondutividade e adsorção de proteína de cerâmicas de fosfato de cálcio. A adição de maiores quantidades de partículas de cerâmica pode ainda aumentar o grau de reticulação das cadeias poliméricas, auxiliando no controle da entrega de agentes ativos (Scaffaro *et al.*, 2017). Também em materiais de *scaffolds*, a combinação de cerâmicas de fosfato de cálcio e proteínas (como gelatina e colágeno) resulta em compostos orgânicos e inorgânicos com propriedades físicas, mecânicas e biológicas semelhantes aos ossos humanos (Hench, 2015).

A quitosana pode ser combinada com cimento de fosfato de cálcio para melhorar a coesão *in vivo* e o desempenho da injeção. Às vezes, polímeros

naturais são usados para fortalecer mecanicamente o cimento para formar uma microestrutura compacta. Nestes materiais, as características de degradação e porosidade também podem ser alteradas pela adição de microesferas de polímero que se degradam no corpo (como o PLGA) (Lopes *et al.*, 2005).

A combinação de vidros bioativos e materiais poliméricos (como álcool polivinílico (PVA), PMMA, quitosana e até mesmo colágeno) pode minimizar os problemas relacionados aos baixos valores das propriedades mecânicas e limitada processabilidade dessas matrizes. Para aumentar a resistência à fratura do cálcio, por exemplo, matriz de fosfato, vidro bioativo e cerâmica de vidro, fibras e partículas de metal, como titânio ou aço inoxidável, podem ser usados como materiais de reforço (Cao; Wang, 2009).

Em implantes metálicos ortopédicos e dentários, o fosfato de cálcio (principalmente hidroxiapatita) tem sido usado como revestimento para obter um microambiente condutor para a formação e crescimento ósseo na superfície do implante e para promover sua estabilidade (Ferreira *et al.*, 2017). Diversas técnicas de tratamento de superfície foram propostas e utilizadas comercialmente, tais como pulverização de plasma ou pulverização térmica, sol-gel, deposição eletrolítica e métodos de revestimento biomimético, que incluem a imersão do implante a ser revestido e contendo plasma de vidro ativo biológico semelhante à solução para formar uma camada de hidroxiapatita na superfície carbonatada (Guastaldi; Aparecida, 2010).

Embora a maioria das aplicações de compostos metálicos seja baseada em propriedades mecânicas, por exemplo, a prata tem mostrado seu potencial efeito antibacteriano porque pode lutar com eficácia contra uma variedade de bactérias, fungos, protozoários e vírus (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015). Esse metal é utilizado principalmente na forma de micropartículas e nanopartículas incorporadas em materiais poliméricos para prevenir infecções cutâneas (Costa *et al.*, 2015).

Em equipamentos como cateteres, a prata pode prevenir a colonização bacteriana durante o uso (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015). Em geral, os materiais compósitos possuem grande potencial de aplicação como materiais biológicos, e estão sendo continuamente pesquisados e desenvolvidos, pois podem ajustar propriedades mecânicas e biológicas de acordo com diferentes situações clínicas específicas.

## 2.5 SCAFFOLDS

O osso é um tecido vascular muito importante para o desenvolvimento completo e global do corpo, sendo uma reserva de minerais como cálcio e fósforo. Ele também tem a função de suporte, proteção de órgãos e funções endócrinas. Além das propriedades mecânicas básicas usadas para desenvolver suas funções, o tecido ósseo também tem uma forte capacidade de regeneração. Assim, de acordo com a pressão exercida durante o seu desenvolvimento, é considerado um tecido dinâmico em constante remodelação e regeneração (Sanz, 2017).

Existe mais de 200 tipos de ossos humanos, cada um dos quais com sua própria morfologia, podendo variar de ossos mais longos (como a tíbia) a ossos menores (como a falange). Também podem ser diversificados por meio de suas irregularidades, assim como vértebras. Existem duas formas principais de tecido ósseo, o denso (ou cortical) e o esponjoso (ou trabecular), e diferentes capacidades de resistência (Mallorie; Shine, 2022; Wang *et al.*, 2023).

A matriz extracelular óssea é composta basicamente por compostos orgânicos não mineralizados e compostos inorgânicos mineralizados (Caires *et al.*, 2017). Sendo assim, o tecido ósseo é dinâmico e em constante remodelação, necessitando essencialmente, para que esse processo aconteça, um suporte mecânico adequado e amplo suprimento vascular.

Por outro lado, o potencial de regeneração e recuperação do tecido ósseo é superior aos outros tecidos, tendo em vista que o tecido restaura suas características originais, mantendo assim sua qualidade. A principal função do tecido ósseo é apoiar, construir e proteger o corpo e outros órgãos internos. Sendo assim, é considerado um tecido conjuntivo rígido, haja vista sua capacidade de conectar os tecidos entre si e apoiar a estrutura do corpo (Clarke; Khosla, 2010; Ralston, 2021).

Sua rigidez está relacionada às propriedades mecânicas do tecido ósseo. Portanto, com o desenvolvimento gradativo e progressivo da medicina, é cada vez mais necessário a busca por materiais que apresentem características satisfatórias, principalmente visando reduzir o risco de infecção e rejeição associado ao ambiente de inserção (Guastaldi; Aparecida, 2010).

Os *scaffolds*, por sua vez, são geralmente formados por cerâmica ou pela combinação de polímeros e cerâmicas, tais como fosfato de cálcio, hidroxiapatita e vidro bioativo (Jesus *et al.*, 2020), sendo comumente denominados como arcabouços, ou seja, constituídos de estruturas tridimensionais e porosas fornecendo perfil biologicamente compatível e biomecânico, possibilitando a organização e evolução das células no tempo em que a matriz extracelular é confeccionada e formada (Turnbull *et al.*, 2018).

Podem ser cultivados *in vivo* ou *in vitro*, de acordo com a aplicação e a forma de processamento. Sendo assim, quando implantados no corpo na forma *in vivo*, é necessário que esses *scaffolds* tenham a porosidade e a capacidade de entregar biomoléculas solúveis e insolúveis, orientando de forma funcional a regeneração de tecidos e órgãos defeituosos (Lanza; Langer; Vacanti, 2007).

Estudos da engenharia de tecido ósseo destacam que o desenvolvimento de *scaffolds* bioativos, visando a regeneração óssea, é um tópico bem procurado, haja vista que o osso é o segundo tecido mais transplantado no mundo (Chen; Mohn; Stark, 2011; Mirkhalaf *et al.*, 2023).

Sendo assim, para a aplicação em regeneração óssea, deseja-se obter *scaffolds* que observem as características apresentadas, conforme descritas no Quadro 2.

Pode-se verificar no Quadro 2 que uma das características mais importantes dos *scaffolds* é a porosidade, que visa equilibrar as suas características, a fim de garantir que o resultado seja o aceitável e viável.

O Quadro 3 dispõe sobre os processos biológicos visando a variação dos poros dos *scaffolds*.

Desta forma, além das vantagens de fornecer suporte mecânico, os *scaffolds* costumam ter propriedades de condução óssea, podendo ainda, ocasionalmente, ter propriedades osteoindutivas ou osteogênicas (Matsunaka; Frantz, 2021).

O Instituto de Pesquisa em Células-Tronco (IPCT) destaca a necessidade da medicina em direção à regeneração de tecidos e órgãos, atualmente predominantemente realizada por meio de transplantes. No entanto, essa abordagem depende da disponibilidade de doadores compatíveis, o que pode ser uma tarefa desafiadora. É fundamental notar que a distribuição uniforme de células nos *scaffolds* é crucial para garantir uma formação

homogênea do tecido a ser regenerado. Os *scaffolds*, comumente utilizados na engenharia tecidual, são biomateriais porosos que se integram a células de tecidos vivos, sendo implantados em diversos tecidos do organismo para substituir funções e estimular a regeneração tecidual. Olhando para o futuro da engenharia tecidual ósseos e cartilagosos, destaca-se a importância dos *scaffolds* injetáveis (Zhao *et al.*, 2022), uma abordagem que poderia revolucionar o reparo ósseo e superar os desafios associados à dependência de doadores compatíveis.

Por outro lado, um dos desafios mais significativos na engenharia de tecido ósseo ainda é a fabricação de *scaffolds* com propriedades mecânicas, estruturais e químicas, com superfícies topográficas e biológicas que sejam adequados para regenerar defeitos ósseos corticais grandes e que possam funcionar sob cargas relevantes.

Quadro 2 – Características indispensáveis dos *scaffolds*

<b>Características dos <i>scaffolds</i></b>	<b>Recursos desejáveis</b>
Biocompatibilidade	Capacidade de degradação em produtos não-tóxicos. Componentes não inflamatórios evitando rejeição imunológica do organismo. Degradação controlada do <i>scaffolds</i> que pode complementar o crescimento do tecido, mantendo suporte suficiente.
Biodegradabilidade	Degradável por processos enzimáticos e biológicos do hospedeiro. Permitir que as células hospedeiras invasoras produzam sua própria matriz extracelular.
Bioatividade	Materiais dos <i>scaffolds</i> devem interagir e se ligar ao tecido do hospedeiro. Propriedades osteocondutoras e osteoindutivas. Inclusão de sinais biológicos e fatores de crescimento para estimular o crescimento, fixação e diferenciação celular.
Arquitetura do <i>scaffolds</i>	Poros interconectados permitindo difusão e migração celular. Microporosidade para apresentar uma grande área de superfície para interações células x <i>scaffolds</i> . Macroporosidade para permitir a migração celular e vascularização. Tamanho de poro adaptado para abranger o tecido e células alvo. Porosidade suficiente para ajudar o crescimento celular sem prejudicar as propriedades mecânicas. Canais vasculares embutidos para melhorar a angiogênese <i>in vivo</i> .
Propriedades mecânicas	Resistência à compressão, elasticidade e fadiga comparável ao tecido do hospedeiro, permitindo que a mecanorregulação celular ocorra e a integridade estrutural permaneça <i>in vivo</i> . Facilitar o manuseio do <i>scaffold</i> no ambiente clínico para tratar defeitos ósseos de pacientes.

Fonte: Adaptado de Matsunaka e Frantz (2021) e Turnbull *et al.* (2018).

Quadro 3 - Processos biológicos visando a variação de poros dos *scaffolds*

<b>Dimensão dos poros (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Função biológica</b>
< 1	Interação com a proteína, responsável pela bioatividade
1-20	Adesão da célula e orientação do crescimento celular
100-1000	Crescimento celular e ósseo
>100	Forma e funcionalização do implante

Fonte: Adaptado de Matsunaka e Frantz (2021).

Portanto, para uma regeneração óssea bem-sucedida, vasos sanguíneos maduros são necessários para promover a função da estrutura artificial essencialmente inativa (Gerhardt; Boccaccini, 2010).

## 2.6 BIOMATERIAIS PARA A REGENERAÇÃO ÓSSEA

Entre os diversos materiais biológicos utilizados para reparar ou reconstruir partes e/ou funções do corpo, pode-se encontrar certos tipos de fosfato de cálcio, metais, cerâmicas, polímeros, plásticos, materiais compósitos, vidros e vitrocerâmicas. Cada um deles possui características próprias, o que os torna adequados para determinadas partes do corpo (Salinas; Vallet-Regí, 2007).

Durante décadas, os biomateriais têm sido usados para substituir a perda óssea. O vidro bioativo, criado inicialmente pelo professor Hench nos anos iniciais da década de 1970, representa um biomaterial composto por silicato, incluindo  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$  (Chen *et al.*, 2022). Quando implantado no organismo, interage com os fluidos biológicos circundantes, desencadeando processos bioquímicos e interações que podem levar à mineralização na superfície do material e à formação de uma camada de hidroxiapatita. A força de ligação na interface do HA pode atingir de três a quatro vezes a resistência do tecido ósseo, promovendo assim a integração óssea (Fu *et al.*, 2010). Devido à variedade de defeitos ósseos originados por osteoporose, traumas e infecções na prática clínica, por vezes torna-se desafiador obter um preenchimento

satisfatório utilizando partículas e estruturas de suporte à base de vidro bioativo (Zhao *et al.*, 2022).

Além disso, um grande desafio é desenvolver biomateriais que possam ser usados para regenerar tecidos ósseos individuais, visando a recuperação de doenças, como por exemplo “a osteoporose”, reduzindo o risco de fraturas (Navarro *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010).

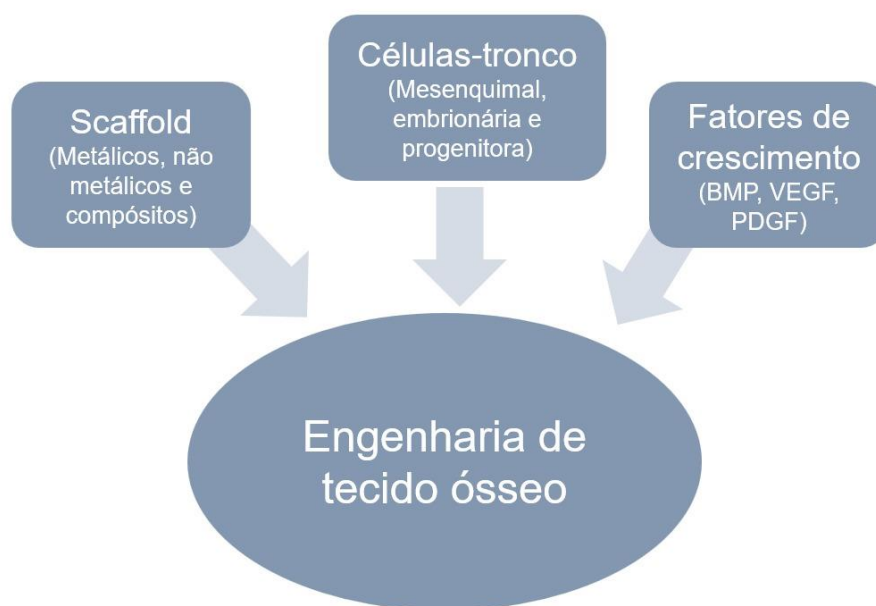
O processo de formação óssea natural é afetado pelo processo de cicatrização biomecânica. Além do mais, os ossos são tecidos funcionais que fornecem suporte estrutural e protegem órgãos vitais, armazenando minerais que ajudam o movimento multidirecional e suportam a carga do nosso corpo. As fraturas, nas quais a continuidade do tecido ósseo é destruída por trauma, ou seja, impacto de alta intensidade e tensão, são tratadas com o auxílio de implantes ósseos (Gautam; Kumar; Kumar, 2022).

A cicatrização óssea mostra a capacidade de se autorreparar; portanto, muitos tipos de pequenas fraturas cicatrizam involuntariamente, sem deixar cicatrizes. Quando os ossos no local da fratura se movem ligeiramente, ocorre a chamada consolidação óssea (Gautam; Kumar; Kumar, 2022).

As funções ósseas são mantidas ao longo do ciclo de vida pela reabsorção do osso, danificado e substituindo-o por um novo, sem que ocorra alteração em sua massa, visando atender as necessidades básicas de tratamento de defeitos ósseos. Desta forma, na engenharia tecidual compreendidas (estrutura, células semeadas e fatores de crescimento), representados pela Figura 4, são utilizadas para atender as necessidades básicas de tratamento de defeitos ósseos.

O processo da regeneração óssea se traduz como um processo difícil, profundo e complexo, definido e descrito como uma combinação de mecanismos celulares, incluindo dois processos essenciais, quais sejam osteogênese e neovascularização. Sendo assim, para que ocorra uma regeneração óssea com sucesso, é indispensável uma angiogênese propícia com fornecimento apropriado e pertinente de sangue no interior do *scaffolds* (Chen *et al.*, 2020).

Figura 4 - Fundamentos da Engenharia de Tecido Ósseo



Fonte: Adaptado de Schmidt *et al.* (2013).

Na angiogênese, o desenvolvimento de vasos sanguíneos maduros é essencial, pois permite a diferenciação adequada entre artérias e veias. Outra forma de acelerar a osteogênese e a angiogênese é adicionando biomoléculas ativas, como fatores de crescimento, à estrutura de suporte (Chen; Mohn; Stark, 2011).

A osteoporose é uma doença óssea progressiva, multifatorial e de evolução silenciosa, caracterizada por perda óssea e deterioração da microarquitetura óssea, cujo desfecho clínico mais importante é a ocorrência de fraturas por baixo impacto e que afeta mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo (Berriche *et al.*, 2017). Essas fraturas têm grande impacto na saúde pública, pois costuma estar associada à morbidade, mortalidade, perda de função e elevados custos econômicos (Kanis, 2002).

A osteoporose é a causa subjacente da degeneração vertebral, caracterizada pela redução na deposição de cálcio no osso vertebral e evidente perda óssea. Essa condição resulta na destruição da microestrutura óssea e na diminuição do módulo de elasticidade, ou seja, a osteoporose está afetando a capacidade do osso vertebral de se deformar e recuperar sua forma original, o que pode ser um indicativo da fragilidade óssea associada a essa condição. A

perda de módulo de elasticidade pode contribuir para a deterioração da microestrutura óssea e aumentar o risco de fraturas (Zhao *et al.*, 2022).

Por isso, é tida como “doença silenciosa”, haja vista que cresce e aumenta sem aparentar sintomas. Além do mais, as fraturas tendem a acontecer mais repetidamente nos ossos da coluna, costela, punho e quadril, não se descartando que aconteça em outros ossos do corpo (Cummings; Melton, 2002).

Para repor e reparar perdas ósseas ocasionadas por uma série de fatores, dentre eles a osteoporose, cirurgiões usavam auto enxertos, ou seja, material retirado do próprio indivíduo e, por isto, considerado ideal. Todavia apresentam e oferecem certas desvantagens e limitações como, por exemplo, a ocorrência de enfermidades no sítio doador, bem como reduzida parte do material sujeito a doação, muitas vezes considerado escasso (Oliveira *et al.*, 2010).

O substituto ósseo mais duradouro no que tange a regeneração óssea é o chamado autotransplante, que consiste na substituição e remoção de um tecido do próprio indivíduo e ser transferido para a área afetada. Este tipo de autotransplante tende a facilitar a não propagação de doenças infecciosas, bem como evita reações imunológicas (Clarke; Khosla, 2010; Ralston, 2021).

Na atualidade, existem vários biomateriais à disposição que podem ser usados em substituição aos tecidos ósseos. Não obstante, a engenharia tecidual e a medicina regenerativa tem por objetivo estabelecer a cura e regeneração dos tecidos de forma mais rápida e menos agressiva do que as usadas tradicionalmente. Desta forma, se faz necessário buscar materiais mais parecidos e capazes de criar e produzir hidroxiapatita sintética, idêntica ao integrante mineral do osso, a fim de possibilitar uma regeneração óssea eficiente e adequada, visando a diminuição dos riscos de rejeição e processos inflamatórios (Fihri *et al.*, 2017).

### **2.6.1 Medicamentos para a regeneração óssea utilizados no tratamento da osteoporose**

Foi a partir da década de 60 que os bifosfonatos (BPs) foram usados para tratar várias doenças ósseas metabólicas. No entanto, o uso propagado e difundido de bifosfonatos no tratamento da osteoporose começou em 1993,

quando a Organização Mundial de Saúde (OMS) utilizou a tecnologia de medição da densidade óssea por absorciometria de raios X de dupla energia (DEXA), no intuito de se estabelecer e definir o diagnóstico de osteoporose (Caires *et al.*, 2017; Luz *et al.*, 2017).

Os bisfosfonatos também podem ter um efeito positivo na prevenção primária da osteoporose pós-menopausa (Almeida *et al.*, 2020; Busuioc *et al.*, 2016).

Os bisfosfonatos são considerados terapia de primeira linha para a prevenção de fraturas osteoporóticas (Izquierdo; Oliveira; Weber, 2011). Esses medicamentos são estruturas semelhantes sintéticos de pirofosfatos inorgânicos, obtidos pela substituição do átomo de oxigênio por carbono (PCP), o que os torna resistentes à biodegradação, e pela adição de duas cadeias externas (R1 e R2), responsáveis pela geração e potência óssea (Fernandes; Leite; Lanças, 2005; Caires *et al.*, 2017). As cadeias R1 e R2 dos bifosfonatos são grupos laterais que determinam as características específicas de cada bifosfonato, como potência antirreabsortiva, espessura dos cristais ósseos e mecanismo de ação farmacológica (Oliveira *et al.*, 2021).

Essa estrutura química tem a propriedade de formar compostos com cátions bivalentes e apresenta grande afinidade por cristais de hidroxiapatita na superfície óssea, principalmente em locais de remodelação ativa. No ambiente ácido da reabsorção, os bisfosfonatos são liberados do osso e captados pelos osteoclastos, causando os efeitos da farnesil pirofosfato sintase, que é importante para a integridade de seu citoesqueleto e função celular. Isso resulta em perda de reabsorção de osteoclastos e apoptose potencial (Caires *et al.*, 2017).

Os BPs podem ser indicados a todos os pacientes com osteoporose em algum momento de sua doença. Em todos os demais pacientes, os BPs orais serão a droga de escolha, se não houver problemas que contraindiquem essa via, principalmente se a idade for inferior a 75 anos (Yu; Zhan, 2020).

Se for aconselhável evitar a via oral ou o paciente for mais velho, é preferível iniciar o tratamento com um agente antirreabsortivo injetável, caso em que também pode ser usado o ácido zoledrônico, com eficácia antifratura semelhante à sua alternativa, denosumabe (Macías; Martínez, 2022).

Dentre os medicamentos bisfosfonatos, destaca-se o alendronato de sódio, o risedronato de sódio e o ácido zoledrônico, tendo em vista sua importância e eficácia como medicamentos indicados para o uso na regeneração óssea, principalmente o tratamento da osteoporose. Assim sendo, de forma bastante sucinta, descreve-se a seguir algumas particularidades desses medicamentos.

O alendronato de sódio e o risedronato de sódio são medicamentos usados para prevenir fraturas em pacientes portadores de osteoporose. Ambos pertencem à classe dos bifosfonatos, que são drogas que ajudam a fortalecer os ossos e reduzir a perda óssea. Estudos populacionais foram realizados, confirmando o apoio e a eficácia do uso desses bifosfonatos (Cummings *et al.*, 2020; Li; Zhu; Liang, 2013; Ochiuz *et al.*, 2016; Vaculikova *et al.*, 2014). Um estudo clínico mostrou que o uso de alendronato de sódio aumentou a densidade mineral óssea (DMO) em relação ao risedronato de sódio em todos os ossos avaliados após 24 meses. No entanto, outro estudo não encontrou diferenças estatisticamente significativas entre o uso de alendronato de sódio e risedronato de sódio na prevenção primária de fraturas em pacientes com osteoporose (Macías; Martínez, 2022).

Um estudo em ratas com osteoporose causada por dexametasona mostrou que tanto o alendronato de sódio quanto o risedronato de sódio podem ajudar na reparação de fraturas tibiais (Reid *et al.*, 2008).

Os bifosfonatos são análogos do pirofosfato, com forte afinidade pelos ossos. O risedronato de sódio é um bifosfonato de piridinil, que induz remissão em pacientes com doença de Paget (crescimento ósseo anormal, ossos grandes, espessos e quebradiços). Ele é usado em condições ósseas como a doença óssea de Paget e osteoporose, inibindo a reabsorção óssea. O mecanismo exato de sua ação anti-reabsorção envolve a incorporação na matriz óssea e absorção pelos osteoclastos durante a reabsorção (Walash *et al.*, 2008).

O uso geralmente recomendado para o tratamento da osteoporose é um comprimido de alendronato de sódio de 70 mg semanalmente; para o risedronato de sódio, o uso é um comprimido de 150 mg ao mês.

O ácido zoledrônico se caracteriza por ser um bisfosfonato com maior potência anti-reabsortiva para o tratamento da osteoporose, sendo aprovado o seu uso em 2007. De lá para cá, tem sido um medicamento bastante usado para

a regeneração óssea. O ácido zoledrônico é administrado por via intravenosa e a dose e a frequência com que é recebido são determinados pelo médico. Em pacientes com câncer que foram disseminados para os ferimentos, o ácido zoledrônico é utilizado para prevenir complicações de metástase óssea, como dor óssea, fraturas de tórax e outras complicações (Radominski *et al.*, 2017).

Assim, opções de tratamento farmacológico (uso dos BFs) e não farmacológico foram amplamente desenvolvidas nas últimas duas décadas, a fim de aumentar a densidade mineral óssea (DMO), bem como para reduzir o risco de fraturas em pacientes com osteoporose, sendo que o tratamento não farmacológico geralmente é baseado em exercícios físicos e reabilitação, planejada especificamente para pacientes com osteoporose que podem preservar ou melhorar a DMO (Wang *et al.*, 2022).

Por outro lado, desponta como metodologia de tratamento de osso fraturado pela osteoporose, a técnica de injetar diretamente no osso *scaffolds* com medicamento, por meio de um procedimento cirúrgico específico. Primeiro, é necessário criar uma abertura no osso para permitir a injeção do medicamento. Em seguida, o medicamento é injetado sem interrupção usando uma seringa ou outro dispositivo de injeção. O uso de *scaffolds* pode ajudar a direcionar o medicamento para o local desejado e melhorar a eficácia do tratamento. No entanto, é importante lembrar que esse procedimento é invasivo, porém menos do que uma cirurgia convencional; a escolha da técnica mais adequada dependerá das características do paciente e do tipo de tratamento necessário (Hejbøl *et al.*, 2017).

## 2.7 ENTREGA DE MEDICAMENTOS – DRUG DELIVERY

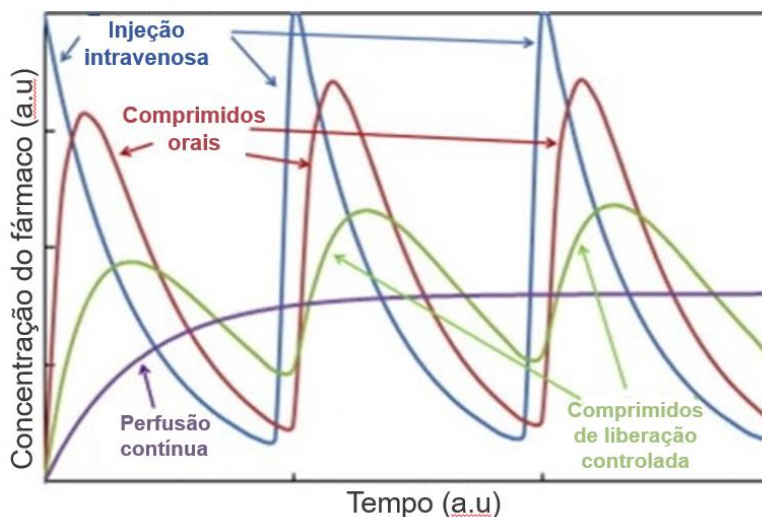
Os medicamentos são frequentemente utilizados na prevenção cura ou alívio de doenças, servindo também como agentes auxiliares para corrigir ou reparar as consequências de seu uso (ROSA *et al.*, 2023).

Sendo assim, os analgésicos, antibióticos, anti-inflamatórios, quimioterápicos e relaxantes musculares fazem parte de uma grande variedade de medicamentos, visando suas mais diversas finalidades e usos (Diaz-Rodriguez; Sánchez; Landim, 2018).

Portanto, é importante e necessário destacar a observação de três parâmetros essencialmente indispensáveis, ou seja: a dose a ser administrada, o tempo entre as doses e o tempo total de uso, pois qualquer modificação ou variação em um desses ou nos três parâmetros, pode trazer graves danos ao paciente. Sendo assim, não importa o sistema de aplicação, necessário se faz que o medicamento ingresse no sangue antes de atingir o tecido ou órgão alvo (Arcos; Greenspan; Vallet-Regí, 2003).

Além do mais, a aplicação do sistema de medicamentos é estendida a diversas áreas, tais como biomédica e farmacêutica, usados na administração de fármacos, vacinas, reposição hormonal suplementação nutricional, contracepção, dentre outros. Por outro lado, ainda existem estudos visando a aplicação em outras áreas (Gomes *et al.*, 2018). A Figura 5 apresenta um gráfico esquemático da concentração do medicamento *versus* tempo, para as formas mais comuns de administração do medicamento.

Figura 5 - Gráfico esquemático da concentração do medicamento versus tempo para as formas mais comuns de administração do medicamento



Fonte: Adaptado de Teixeira, De Moraes e De Oliveira (2022).

A entrega controlada de medicamentos é uma ferramenta importante para o aprimoramento das terapias atuais, sendo um campo que está em constante evolução, por isso é objeto de pesquisas na área de biomedicina.

Assim, um sistema de entrega de drogas (DDS) é uma formulação ou dispositivo que permite que uma substância terapêutica alcance o local do tecido alvo de maneira controlada, mantendo a concentração dentro da janela de tratamento.

Por outro lado, uma questão importante é a entrega ideal de moléculas terapêuticas ao local de ação de uma forma farmacêuticamente aceitável. Neste sentido, o sistema ideal de transporte ou veículo deve ser seguro, eficaz e fornecer tratamento de maneira direcionada e duradoura, sem comprometer a integridade fisiológica (Gupta; Majumdar; Krishnamurthy, 2021).

### **2.7.1 Entrega controlada de fármacos**

O desenvolvimento de dispositivos para entrega de drogas controlada, inclui a combinação de um material com uma droga terapêutica específica, para permitir que seja adequadamente liberado no corpo ou no local de tratamento (Lopes *et al.*, 2005).

As drogas/medicamentos de entrega controlada são projetadas para liberar ingredientes ativos no corpo por um longo tempo de maneira previsível. Os principais mecanismos para controlar a entrega do fármaco incluem complexação, incorporação de matriz e sistemas de armazenamento e revestimento. Portanto, os sistemas de armazenamento de revestimento são mais comumente usados para formas farmacêuticas (Heng, 2018).

A tecnologia de entrega controlada de medicamentos representa uma das fronteiras da ciência, envolvendo diferentes campos multidisciplinares, e pode promover o avanço da saúde humana. Lida com a entrega de princípios ativos independentemente de fatores externos e cinética perfeita (Vallet-Regí; Balas; Arcos, 2007; Vallet-Regí, 2010). Em comparação com os sistemas de entrega de medicamentos tradicionais, os sistemas de entrega geralmente descritos como *drug delivery systems* têm muitas vantagens. A literatura fornece muitas evidências nos seguintes aspectos (Heng, 2018; Luraghi; Peri; Moroni, 2021; Paul; Sharma, 2003):

- maior efeito terapêutico, com entrega gradual e controlada do fármaco;
- reduzir significativamente a toxicidade e estender o tempo de circulação;

- a diferente natureza e composição do portador, ao contrário do que se esperava, não traz as vantagens da instabilidade e do mecanismo de decomposição do fármaco (inativação biológica prematura);
- a administração é segura (sem reação inflamatória local) e conveniente (menor dose);
- para alvos específicos, não há imobilização óbvia de substâncias biologicamente ativas;
- ambas as substâncias hidrofílicas e lipofílicas podem ser adicionadas.

A formulação e disponibilidade de novos materiais precisam ser avançadas para alcançar o maior sucesso comercial de produtos de entrega controlada. Os sistemas de entrega de drogas implantáveis podem fornecer tratamento a longo prazo, especialmente para o gerenciamento de doenças crônicas ou terapia hormonal. Apesar da busca constante por inovação e aprimoramento, existem muitos sistemas de entrega controlada disponíveis hoje, que podem ser usados para fornecer a maioria dos medicamentos essenciais que requerem essa função (Heng, 2018).

Uma forma de transportar e entregar medicamentos é por meio de hidrogéis. As atrativas propriedades físicas dos hidrogéis, especialmente sua porosidade, têm grandes vantagens em aplicações de entrega de drogas. Nesse sentido, constitui um portador de medicamentos promissor, moderno e inteligente, que visa atender requisitos específicos, direcionando e controlando a entrega de medicamentos (Narayanaswamy; Torchilin, 2019). Deste modo, o hidrogel melhora significativamente o efeito terapêutico da entrega de medicamentos e tem sido amplamente utilizado na prática clínica (Hoare; Kohane, 2008).

Os Sistemas de Entrega Controlada (SLC) de fármacos visam direcionar o medicamento ao local específico no organismo, garantindo uma entrega gradual e mantendo sua concentração numa faixa terapêutica desejada no plasma. Em contraste com os métodos tradicionais de administração de fármacos, que podem ser limitados em eficácia e propensos a concentrações tóxicas elevadas, os SLC oferecem a vantagem de proporcionar um tratamento mais consistente, reduzindo a necessidade de doses frequentes para manter a

eficácia terapêutica. Isso contribui para otimizar o tratamento, promovendo maior segurança e eficácia ao longo do tempo (Pereira; Oliveira; Denadai, 2022).

A entrega de fármacos em *scaffolds* é um processo essencial em aplicações biomédicas, onde o *scaffold* atua como uma matriz que gradualmente libera medicamentos para o ambiente circundante. Esse fenômeno é crucial em contextos como engenharia tecidual, regeneração óssea, terapia de feridas e outras aplicações médicas.

A entrega de fármacos em *scaffolds* é uma estratégia poderosa para fornecer terapia localizada, minimizar efeitos adversos sistêmicos e promover uma regeneração específica do tecido (Dorati *et al.*, 2017). Essa abordagem tem amplas aplicações em medicina regenerativa, odontologia, ortopedia, entre outros campos da saúde. O processo de entrega de fármacos em *scaffolds* envolve vários aspectos, destacando-se:

- A incorporação do fármaco: o fármaco é incorporado no *scaffold* durante sua fabricação ou após a formação da estrutura. Isso pode ser feito por impregnação, revestimento ou outras técnicas (Fernandes; Correia, 2015);

- O controle de dosagem: a quantidade de fármaco liberada ao longo do tempo é crítica para assegurar a eficácia terapêutica sem causar efeitos colaterais indesejados;

- A cinética de entrega: a entrega do fármaco pode seguir diferentes perfis cinéticos, como entrega controlada, entrega lenta ou entrega pulsátil. Isso é projetado para otimizar a eficácia do tratamento (Bizerra; Silva, 2016).

A equação do modelo de ordem zero é linear; em se tratando de medicamentos, a cinética descreve uma entrega na qual a taxa não é afetada pela concentração do medicamento utilizado (Lopes *et al.*, 2005). Portanto, essa particularidade do modelo de ordem zero é fundamental para a compreensão da cinética de entrega de alguns medicamentos. Ao contrário de outros modelos, nos quais a taxa de entrega é proporcional à concentração restante do medicamento, no modelo de ordem zero, a taxa de entrega é constante ao longo do tempo. A equação a seguir representa o modelo matemático associado a essa cinética:

$$f_t = K_0 \cdot t \quad (\text{Equação 1})$$

onde  $f_t$  é a quantidade de medicamento liberada em um tempo  $t$  e  $K_0$  representa a constante de entrega do modelo de ordem zero (Lopes *et al.*, 2005).

A cinética de pseudo-primeira ordem é valiosa quando se trata de dissolução de sólidos em líquidos, pela facilidade da análise e interpretação dos dados experimentais. Nesse modelo, a taxa de dissolução é proporcional à quantidade de sólido não dissolvido, resultando em uma entrega que aumenta exponencialmente com o tempo. A forma do modelo de pseudo-primeira ordem pode ser expressa como:

$$x = X \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (\text{Equação 2})$$

onde  $x$  é a quantidade de medicamento liberado,  $X$  é a quantidade de medicamento no equilíbrio e  $k$  é a constante de taxa de adsorção de pseudo-primeira ordem (Yuh, 2004).

Da mesma forma, a cinética de pseudo-segunda ordem descreve uma entrega um pouco mais complexa, na qual a taxa de dissolução é influenciada pela concentração do sólido não dissolvido. Esse modelo pode ser útil em situações em que a dissolução é limitada pela difusão do medicamento para a superfície do *scaffold*. Embora mais complexa, a cinética de pseudo-segunda ordem pode fornecer informações importantes sobre os mecanismos subjacentes à dissolução dos fármacos. A expressão para a dissolução de pseudo-segunda ordem pode ser demonstrada por:

$$c_t = \frac{c_e^2 \cdot K_2 \cdot t}{1 + K_2 \cdot c_e \cdot t} \quad (\text{Equação 3})$$

onde  $c_t$  é a constante para dissolução de pseudo-segunda ordem,  $K_2$  é a constante do modelo e  $c_e$  é a concentração de medicamento no equilíbrio (Zheng *et al.*, 2019).

Os modelos de cinética de entrega de medicamentos são ferramentas interessantes para a compreensão do comportamento de sistemas de entrega,

desde formulações simples até dispositivos avançados de entrega controlada. Os modelos de regressão não linear como Higuchi (Higuchi, 1963) e Korsmeyer-Peppas (Wu *et al.*, 2019) são os dois modelos matemáticos mais aplicados para interpretar perfis de entrega não linear. Higuchi foi o primeiro a propor um modelo matemático empregado para descrever a entrega de medicamentos; esse modelo é expresso pela equação 4:

$$f_t = K_H \cdot t^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Equação 4})$$

onde  $f_t$  é a quantidade de medicamento liberado em um tempo  $t$  e  $K_H$  é a constante do modelo de Higuchi (Higuchi, 1963).

Após a descoberta de Higuchi, Korsmeyer *et al.* (1983) propuseram um modelo que foi utilizado de forma eficiente para analisar a cinética de entrega de medicamentos e lipossomos (Haghiralsadat *et al.*, 2018; Peppas; Narasimhan, 2014). O modelo ficou conhecido como Korsmeyer-Peppas e é descrito por:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K \cdot t^n \quad (\text{Equação 5})$$

onde  $M_t/M_\infty$  representa a relação mássica do fármaco liberado,  $K$  é a constante do modelo e  $n$  é o expoente de entrega.

Peppas-Sahlin (Peppas; Narasimhan, 2014) também propuseram um método para a curva de entrega de fármacos baseado em uma equação exponencial, que é descrita da seguinte forma:

$$\frac{M_t}{M_0} = K_d \cdot t^m + K_r \cdot t^{2m} \quad (\text{Equação 6})$$

onde  $M_t/M_0$  é a fração de medicamento liberado,  $K_d$  e  $K_r$  são constantes do modelo e  $m$  é o coeficiente do sistema. O primeiro termo,  $K_d \cdot t^m$  diz respeito à difusão de Fick (Colpo *et al.*, 2018). Em geral, modelos de entrega de fármacos possuem o termo  $n$ , que é ao mesmo tempo uma constante dos modelos que o utilizam, mas também uma característica de difusão Fickiana, que depende da geometria do material.

### 2.7.2 Biocerâmica e nanocerâmica para entrega de drogas

A inserção de biocerâmicas nas deformidades ósseas proporciona uma resposta estrutural e funcional para os ossos do paciente; portanto, as cerâmicas bioativas possuem muitas características e podem ser integradas em materiais ideais, visando enxertos ósseos e *scaffolds*. Além disso, os defeitos podem ser causados por fraturas osteoporóticas, remoção de tumor, ou qualquer outra doença que cause danos ósseos. Sendo assim, a aplicação de cerâmicas biocompatíveis, como sistemas de entrega de fármacos, é uma excelente alternativa, pois oferecem possibilidade de superação e tratamento dos problemas causados por lesões (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

A biocerâmica, notável por sua alta biocompatibilidade, tem sido eficaz no tratamento de defeitos ósseos e tecidos moles. O uso de fosfatos de cálcio e vidros bioativos destaca-se pelos efeitos biológicos positivos pós-implantação, tornando-os opções promissoras para administração de medicamentos. A inclusão de fármacos em biocerâmicas trata não apenas defeitos ósseos, mas também a doença responsável pela lesão tecidual. Estudos concentram-se em terapias como regeneração óssea em defeitos críticos, tratamento de infecções ósseas, consolidação de fraturas osteoporóticas e tratamento de tumores ósseos, abordando diversas causas para defeitos ósseos (Arcos; Vallet-Regí, 2013).

No campo dos implantes, devido à circulação sanguínea instável nesta área, o uso de biocerâmicas para reparar ou repor defeitos ósseos requer sempre o uso preventivo de antibióticos e anti-inflamatórios (Busuioc *et al.*, 2016). Além disso, outros tipos de drogas - como fatores de crescimento, drogas anticâncer, analgésicos, peptídeos e outras proteínas - também podem ser associados às biocerâmicas. São utilizados para acelerar a regeneração óssea ou auxiliar no combate a patologias pré-existentes (Kawachi *et al.*, 2000; Hench, 1991).

O método mais comum de incorporação de fármacos na matriz mesoporosa das biocerâmicas é o método de imersão, no qual a matriz cerâmica em pó ou compacta é imersa em uma solução de fármaco de concentração conhecida. Nessa fase, vários fatores precisam ser avaliados, como o pH da

solução, a temperatura, a natureza do solvente, a solubilidade e a polaridade do fármaco. O teste de entrega da substância da matriz porosa é realizado em solução salina tamponada com fosfato (PBS) (Vallet-Regí, 2010) ou fluido corporal simulado (SBF) (Liu *et al.*, 2019; Wetzel; Brauer, 2019). Usa a técnica espectroscópica mais adequada, geralmente espectrometria na região do UV-Vis, para determinar a concentração do fármaco liberada em função do tempo (Arcos; Greenspan; Vallet-Regí, 2003).

Sistemas de entrega de drogas usando fosfato de cálcio têm sido estudados em doenças ósseas. Vale ressaltar que cada sistema possui algumas peculiaridades, que dependem das propriedades físicas e químicas dos materiais biológicos e das interações (Díaz-Rodríguez; Sanchez; Landin, 2018; Zhou; Huang; Chen, 2020). Os métodos mais conhecidos de carregamento de drogas por meio de biocerâmicas de fosfato de cálcio são: alto vácuo, impregnação e formação de gel (Heng, 2018; Luraghi; Peri; Moroni, 2021; Paul; Sharma, 2003). A impregnação ocorre pela interação física ou química entre o material e o fármaco. O medicamento é imerso na solução e o material biológico é adicionado (Carvalho *et al.*, 2015). No alto vácuo, coloca-se drogas e materiais biológicos na solução e aplica-se alto vácuo até que o solvente seja removido (Yin *et al.*, 2009). Na formação do gel, o medicamento é adicionado antes de o gel ser formado, que é processado a uma temperatura abaixo da degradação do medicamento (Vallet-Regí; Balas; Arcos, 2007).

A fim de prevenir ou restaurar alguma perda óssea em pacientes, a pesquisa sobre terapia de sistema de administração de drogas tem sido continuamente fortalecida nos últimos anos. O sistema deve conter uma quantidade suficiente de substâncias ativas e ter um efeito de entrega lenta, de forma a atingir o efeito desejado no tratamento (Neamtu *et al.*, 2017).

### **2.7.3 Porosidade das biocerâmicas para entrega de drogas**

A engenharia tecidual óssea requer uma arquitetura adequada para a estrutura porosa. A presença de porosidade em dimensões apropriadas, juntamente com interconexões eficientes entre esses poros, cria um ambiente propício para facilitar a infiltração celular, migração, vascularização, fluxo de nutrientes e oxigênio, além de permitir a remoção de materiais residuais, ao

mesmo tempo em que é capaz de suportar tensões de carga externas (Limmahakhun *et al.*, 2017). A distribuição dos poros e a geometria da estrutura influenciam fortemente a capacidade das células de penetrar, proliferar e diferenciar, bem como a taxa de degradação da estrutura (Abbasi *et al.*, 2020).

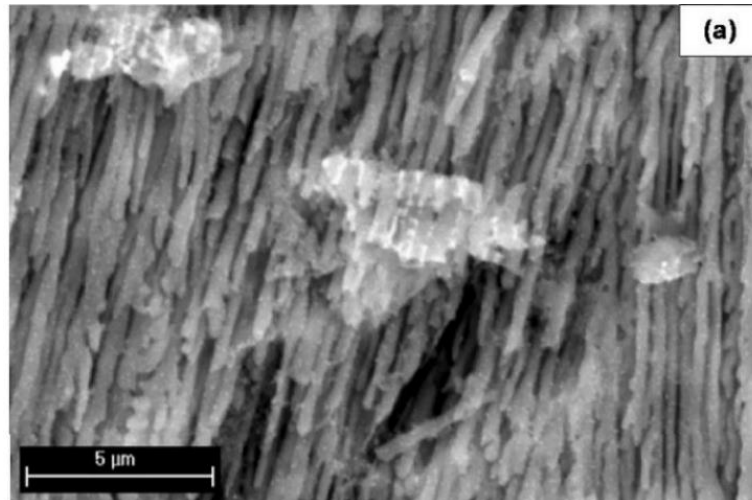
Os Materiais Mesoporosos de Sílica aplicados na administração de medicamentos, são estruturas porosas organizadas feitas de SiO<sub>2</sub>, conhecidas por terem muitos poros, distribuição de tamanho de poros estreita e grande área superficial. A síntese desses materiais ocorre pela automontagem de compósitos sílica-surfactante, nos quais as espécies inorgânicas (precursores de sílica) se condensam simultaneamente, resultando na formação de compósitos ordenados em escala mesoscópica (Arcos; Vallet-Regí, 2013).

Nas últimas décadas, as biocerâmicas de fosfato de cálcio e o vidro à base de sílica têm sido utilizadas como soluções de sucesso para o tratamento de defeitos ósseos e por isso são consideradas as mais promissoras e interessantes dos últimos 40 anos, tendo em vista os efeitos biológicos positivos depois de implantadas. Ambos podem ser preparados por diferentes rotas sintéticas, como método de alta temperatura, método de precipitação controlada e método sol-gel. A forma final do material pode ser em pó, grânulos, peças densas, revestimentos e *scaffolds* porosos, proporcionando assim um amplo leque de opções para cada caso clínico específico (Teixeira; De Moraes; De Oliveira, 2022).

A porosidade de vitrocerâmicos, depende do mecanismo de cristalização e das condições de tratamento térmico, dentre outros aspectos, assume papel importante para a inoculação do medicamento. Neste sistema vitrocerâmico a cristalização é do tipo superficial, isto é, os cristais crescem em forma de colunas a partir da superfície em direção ao centro, circundados pela fase vítrea residual e que pode ser dissolvida por meio de uma lavagem com ácido fluorídrico, uma estrutura altamente porosa pode ser produzida, conforme observado por Montedo *et al.* (2021).

A Figura 6 mostra a microestrutura do vitrocerâmico do sistema LZSA após tratamento térmico a 900 °C por 30 min, destacando a morfologia colunar formada na cristalização.

Figura 6 - Microestrutura do vitrocerâmico do sistema LZSA após tratamento térmico a 900 °C por 30 min



Fonte: Montedo *et al.* (2021).

Conforme mostrado na Figura 6, a porosidade é formada no entorno dos cristais colunares oriundos da cristalização vítrea, em contrapartida, a cristalização da zircônia impede essas microestruturas porosas de aparecerem fazendo uma espécie de bloqueio que obstrui os poros. Sabendo que a cristalização da zircônia é prejudicial para a formação dos *scaffolds* e que ela começa a partir de 750 °C, a escolha das temperaturas de cristalização manteve-se abaixo dessa linha de base.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Frita vitrocerâmica

O vitrocerâmico do sistema LZSA ( $\text{Li}_2\text{O}\cdot\text{ZrO}_2\cdot\text{SiO}_2\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$ ) utilizado nesse trabalho foi desenvolvido por Montedo (2005). Na obtenção desse material, o processo empregado envolveu basicamente a fusão do vidro e, posteriormente, seu resfriamento em água para a obtenção de uma frita. A frita precursora de composição molar aproximada  $14,6\text{Li}_2\text{O}\cdot 8,6\text{ZrO}_2\cdot 67,3\text{SiO}_2\cdot 9,5\text{Al}_2\text{O}_3$  foi preparada a partir de quantidades apropriadas de carbonato de lítio ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ), silicato de zircônio ( $\text{ZrSiO}_4$ ), quartzo ( $\text{SiO}_2$ ) e espodumênio ( $\text{LiAl}(\text{Si}_2\text{O}_6)$ ) como matérias-primas. A composição química final da frita do sistema LZSA foi determinada por Fluorescência de raios X (Philips, PW 2400, Philips, Holanda) e espectroscopia de absorção atômica (Unican, 969, Reino Unido), conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química da frita do sistema LZSA.

	<b>SiO<sub>2</sub></b>	<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>ZrO<sub>2</sub></b>	<b>Li<sub>2</sub>O</b>	<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>MgO</b>	<b>CaO</b>
<b>Massa%</b>	59,7	14,2	15,6	6,5	0,1	0,2	0,3
<b>mol%</b>	67,3	9,5	8,6	14,6			
	<b>Na<sub>2</sub>O</b>	<b>K<sub>2</sub>O</b>	<b>BaO</b>	<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	<b>ZnO</b>	<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>P.F.</b>
<b>Massa%</b>	0,8	0,2	0,5	0,3	1,1	0,2	0,2

P.F.: Perda ao Fogo. Fonte: Autora, 2024.

##### 3.1.2 Reagentes para tratamento químico

O ácido fluorídrico (Sigma-Aldrich, 48%) e o ácido clorídrico (Hexis, 37%) foram empregados para o tratamento químico do vitrocerâmico. Ambos foram diluídos em água destilada para atingirem concentração de 6% em volume. Para lavagem do material após a imersão em ácido, foram empregados água destilada, hidróxido de amônio (Synth, 24% de pureza, 6% em volume) e uma

solução supersaturada de carbonato de cálcio; o  $\text{CaCO}_3$  em pó (Synth, 99%) foi misturado com água destilada até se obter uma solução superconcentrada, filtrado e agitado para homogeneização da solução.

### 3.1.3 Fluido corporal simulado (SBF)

O SBF (Fluido Corporal Simulado) é uma solução com concentração iônica semelhante ao do plasma sanguíneo, que deve ser mantida sob as mesmas condições fisiológicas do corpo humano (pH de 7,4 e temperatura de 36,5 °C). A solução de SBF foi preparada conforme a norma ISO/FDIS 23317 (2007). A solução é preparada misturando-se concentrações apropriadas de alguns reagentes que, misturados, formam esse fluido semelhante ao encontrado no corpo humano. Usou-se 8,035 g de Cloreto de Sódio (NaCl) (Exodo, 99,5%), 0,355 g de Bicarbonato de Sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) (Dinâmica, 99,5%), 0,225 g de Cloreto de Potássio (KCl) (Vetec, 99,5%), 0,231 g de Fosfato Dipotássico Trihidratado ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ ) (Vetec, 99,0%), 0,311 g de Cloreto de Magnésio Hexahidratado ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ) (Synth, 98%), 0,292 g de Cloreto de Cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (Vetec, 95%), 0,072 g de Sulfato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) (Synth, 99,0%), 39 g de uma solução de Ácido Clorídrico (HCl) (Synth, 99 %) 1 M e, por fim, 118 g de solução TRIS (marca Neon, pureza 99,0%, que será descrita a seguir. O preparo da solução é relativamente complexo, todos os reagentes devem ser adicionados seguindo a ordem descrita, a uma temperatura aproximada de  $36,5 \pm 1,5$  °C; seguindo todos os passos, ao fim a solução precisa ter um pH de aproximadamente 7,4.

### 3.1.4 Solução tampão Tris-HCl

Tris (tris(hidroximetil)aminometano) e HCl (ácido clorídrico) é uma solução utilizada em laboratórios para manter o pH de uma solução em um valor específico, resistindo a mudanças significativas de pH quando adicionados ácidos ou bases. Neste caso, a solução de TRIS-HCl foi utilizada para manter o pH da solução constante enquanto ocorre a dissolução dos íons de Al, Si, Li e Zn do vitrocerâmico. Essa solução foi preparada de acordo com a ISO 10993-1 (2018). Primeiramente, em um balão volumétrico, foi dissolvido 13,25 g de

tris(hidroximetil)aminometano em 500 mL de água deionizada; após, foi ajustado o pH utilizando-se ácido clorídrico 1 M até atingir pH de 7,4, mantendo-se sempre a temperatura em torno de 37 °C. Por fim, foi completado com água deionizada até 1000 mL.

### 3.1.5 Linhagem celular

A escolha da linhagem celular adequada é fundamental para o sucesso dos experimentos e para a obtenção de resultados confiáveis. Nesse trabalho, foi utilizado fibroblasto (NIH3T3) murino.

### 3.1.6 Medicamentos

Foram utilizados, para a realização desse trabalho, os medicamentos: alendronato de sódio ( $C_4H_{12}NaNO_7P_2 \cdot 3H_2O$ , Delta), ácido zoledrônico ( $C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$ , Merck) e o risedronato de sódio ( $C_7H_{11}NO_7P_2$ , Althaia).

## 3.2 OBTENÇÃO DE SCAFFOLDS

A primeira parte desse trabalho objetivou empregar um vitrocerâmico do sistema LZSA como *scaffolds*, por meio de tratamento térmico e químico adequado para a formação dessa estrutura porosa. Tal estudo foi realizado no Laboratório de Cerâmica Técnica (CerTec), localizado no Parque Científico e Tecnológico - I.parque, da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

### 3.2.1 Análise térmica

A frita precursora de composição molar aproximada  $14,6Li_2O \cdot 8,6ZrO_2 \cdot 67,3SiO_2 \cdot 9,5Al_2O_3$  foi submetida ao ensaio de análise térmica diferencial, para se determinar a temperatura de tratamento térmico. A porosidade do material vítreo também precisa ser adequada, já que o fármaco foi introduzido nestes poros. Todavia, a porosidade depende das condições de tratamento térmico para a cristalização, que podem ser obtidas a partir da análise térmica diferencial. Para isso, o comportamento térmico da frita (vidro) foi

avaliado usando-se análise térmica diferencial (DTA) em um equipamento de análise simultânea (ATD/TG, Setaram Setsys Evolution, alumina como material de referência e cadinho de platina, ar sintético como gás de arraste com vazão de 50 mL/min, taxa de aquecimento de 20 °C/min).

### 3.2.2 Tratamento térmico

A frita precursora do vitrocerâmico foi homogeneizada, utilizando-se almofariz e pistilo, com separação das partículas no intervalo de trabalho de peneiras passante na malha 10 mesh (2 mm) e retido na malha 35 mesh (<0,5 mm). Após homogeneização, foi feita a moagem por impacto para redução de tamanho das partículas. A moagem por impacto foi realizada com moinho de jarro digital microprocessado (Cienlab CE-500/D), com uso de bolas de alumina. A redução de tamanho é feita pela ação do impacto e da fricção das bolas ao girar o moinho. Para essa condição, a velocidade de rotação do moinho foi de 130 rpm, descarregando a cada 1 h, até atingir a granulometria passante em malha de 212  $\mu\text{m}$  e retido em malha de 38  $\mu\text{m}$ . O material (pó) obtido foi umidificado (10% de água deionizada), granulado (peneira malha 35 mesh) e compactado em matriz cilíndrica metálica por meio de prensa hidráulica de laboratório (Gabrielli). A seguir, os corpos de prova foram secados em estufa (Cienlab CE-220/100) a temperatura de  $100 \pm 5$  °C por, no mínimo, 24 h.

Considerando estudos anteriores (Milak, 2014; Montedo *et al.*, 2021) e a análise térmica diferencial, tempos e temperaturas do tratamento térmico foram escolhidos, conforme mostra o planejamento experimental da Tabela 2.

As amostras de cada condição experimental da Tabela 2 foram colocadas em um forno mufla (FORTELAB- Série 1600) com taxa de aquecimento de 10 °C/min. Após o tratamento, as amostras foram trituradas com almofariz e pistilo, entre as malhas de 500 e 212  $\mu\text{m}$ . Uma balança com resolução de 0,1 g (Shimadzu ATX224) foi empregada para a pesagem das amostras. Devido a porosidade formada e visando obter maiores área superficial e volume de poro, optou-se trabalhar na melhor condição de tratamento térmico, isto é, 725 °C por 3 h.

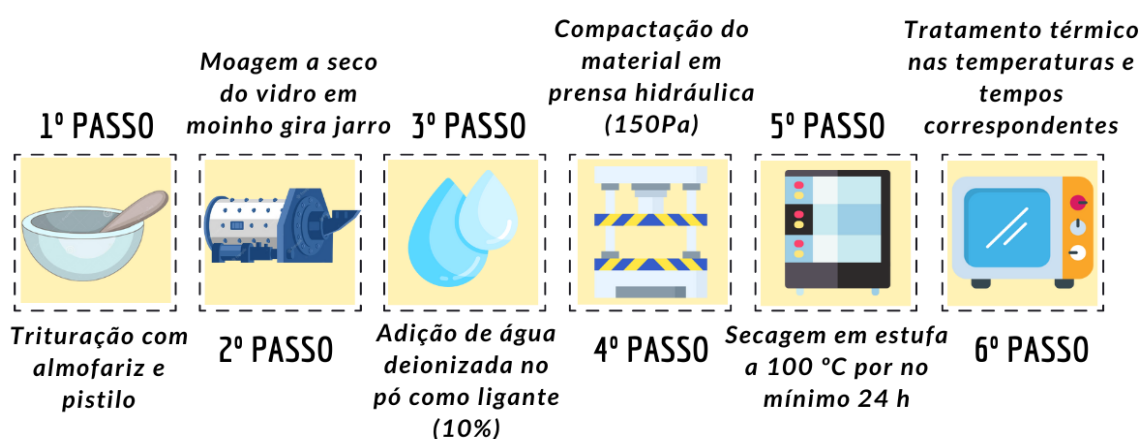
Tabela 2 - Planejamento do tratamento térmico da frita LZSA empregada

<b>Código</b>	<b>T (°C)</b>	<b>t (h)</b>
Vidro	-	-
700-2	700	2
700-4	700	4
725-2	725	2
725-4	725	4
750-2	750	2
750-4	750	4
725-3	725	3

Fonte: Autora, 2024.

Esta condição favorece a formação majoritária das fases cristalinas da solução sólida de espodumênio- $\beta$  ( $\text{Li}_2\text{O}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 4\text{-}10\text{SiO}_2$ ), evitando-se a formação da fase cristalina silicato de zircônio, a temperaturas entre 750-900 °C, o que poderia fechar parcialmente os poros superficiais das partículas. O resfriamento ocorreu inercialmente. Após o tratamento, as vitrocerâmicas foram trituradas com almofariz e pistilo para obtenção de pós entre 500 e 212  $\mu\text{m}$ . A Figura 7 detalha o arranjo experimental utilizado no tratamento térmico.

Figura 7 - Procedimento experimental do tratamento térmico



Fonte: Autora, 2024.

### 3.2.3 Tratamento químico

Para ser utilizado como *scaffold*, o material precisa ser poroso, de forma que seja possível a introdução de medicamentos, para assim atuar como *drug delivery*. Desta forma, o vitrocerâmico precisa ter elevadas área de superfície e porosidade, que poderia ser obtida por meio de tratamento químico, com determinadas concentrações de ácido forte diluído e tempo de ataque químico adequado.

Para a formação das estruturas porosas nas diferentes condições, foi utilizado um tratamento químico nos vitrocerâmicos com soluções de ácido fluorídrico, que possui a capacidade de atacar (corroer) o vidro residual do vitrocerâmico e, conseqüentemente, formar a porosidade necessária (Agnello *et al.*, 2022; Shubhava *et al.*, 2022). Diferentes concentrações e tempos foram analisados para se determinar a melhor condição.

O ácido fluorídrico é capaz de reagir com a alumina presente em alguns vidros e formar um composto insolúvel, conhecido como fluoreto de alumina que preenche os poros formados (Iliescu *et al.*, 2005). Para contornar essa situação, o ácido clorídrico foi adicionado em uma proporção de 1:10 na solução de ácido fluorídrico, assim como uma lavagem do material com carbonato de cálcio e hidróxido de amônio foi empregado; todas as opções foram avaliadas com o objetivo de se escolher a melhor entre elas. A Tabela 3 mostra as diferentes condições de tratamento químico realizadas.

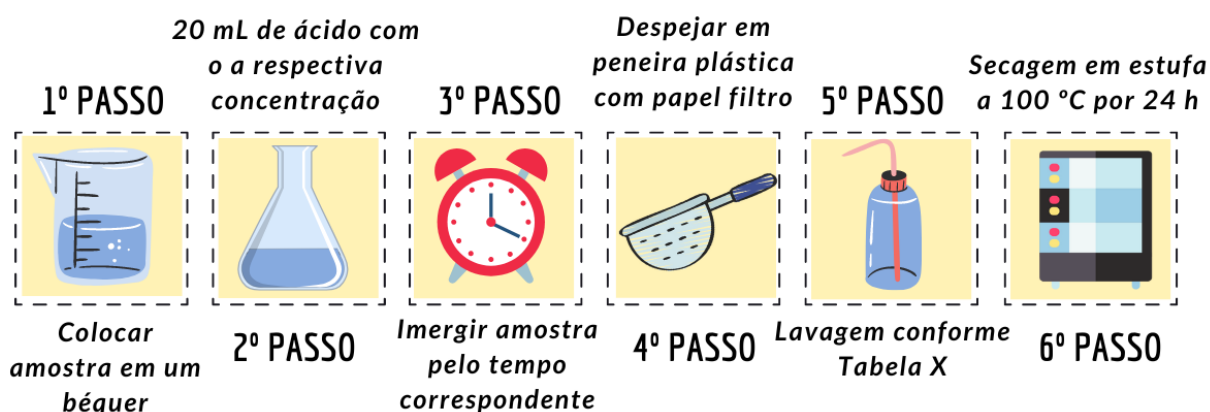
As concentrações de ácidos escolhidas foram de 4, 5 e 6% volume, variando-se o tempo em 40, 50 e 60 s. As soluções de ácidos também variaram, sendo apenas HF ou uma solução de HF e HCl na proporção de 10:1, como sugere a literatura (Agnello *et al.*, 2022; Iliescu *et al.*, 2005). Cada amostra ficou mergulhada em 20 mL da solução de ácido pelo tempo correspondente; as soluções foram então despejadas em uma peneira plástica com filtro de papel e lavadas. A lavagem ocorreu de três maneiras distintas para cada amostra: apenas água deionizada, água deionizada e CaCO<sub>3</sub>, água deionizada e NH<sub>4</sub>OH. Primeiramente, todas as amostras foram lavadas com água e, em seguida, submersas durante 2 min na solução correspondente, CaCO<sub>3</sub> ou NH<sub>4</sub>OH, para garantir que todo o ácido tenha saído. Após, foram secas na estufa a 90 °C por no mínimo 24 h. A Figura 8 apresenta as etapas do tratamento químico realizado.

Tabela 3 – Condições de tratamento químico do vitrocerâmico LZSA

<b>Identificação</b>	<b>Concentração do ácido (%)</b>	<b>Tempo de tratamento (s)</b>	<b>Ácido</b>	<b>Lavagem</b>
HF/4/40/H <sub>2</sub> O	4	40	HF	Água deionizada
HF/4/60/H <sub>2</sub> O	4	60	HF	Água deionizada
HF/5/50/H <sub>2</sub> O	5	50	HF	Água deionizada
HF/6/60/H <sub>2</sub> O	6	60	HF	Água deionizada
HF/6/40/H <sub>2</sub> O	6	40	HF	Água deionizada
HF/6/40/H <sub>2</sub> O/CaCO <sub>3</sub>	6	40	HF	Água deionizada e CaCO <sub>3</sub>
HF/6/40/H <sub>2</sub> O/NH <sub>4</sub> OH	6	40	HF	Água deionizada e NH <sub>4</sub> OH
HF/HCl/6/40/H <sub>2</sub> O/CaCO <sub>3</sub>	6	40	HF/HCl	Água deionizada e CaCO <sub>3</sub>
HF/HCl/6/40/H <sub>2</sub> O/NH <sub>4</sub> OH	6	40	HF/HCl	Água deionizada e NH <sub>4</sub> OH

Fonte: Autora, 2024.

Figura 8 - Metodologia do tratamento químico



Fonte: Autora, 2024.

### 3.2.4 Caracterização dos *scaffolds* de vitrocerâmica LZSA: Porosidade e formação da microestrutura

Deseja-se obter *scaffolds* a partir do vitrocerâmico tratado termicamente e, depois, tratado quimicamente, que tenham microestrutura em forma de colunas e com porosidade adequada para que forneçam suporte mecânico para posterior inoculação do medicamento.

#### 3.2.4.1 Análise estrutural

A estrutura cristalina das amostras em pó foi caracterizada utilizando-se um difratômetro de raios X (DRX, Philips, X'pert MPD) equipado com uma fonte de Cu-K $\alpha$  potência de 40 kV e 30 mA. A técnica de Difração de Raios X (DRX) é uma técnica aplicada para na qual os átomos cristalinos fazem com que um feixe de raios X incidentes difratem em muitas direções específicas. Ela produz informações detalhadas sobre a estrutura cristalográfica de suas amostras, que podem ser usadas para identificar as fases presentes. As amostras foram analisadas na forma de pó usando-se um tamanho de passo de 0,02 passo, tempo de passo de 4 s e  $2\theta$  na faixa de medição de 3 a 80°. O banco de dados ICSD (*Inorganic Crystal Structure Database*) foi utilizado para a identificação das fases cristalinas resultantes. A quantificação das fases cristalinas e do teor amorfo foram determinados pelo método de *Rietveld* com uso de padrão externo

(10% em massa de Fluorita Vetec, 99,9% pureza). O refinamento *Rietveld* foi realizado utilizando-se o software *X'Pert HighScore Plus®* (Philips). Foram realizados DRX do vidro, do vitrocerâmico com ataque químico (*scaffolds*) e do vitrocerâmico sem ataque químico.

#### 3.2.4.2 Análise de área superficial específica e isoterma de adsorção

O BET é uma análise que determina a área superficial específica de um material, medindo a área superficial aparente, mas também a área dos poros abertos (poros que tem ligação com a superfície externa). Já o BJH é uma análise que determina o tamanho dos poros abertos, volume e distribuição de poros. Para se escolher a melhor condição de tratamento térmico e de tratamento químico, a área superficial específica e o tamanho dos poros das amostras foram determinados por BET (*Brunauer-Emmet-Teller*) e BJH (*Barrett-Joyner-Halenda*), sabendo-se que o material precisa ter a maior porosidade e área superficial possível. Foram avaliadas todas as condições de tratamento térmico da Tabela 5, juntamente com o vidro LZSA. O mesmo teste foi feito para a melhor condição de ataque químico (Tabela 3).

A isoterma de adsorção é uma ferramenta importante para caracterizar a porosidade de um material, pois sua forma revela muitos detalhes sobre as suas características intrínsecas. Ao analisar a isoterma de adsorção de um gás adsorvato, pode-se determinar a porosidade do material poroso. A quantidade de gás adsorvido é diretamente proporcional ao volume dos poros, uma vez que a adsorção ocorre nos poros do material. Portanto, a partir da isoterma de adsorção, é possível estimar o tamanho dos poros, a distribuição de tamanho dos poros e a quantidade total de poros no material. A amostra com as melhores condições encontradas pelos testes de BET e BJH foi avaliada quanto a sua isoterma de adsorção, a fim de se obter a sua classificação em macro, meso ou micro poro, de acordo com a IUPAC.

#### 3.2.4.3 Análise morfológica

As caracterizações morfológicas das amostras foram analisadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Zeiss EVO MA10.

#### 3.2.4.4 Potencial Zeta

Para verificar a estabilidade das amostras em meio líquido, foi realizado estudo de potencial zeta utilizando-se a técnica de velocimetria *laser Doppler* a temperatura de 25 °C. Para verificar a estabilidade das amostras em meio líquido, foi realizado estudo de potencial zeta utilizando-se a técnica de velocimetria laser Doppler a temperatura de 25 °C. O aparelho utilizado é da marca Anton Paar, modelo, Litesizer DLS 500. As medidas foram realizadas diluindo-se 0,25 g do *scaffold* em 250 mL de água destilada, usando HCl e KOH (10<sup>-1</sup> M) para alterar o pH de 2 a 10, as medidas de PH foram feitas utilizando Phmetro de Bancada Kasvi, modelo K 38.

### 3.3 COMPREENSÃO DO MECANISMO DE DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA

#### 3.3.1 Imersão em fluido corporal simulado (SBF)

A partir dos resultados obtidos, a metodologia será realizada com as amostras tratadas termicamente a 725 °C durante 3 h; após o tratamento, as amostras foram trituradas com almofariz e pistilo, entre malha 500 e 212 mm. O tratamento químico foi realizado com 6% volume de ácido fluorídrico durante 40 s de ataque, seguindo a metodologia inicial descrita anteriormente, a fim de se obter maior relação de área superficial específica e porosidade. Após, foram secas em estufa a 100 °C por no mínimo 24 h. Em seguida, foram encaminhadas para caracterização.

A amostra selecionada foi submetida ao ensaio em SBF (fluido corpóreo simulado) para simular as reações de troca iônica entre a superfície do implante e o meio em que está inserido. Quanto maior a bioatividade, menor é o tempo para que ocorra a interação e adesão entre o implante e o tecido ósseo, maior a força de adesão entre eles, a espessura da zona de adesão e as forças mecânicas, e melhor é o desempenho do biomaterial. O teste de bioatividade *in vitro* dos *scaffolds* foi realizado de acordo com a norma ISO/FDIS 23317:2007.22 por exposição a SBF. Os *scaffolds* permaneceram imersos em 10 mL de SBF em frascos de polipropileno estéreis mantidos a 37 °C por 1, 3, 7 e 24 h e 3, 7,

14, 21 e 28 dias. A solução SBF foi substituída a cada 48 h. A relação de quantidade de solução por material foi realizada utilizando-se a Equação 7, de acordo com a norma ISO/FDIS 23317:2007.22:

$$v_s = \frac{S_a}{10} \quad (\text{Equação 7})$$

sendo  $v_s$  o volume de SBF em  $m^3$  e  $S_a$  a área superficial aparente em  $m^2$  (ISO/FDIS 23317, 2007).

### 3.3.2 Análise morfológica

A deposição de camadas de compostos minerais baseados em P e Ca na superfície do material dos *scaffolds* selecionados foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV, EVO MA 10, Zeiss), juntamente com análise de raios X de dispersão de energia (EDS, XFlash 6/10, Bruker).

### 3.3.3 Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Após a exposição, as amostras foram analisadas por infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, modelo Tensor II, Bruker) para determinação dos grupos funcionais na superfície. Na análise de FTIR, o modo de refletância total atenuada com cristal de diamante foi utilizado na superfície dos *scaffolds* após o período de imersão em SBF.

### 3.3.4 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES (Al, Zr, Si)

A dissolução de íons Al, Zr e Si, pode influenciar a biocompatibilidade dos biomateriais com o tecido ósseo. Quando implantados, os biomateriais permanecem em contato com fluidos corporais que, se expostos a quantidades altas de íons podem ocasionar inflamações e efeitos tóxicos. A análise para determinar a concentração dos elementos Al, Zr, Si presentes na amostra, foi

feita por ICP-OES (SMEWW - Método 3120 B). O teste foi realizado em duplicata para os demais íons.

### 3.4 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DE LÍCIO

#### 3.4.1 Tris-HCl (tris(hidroximetil)aminometano) com ácido clorídrico

O teste de dissolução foi realizado em amostra de *scaffold* de LZSA. A solução de TRIS-HCl (pH 7,4 a 37 °C) foi então preparada de acordo com a norma ISO 10993-14.23.

Os grânulos de LZSA foram imersos nos períodos de 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias na solução preparada para quantificar a entrega dos íons de lítio; as amostras foram imersas e mantidas a 37 °C. Isso foi feito para demais íons (Si, Zr, Al) nos tempos de 7 e 28 dias. Após os tempos programados, a concentração de íons nas soluções de TRIS-HCl foi medida por emissão de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, Thermo Scientific - iCAP 6000- método 3120 B).

A relação de solução de TRIS por massa de material foi realizada utilizando-se a fórmula descrita na literatura (Baino; Yamaguchi, 2020; Kirste *et al.*, 2017; Wetzel; Brauer, 2019) foi utilizado 1,5 mg/mL, já que nessa concentração a medição do teor de íons liberados é mais fácil de ser detectada.

#### 3.4.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES)

A técnica de ICP-OES envolve a excitação de um plasma de alta temperatura em uma amostra. O plasma é criado por meio do acoplamento indutivo de energia de alta frequência em uma mistura de gás inerte, geralmente argônio, que ioniza a amostra. As partículas carregadas produzidas pelo plasma excitam os átomos na amostra, fazendo com que eles emitam radiação eletromagnética em comprimentos de onda específicos. Essa radiação é então detectada e analisada para determinar a concentração dos elementos presentes na amostra. O método utilizado foi ICP-OES (Thermo Scientific - iCAP 6000) pelo método 3120B.

### 3.5 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR

A avaliação da citotoxicidade e proliferação celular é um aspecto crucial no desenvolvimento e na aplicação de biomateriais. Antes que um material possa ser considerado seguro e eficaz para uso em aplicações clínicas, é essencial determinar como ele interage com as células e os tecidos do organismo. Essa avaliação permite identificar possíveis efeitos adversos e garantir a segurança e a compatibilidade do material com o ambiente biológico. Com o objetivo de se avaliar a citotoxicidade e a migração e proliferação celulares do *scaffold* de LZSA com o organismo humano, foram realizados ensaios *in vitro* de viabilidade celular (MTT) e hemocompatibilidade, para verificar se o material pode causar hemólise. O ensaio de *Scratch* foi realizado para o estudo da migração e proliferação celulares, por meio da geração de uma ferida artificial em uma monocamada de células, e o ensaio de proteína como ferramenta importante para avaliar a biocompatibilidade de biomateriais e compreender a interação entre esses materiais e o organismo humano.

#### 3.5.1 Ensaio de viabilidade celular (MTT)

Para avaliar a viabilidade celular, o ensaio de MTT foi realizado. O teste MTT é um teste colorimétrico muito usado para avaliar a viabilidade celular. Esse tipo de ensaio se baseia na medida do dano induzido por composto em estudo no metabolismo celular, que ocorre usualmente por meio da avaliação da atividade de desidrogenase mitocondrial presente apenas em células metabolicamente viáveis. A viabilidade mitocondrial e, conseqüentemente, a viabilidade celular foram quantificadas pela redução do MTT (um sal de coloração amarela e solúvel em água) a formazan (sal de coloração roxo e insolúvel em água). Dessa forma, a redução do MTT a formazan é diretamente proporcional à atividade mitocondrial e à viabilidade celular. Grânulos de vidro, vitrocerâmico e do *scaffold* LZSA foram avaliados de acordo com sua bioatividade.

A viabilidade celular dos diferentes compostos foi avaliada em linhagem celular de fibroblasto murino (NIH<sub>3</sub>T<sub>3</sub>). As células foram cultivadas em meio *Dulbecco's Eagle Modificado* (DMEM), suplementadas com 10% de soro fetal

bovino, Penicilina (100 unidades/mL), Estreptomicina (100 mg/mL) e 4 mM/L de Glutamina a 37 °C, em garrafas de cultura celular de 25 mL e mantidas em uma estufa a 37 °C, com 5% de CO<sub>2</sub>. Todos os reagentes foram obtidos da Sigma Aldrich. Para propósitos experimentais, as células foram tripsinizadas e ajustadas para a concentração de 10<sup>4</sup> células/poço e plaqueadas em uma placa de cultura de fundo plano de 96 poços. Após o tempo de incubação (24 h), as células foram tratadas com meio DMEM contendo diferentes concentrações dos compostos.

Para este estudo, foram utilizadas as seguintes concentrações: 10, 20 e 40 µg/mL dos compostos. As células tratadas com os diferentes compostos foram novamente incubadas por 24 h em estufa, a 37 °C, com 5% de CO<sub>2</sub>. Após o tempo de incubação (24 h), o sobrenadante celular foi retirado e 100 µL do Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio) (MTT) (Sigma, MO, EUA) foram adicionados para avaliar a viabilidade celular (KUMAR *et al.*, 2018). O sobrenadante celular após o período de incubação dos tratamentos e 100 µL da solução de MTT (0,5 mg/mL) foram adicionadas em cada poço. Na sequência, a placa foi novamente incubada por três horas em estufa a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> para permitir a reação de formação do formazan. Após o período de incubação, o meio contendo a solução de MTT foi removido e os cristais de formazan foram dissolvidos em 100 µL de álcool isopropílico. A absorbância foi medida em 570 nm, utilizando-se um leitor de microplacas Infinite 200 TECAN (Kumar; Nagarajan; Uchil, 2018). Os resultados foram apresentados como porcentagem de sobrevivência.

### **3.5.2 Teste de hemocompatibilidade**

A hemocompatibilidade é um fator crítico em muitos biomateriais implantáveis, pois pode afetar a interação entre o material e o sangue circulante, levando a uma série de problemas, incluindo a rejeição do material. Por isso, a avaliação da hemocompatibilidade é essencial para garantir a segurança e eficácia desses materiais. O ensaio de hemocompatibilidade é uma técnica utilizada para avaliar a capacidade de um material de interagir com o sangue sem causar danos aos componentes sanguíneos. Esse tipo de ensaio pode ser realizado *in vitro* ou *in vivo* e inclui uma série de testes específicos para avaliar

diferentes aspectos da interação material-sangue. A Hemocompatibilidade é um importante parâmetro de qualidade dos glóbulos vermelhos compactados, que é usado para avaliar a integridade celular das unidades sanguíneas armazenadas (Weber *et al.*, 2018). Todos os experimentos foram realizados em conformidade com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) (CEP - CAAE 12984919.7.0000.0119) da Universidade do Extremo Sul Catarinense, que os aprovou antes do início dos procedimentos experimentais, conforme autorização nº 3344689. Os eritrócitos humanos foram cedidos por três voluntários saudáveis. O sangue total, 3 mL, foi centrifugado por 10 min a 1500 rpm para remover o sobrenadante, então foram feitas três lavagens com solução salina (0,9% NaCl) e centrifugado por três vezes para remover outras células e vestígios de plasma. Após a terceira lavagem, o sobrenadante foi descartado e os eritrócitos foram diluídos com 1,5 mL de solução salina (0,9% NaCl).

Após a obtenção dos eritrócitos, a atividade hemolítica foi avaliada por espectrofotometria. Os compostos selecionados para este ensaio foram incubados em diferentes concentrações (0,5, 1 e 2 mg/mL das amostras) e incubados com 50 µL de eritrócitos humanos ressuspendidos em 950 µL de solução salina. O tempo de incubação foi de 1 h, com uma temperatura de 37 °C, sob agitação contínua de 100 rpm. Depois do período de incubação (1 h), a solução foi centrifugada por 5 min (10000 rpm) a temperatura ambiente. Na sequência, 100 µL de sobrenadante da amostra foram transferidos para uma placa de 96 poços. A porcentagem de hemocompatibilidade foi avaliada por espectrofotometria. Além disso, a absorbância foi medida em 540 nm, utilizando-se um leitor de microplacas Infanite 200 TECAN. O controle positivo (água destilada) e o controle negativo (solução salina) também foram realizadas (Li *et al.*, 2020). Os resultados foram expressos com a porcentagem de hemocompatibilidade, obtidos a partir da Equação 8:

$$\text{Taxa de hemocompatibilidade \%} = \frac{D_t - D_{nc}}{D_{pc} - D_{nc}} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

onde  $D_t$  é a absorbância da amostra teste,  $D_{nc}$  é a absorbância do controle negativo e  $D_{pc}$  é a absorbância do controle positivo.

Os ensaios foram realizados em triplicata. O teste de hemocompatibilidade foi realizado com grânulos de LZSA na granulometria passante na malha de 212 mm e retido da malha de 500 mm.

### 3.5.3 Dano à proteína

O ensaio de proteína em vidros bioativos é um procedimento utilizado para avaliar a biocompatibilidade de vidros e vitrocerâmicas para aplicações biomédicas. Esse ensaio pode ser utilizado para acompanhar e concordar com processos de obtenção de materiais, além de ser um dos primeiros ensaios *in vitro* de biocompatibilidade. O ensaio de proteína é utilizado para avaliar a capacidade de um material de interação com proteínas. O ensaio da proteína é realizado por meio da análise do material em uma solução contendo proteínas, seguida da quantificação da quantidade de proteína adsorvida na superfície do material.

A quantificação de proteínas foi conduzida pelo método modificado de Lowry *et al.* (1951), com albumina bovina sendo utilizada como padrão. O princípio subjacente a este método baseia-se na redução do reagente Folin-Ciocalteu na presença do catalisador cobre (II) ao reagir com as proteínas presentes na amostra. Para tal, as amostras foram homogeneizadas na proporção 1:10 em tampão fosfato de sódio 20 mM + KCl 140 mM, pH 7,4, seguido por centrifugação a 3500 rpm por 10 min a 4 °C.

A curva padrão foi gerada utilizando-se albumina bovina a uma concentração de 1 mg/mL, 1 mL do reativo C, composto pela mistura dos reagentes A, (solução alcalina, composta por carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) dissolvido em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH)), B1 (solução de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ )) e B2 (solução de tartarato de sódio e potássio) em uma proporção (100:1:1) e água. Quanto às amostras, 10  $\mu\text{L}$ , 1 mL de reativo C e 190  $\mu\text{L}$  de água foram utilizados. Após inserção de todos os reagentes, a mistura foi homogeneizada por meio de vórtex e incubada por 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, 100  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu 1 N foi adicionado no escuro a todas as amostras e à curva padrão, seguido por agitação no vórtex e incubação adicional de 20 min no escuro a temperatura ambiente.

Após a incubação, uma parte do volume foi transferida para uma placa de 96 poços para leitura no espectrofotômetro SpectraMax a 650 nm. Os valores obtidos são expressos em mg (Lowry *et al.*, 1951).

O conteúdo de sulfidrilas foi quantificado pelo método adaptado de Aksenov e Markesbery (2001), cujo princípio fundamenta-se na redução do reagente de cor DTNB por tióis, gerando o ânion 2-nitro-5-tiobenzoato (TNB<sup>2-</sup>). Para realizar essa determinação, após a homogeneização, 245 µL de tampão PBS com EDTA 1 M e 5 µL de DTNB foram dosados no branco reagente, diretamente em uma placa de Elisa.

No caso das amostras, 22 µL da amostra, 223 µL de tampão PBS com EDTA 1 M e 5 µL de DTNB foram dosados para a avaliação do conteúdo de sulfidrilas. Após a dosagem do DTNB, a placa foi deixada a temperatura ambiente, protegida da luz. Decorridos 15 min, a leitura foi realizada em um espectrofotômetro a 412 nm. Os resultados obtidos são expressos em nano mols de TNB por mg de proteína.

### 3.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ADSORÇÃO/DEPOSIÇÃO E ENTREGA DOS FÁRMACOS NOS SCAFFOLDS OBTIDOS

#### 3.6.1 Inoculação com corante azul de metileno

A introdução de medicamentos em biomateriais porosos constitui um processo multifacetado, variando conforme as propriedades específicas do medicamento e do biomaterial em consideração. Inicialmente, foram avaliados dois mecanismos distintos com o objetivo de determinar a eficácia na obtenção da melhor relação de medicamento nos poros: imersão e ultrassom. Uma solução saturada do corante azul de metileno foi empregada como agente modelador para a seleção da técnica mais eficiente na inserção dos medicamentos nos *scaffolds*. Análise visual em microscópio óptico, análise de espectroscopia por transformada de Fourier (FTIR) e Termogravimetria (TG) foram realizadas para a identificação do corante absorvido nos poros do *scaffold*.

##### 3.6.1.1 Técnica do ultrassom

O ultrassom tem sido explorado como uma ferramenta para facilitar a introdução de medicamentos nos *scaffolds*. A técnica consiste em aplicar ondas sonoras de alta frequência em uma solução contendo o medicamento e o biomaterial poroso. As ondas sonoras geram cavitação, que cria micro vórtices e fluxos de líquido que ajudam a impulsionar a solução para dentro dos poros do biomaterial. O potencial de absorção e penetração do azul de metileno utilizando-se ultrassom foi avaliado, usando a solubilidade em água do corante de 43,21 g/L (Salimi; Roosta, 2019). Assim, uma solução saturada foi preparada usando 1 g do corante para 23,15 mL de água deionizada e 1 g de *scaffold*. Para se avaliar se a penetração do corante ocorreu da forma esperada, imagens do *scaffold* imerso no azul de metileno foram obtidas por meio da utilização de um microscópio ótico (Bioptika-B10).

### 3.6.1.2 Técnica da imersão

A imersão com agitação é uma técnica simples e comum utilizada para inserir medicamentos em *scaffolds*. Essa técnica consiste em imergir o *scaffold* em uma solução contendo o medicamento e agitar a solução para garantir a distribuição uniforme do fármaco dentro dos poros do material poroso. A eficácia desse método depende da capacidade do medicamento de penetrar espontaneamente dos poros, apenas com o auxílio da agitação. Essa é uma técnica simples, porém pode apresentar algumas limitações, como, por exemplo, o medicamento pode não penetrar uniformemente dentro dos poros, dificultando a entrega do fármaco. Para analisar a capacidade do *scaffold* de LZSA de absorver o medicamento, uma imersão teste foi feita com o corante azul de metileno.

A absorção de azul de metileno pode ocorrer em diferentes tipos de materiais porosos, como cerâmicas, polímeros e membranas. Esses materiais têm uma estrutura que permite a penetração das moléculas de azul de metileno em seus poros ou espaços internos. Quando o azul de metileno é colocado em contato com um material poroso, as moléculas de corante se difundem para o interior dos poros do material, preenchendo os espaços vazios. Sendo assim, é possível avaliar a quantidade de azul de metileno que penetrou no *scaffold*. O processo envolve a imersão do material em uma solução diluída de corante por

um período de tempo determinado. Em seguida, o *scaffold* é retirado da solução de corante e lavado com água deionizada para remover o excesso de corante que ficou na superfície externa do material.

Para analisar se um possível medicamento é capaz de penetrar nos poros do *scaffold* de LZSA, uma solução de azul de metileno foi preparada; sabe-se que a solubilidade máxima do corante em água é 43,21 g/L (Salimi; Roosta, 2019), então uma solução saturada foi preparada usando 1 g do corante para 23,15 mL de água deionizada. A solução foi então misturada com 1 g de LZSA, na proporção de 1:1. A solução foi agitada em agitador magnético (Fisatom 752A) durante o período de 1 dia, para que todo o material pudesse entrar em contato com o corante. Após, o *scaffold* foi retirado da solução, filtrado e lavado com água deionizada até a água sair completamente transparente e não haver resquícios do corante. Após a filtragem, o LZSA foi seco na estufa por um período de 24 h a 100 °C. Após secagem o material foi submetido a análise microscópica.

#### 3.6.1.3 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR)

Para analisar a absorção do azul de metileno, foi realizado o ensaio de FTIR (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier) (BRUKER/TENSOR II) em uma faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , para se identificar o grupo funcional específico do corante e, assim, avaliar a sua presença ou não. O ensaio foi feito com três amostras: vidro, vitrocerâmico e *scaffold*, sendo esperado que no *scaffold* a quantidade presente de azul seja significativamente maior.

#### 3.6.1.4 Perda de massa por Termogravimetria (TG)

A termogravimetria (TG) é uma técnica analítica usada para estudar as mudanças de massa de uma substância em função da temperatura. As perdas de massa correspondentes à entrega de azul de metileno são identificadas como picos ou degraus na curva termogravimétrica. Por meio da TG, é possível se determinar a temperatura em que ocorre a perda de massa atribuída à entrega de azul de metileno. Essa informação pode ser usada para avaliar a quantidade

de corante presente na amostra, já que se conhece a curva característica dos materiais sem o azul de metileno. O ensaio foi feito com os três materiais, vidro, vitrocerâmico e *scaffold*, utilizando-se taxa de aquecimento de 5 °C/min até 600 °C, em cadinho de alumina e ar sintético (NETZSCH, STA 449 F3).

### 3.6.2 Imersão em medicamentos

Após verificar a eficácia da imersão em solução de corante, os medicamentos destinados ao tratamento ósseo foram introduzidos nos *scaffolds* de LZSA por meio dessa técnica. Com base na solubilidade máxima de cada medicamento, preparou-se uma solução específica para cada condição, utilizando a mesma quantidade de material de *scaffold*, fixada em 1 g. As solubilidades dos medicamentos em água são respectivamente: 16,9 mg/mL para o Alendronato de sódio (Abourehab *et al.*, 2022; Cummings *et al.*, 2020) 3,27 mg/mL para o Ácido zoledrônico e 10,4 mg/mL para o Risedronato de sódio (Brüning *et al.*, 2011; Vaculikova *et al.*, 2014).

#### 3.6.2.1 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR)

Para investigar a absorção dos medicamentos pelo *scaffold* em estudo, conduziu-se o ensaio de FTIR (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier) utilizando o equipamento BRUKER/TENSOR II, abrangendo a faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . O objetivo foi identificar os grupos funcionais específicos de cada medicamento e, assim, avaliar sua presença no material. O ensaio foi realizado em três amostras de *scaffold* distintas, cada uma contendo alendronato de sódio, risedronato de sódio ou ácido zoledrônico.

#### 3.6.2.2 Perda de massa por Termogravimetria (TG)

Por meio da Análise Termogravimétrica (TG), é possível determinar a temperatura na qual ocorre a perda de massa associada aos medicamentos. Essa informação pode ser empregada para avaliar a quantidade presente na amostra, visto que a curva característica dos materiais sem os medicamentos é conhecida. O ensaio foi conduzido em um analisador simultâneo ATD/TG

(NETZSCH, STA 449 F3), utilizando-se *scaffolds* com alendronato de sódio, risedronato de sódio ou ácido zoledrônico. A taxa de aquecimento foi de 5 °C/min até atingir 600 °C, utilizando-se um cadinho de alumina e atmosfera de ar sintético.

### 3.6.2.3 Ensaio de viabilidade celular (MTT)

A avaliação da viabilidade celular foi conduzida por meio do ensaio de MTT, no qual as células da linhagem celular imortalizada de fibroblastos NIH3T3 foram expostas a tratamentos com *scaffold* associados a medicamentos (risedronato de sódio, ácido zoledrônico e alendronato de sódio) em concentrações de 10, 20 e 40 µg/mL, utilizando a mesma metodologia do ensaio sem a adição de medicamentos descrita no item 3.5.1.

### 3.6.2.4 Avaliação da migração celular em uma "ferida" criada artificialmente (SCRATCH)

A técnica de ensaio de *scratch* é empregada na caracterização de biomateriais, visando a avaliação de sua adesão e resistência ao desgaste. Este procedimento consiste em riscar a superfície do material utilizando uma caneta afiada ou penetrador, com a subsequente medição da profundidade e largura do arranhão resultante. A finalidade desse teste é não apenas analisar a taxa de migração celular na superfície do material, mas também avaliar a viabilidade das células após exposição ao mesmo. Dessa maneira, o ensaio simula condições semelhantes a um ferimento, proporcionando uma medida representativa do processo de cicatrização.

Para esse estudo foram utilizadas células de fibroblastos murinos L929 ( $1 \times 10^6$  células/mL) foram semeadas em cada poço de uma placa de 24 poços e incubadas a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>, mantidas em DMEM suplementado com 10% de SFB, 100 µg/L de estreptomicina e 100 UI/mL de penicilina, a 37 °C em uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

Após a confluência celular, o meio de cultura foi removido e um arranhão contínuo foi feito na superfície média de cada poço com uma ponta de 200 µL. Em seguida, os poços foram lavados com PBS para remover detritos celulares.

As células restantes foram incubadas com DMEM contendo o tratamento (1, 10 ou 100 µg/mL). A análise foi realizada medindo-se a área arranhada em mm<sup>2</sup> no tempo 0 (imediatamente após o trauma mecânico) e 24 h após a incubação com o tratamento, por microscopia óptica (Olympus CKX 41), utilizando-se o software ImageJ1.46r. Os resultados são expressos como porcentagem da área de cobertura a 24 h em relação ao tempo 0 (Yue *et al.*, 2010).

### 3.6.2.5 Ensaio de entrega de medicamentos (UV-VIS)

A análise da entrega controlada de fármacos foi conduzida utilizando-se a técnica de espectroscopia UV- Visível (Lopes *et al.*, 2005). Neste estudo, empregou-se tal metodologia para a quantificação da entrega de Alendronato de sódio, Risedronato de sódio e Ácido zoledrônico, incorporados em *scaffolds*. A entrega dos fármacos foi conduzida mediante a utilização de uma membrana de diálise (Spectra/Por® 6) com um tamanho de poro de 1000 Da. Amostras (1 g) foram pesadas e inseridas no interior da membrana, juntamente com fosfato dissódico a pH de 7,4 (5 mL). As extremidades da membrana foram seladas e colocadas em um béquer contendo 100 mL de meio receptor (solução de fosfato dissódico, pH = 7,4). O meio receptor foi mantido a 37 °C em um banho-maria. Em intervalos de 0, 15, 30, 60, 75, 90 e 105 min, alíquotas foram retiradas da solução presente no interior da membrana para análise por espectrofotometria UV (262 nm). Um gráfico de absorvância *versus* tempo de incubação foi construído utilizando-se o software GraphPad Prism 8. A partir desse gráfico, foi determinado o tempo correspondente à entrega de 50% do fármaco

A cinética de entrega dos medicamentos no dispositivo projetado (*scaffold*) também foi investigada usando diferentes modelos cinéticos existentes na literatura, como o modelo de ordem zero (O'Shannessy; Winzor, 1996), pseudo-primeira ordem (Yuh, 2004; Zheng *et al.*, 2019), pseudo-segunda ordem (Afolabi; Popoola; Bello, 2020; Ho, 2006; Kumar; Khaddour; Gupta, 2010), logaritmo (Ferreira; Trinca; Ferreira, 2014), além dos modelos de entrega de medicamentos de Peppas-Sahlin (Peppas; Narasimhan, 2014), Higuchi (Lopes *et al.*, 2005) e Korsmeyer-Peppas (Wu *et al.*, 2019).

#### 3.6.2.5.1 Entrega e Determinação Quantitativa de Risedronato de sódio

A quantificação do medicamento Risedronato de sódio foi conduzida por meio de espectrofotometria UV-Vis (Lopes *et al.*, 2005). Para isso, 5 mg de cada composto (*scaffold* + risedronato de sódio) foram pesadas e incorporadas em uma membrana de diálise (Spectra/Por®), sendo posteriormente diluídos em 1 mL de Fosfato Dissódico (pH = 7,4). Em seguida, essa membrana foi imersa em 4 mL do meio receptor e mantida a 37 °C em banho-maria. A entrega do fármaco presente nos *scaffolds* foi monitorada em intervalos de 1, 15, 30, 60, 180, 360 e 540 min para o *scaffold* + risedronato de sódio. Após cada intervalo, uma alíquota da solução do recipiente contendo a membrana foi retirada para a quantificação dos fármacos. As amostras foram analisadas por espectrometria UV-Vis a comprimentos de onda de 262 nm para o risedronato de sódio, utilizando um espectrofotômetro (EspectraMax Plus 384). Foi construída uma curva de calibração com o medicamento puro para a subsequente determinação da quantidade (%) de entrega do mesmo a partir dos *scaffolds*.

#### 3.6.2.5.2 Entrega e Determinação Quantitativa de Ácido zoledrônico

A quantificação do medicamento ácido zoledrônico foi conduzida por meio de espectrofotometria UV-Vis (Lopes *et al.*, 2005). Para isso, 5 mg do composto (*scaffold* + ácido zoledrônico) foram pesadas e incorporadas em uma membrana de diálise (Spectra/Por®), sendo posteriormente diluídos em 1 mL de fosfato dissódico (pH = 7,4). Em seguida, essa membrana foi imersa em 4 mL do meio receptor e mantida a 37 °C em banho-maria. A entrega dos fármacos presentes nos *scaffolds* foi monitorada em intervalos de 1, 15, 30, 60 e 180 min. Após cada intervalo, uma alíquota da solução do recipiente contendo a membrana foi retirada para a quantificação do fármaco. As amostras foram analisadas por espectrometria UV-Vis a comprimentos de onda de 225 nm para o ácido zoledrônico, utilizando um espectrofotômetro (EspectraMax Plus 384). Foi construída uma curva de calibração com o medicamento puro para a subsequente determinação da quantidade (%) de entrega do mesmo a partir dos *scaffolds*.

### 3.6.2.5.3 Entrega e Determinação Quantitativa de Alendronato de sódio

A quantificação do medicamento alendronato de sódio foi conduzida por métodos indiretos, uma vez que o fármaco não apresenta absorvância na região ultravioleta e visível. Utilizou-se um método baseado na reação da amina primária da molécula de alendronato de sódio com o reagente ninidrina (2,2-diidroxihidrindeno-1,3-diona), resultando na formação de um produto colorido identificado como púrpura de Ruhemann, cuja absorvância é observada em 568 nm.

Para realizar a análise, 5 mg do composto *scaffold* + alendronato de sódio foram pesados e incorporados em uma membrana de diálise (Spectra/Por®), sendo diluídos em 1 mL de fosfato dissódico (pH = 7,4). Em seguida, essa membrana foi imersa em 4 mL do meio receptor e mantida a 37 °C em banho-maria. A entrega do alendronato de sódio presente no *scaffold* foi monitorada em intervalos de 1, 15, 30 e 60 min. Após cada intervalo, a solução do recipiente contendo a membrana foi retirada para a quantificação do alendronato de sódio.

Para a quantificação, foram adicionados 0,5 mL de solução de bicarbonato de sódio (0,05 M) e 2,5 mL de solução 0,2% de ninidrina em metanol. Os tubos foram aquecidos em banho-maria a  $90 \pm 5$  °C por 20 min. Posteriormente, as amostras foram analisadas por espectrometria UV-Vis em um comprimento de onda de 568 nm, utilizando um espectrofotômetro (EspectraMax Plus 384). Foi construída uma curva de calibração com o medicamento puro para a determinação subsequente da quantidade (%) de entrega do alendronato de sódio do *scaffold*.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS SCAFFOLDS

Para a obtenção dos scaffolds, utilizou-se como ponto de partida a frita precursora, cuja análise química está apresentada na Tabela 1, seção 3.1.1.

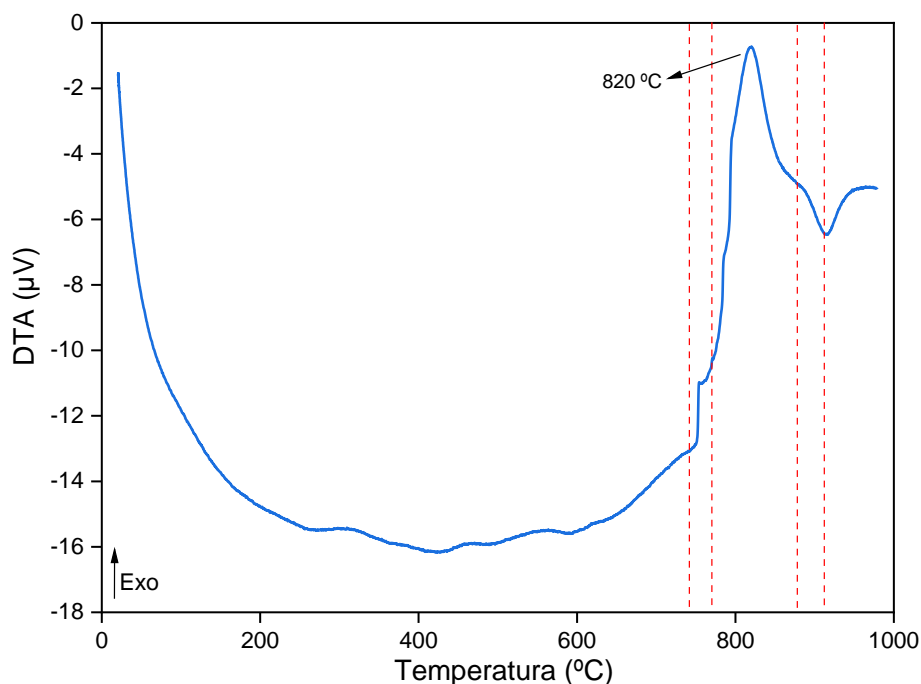
No sistema vitrocerâmico LZSA, a formação de cristais ocorre por meio de um processo de cristalização superficial (Montedo *et al.*, 2021). Quando o material está na forma de pó, o tratamento térmico pode ser conduzido de forma que permita o crescimento parcial dos cristais em direção ao centro dos grânulos. Isso pode ser conseguido se a cristalização for parcial, isto é, se houver quantidade significativa de fase vítrea residual. Como resultado, essa quantidade residual de fase vítrea (não cristalizada) pode ser quimicamente atacada, usando-se uma solução de ácido fluorídrico, para aumentar a porosidade superficial, além daquela resultante do processo de cristalização. A profundidade dos poros superficiais pode ser controlada de acordo com as condições de ataque químico, como concentração da solução ácida e tempo de exposição. Desta forma, pode-se obter uma microestrutura porosa, ou *scaffolds*. A porosidade desempenha um papel importante e crucial para atingir esses objetivos. É desejável que os *scaffolds* possuam poros interconectados, permitindo a difusão e migração de células.

#### 4.1.1 Análise térmica

Afim de se conhecer a faixa de temperatura de cristalização do vidro LZSA, foi realizado o ensaio de análise térmica diferencial (ATD), cujo resultado é mostrado a Figura 9.

Essa análise revelou as transformações que ocorrem no vidro durante o processo de aquecimento, sendo a variação de temperatura da amostra registrada como um deslocamento da linha base. No contexto desse sistema, as principais fases cristalinas são o metassilicato de lítio ( $\text{Li}_2\text{SiO}_3$ ), que cristaliza entre 750 e 770 °C, solução sólida de espodumênio- $\beta$  ( $\text{Li}_2\text{O}\cdot\text{ZrO}_2\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 4\text{-}10\text{SiO}_2$ ), que cristaliza entre 770 e 870 °C, e silicato de zircônio ( $\text{ZrSiO}_4$ ), que se forma entre 870 e 920 °C, aproximadamente (Montedo *et al.*, 2021).

Figura 9 - Resultado da análise térmica diferencial do vidro LZSA



Fonte: Autora, 2024.

É importante ressaltar que o metassilicato de lítio passa por uma transformação para dissilicato de lítio ( $\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ ), reagindo com a alumina e formando espodumênio- $\beta$  até cerca de 870 °C.

Por outro lado, Nuremberg *et al.* (2017) empregaram a função assimétrica de Fraser-Suzuki (FS) durante o processo de deconvolução para análise cinética não isotérmica, a fim de estimar a faixa de cristalização da vitrocerâmica com composição  $19\text{Li}_2\text{O}-8\text{ZrO}_2-9\text{Al}_2\text{O}_3-64\text{SiO}_2$  (razão molar). Eles encontraram a faixa de temperatura de 750-900 °C para a cristalização do  $\text{ZrSiO}_4$ .

Dessa forma, a temperatura de 700 °C revelou-se inadequada para a predominância da fase cristalina espodumênio- $\beta_{ss}$ , mesmo quando empregados diferentes ciclos de queima. Por outro lado, a 750 °C já evidenciou a formação de silicato de zircônio, o que não atende aos objetivos deste estudo. Essa fase cristalina pode obstruir os poros superficiais, mesmo após o tratamento químico dos pós de LZSA. Observou-se que, com o aumento do ciclo de tratamento térmico, a formação de silicato de zircônio tende a ser mais acentuada. Assim,

optou-se pela temperatura de 725 °C, que se mostrou como a temperatura de maior concentração da fase espodumênio- $\beta_{ss}$ .

Considerando-se os resultados obtidos na Análise Térmica Diferencial (ATD) (Figura 9), foi elaborado um planejamento experimental para avaliar o tratamento térmico da frita LZSA utilizada, conforme apresentado na Tabela 2. O ciclo mais adequado para obter a quantidade desejada de poros, corroborada pela análise microestrutural e pelos resultados da área superficial (BET) e volume de poros (BJH), é evidenciado no ciclo de 180 min, conforme demonstrado na Figura 6 e Tabela 5.

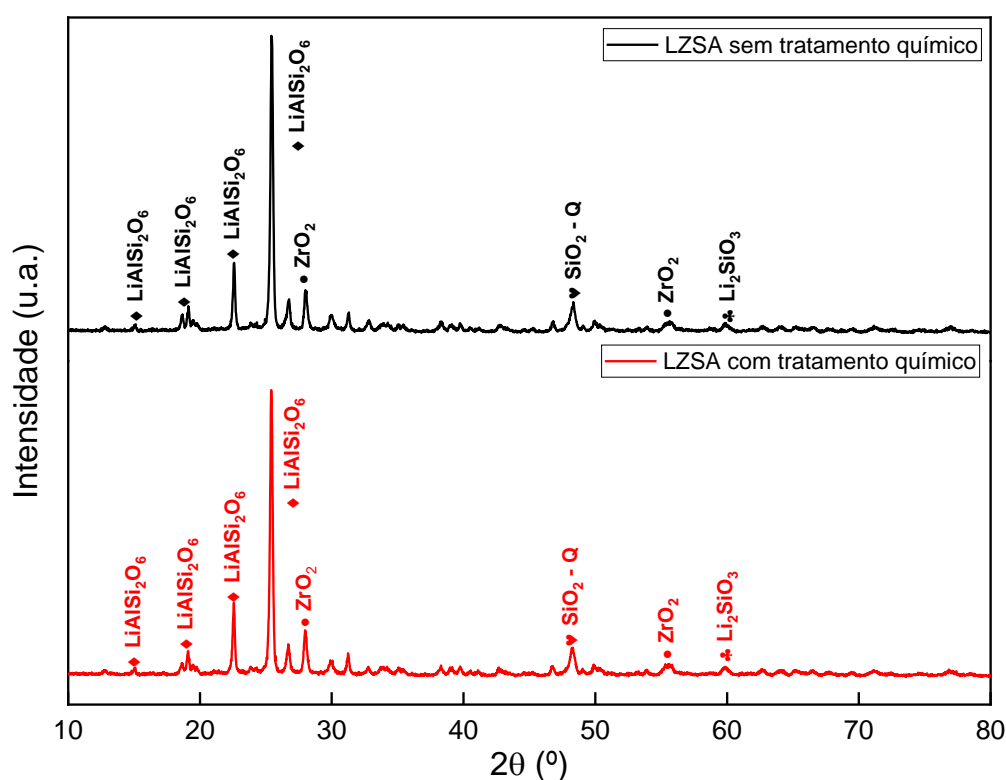
A Tabela 3 evidencia que as concentrações de 2 e 4% em volume de ácido fluorídrico não são adequadas para a obtenção de *scaffolds* com porosidade apropriada, destinados a servir como suporte mecânico para a inoculação de um fármaco, mesmo mediante ajustes nos tempos de tratamento químico. Observou-se que a concentração mais eficaz na abertura dos poros superficiais foi de 6% em volume de ácido fluorídrico, com um tempo de exposição do material de 40 s na solução ácida. Um período de 20 s não se mostrou suficiente, enquanto 60 s foi considerado excessivo, apresentando potenciais riscos quando aplicado a seres humanos, devido à absorção significativa de flúor. Para neutralizar a ação do ácido, foi realizada a lavagem de cada amostra com água deionizada, seguida por uma solução aquosa de carbonato de cálcio e, por fim, uma solução aquosa de hidróxido de sódio. As análises microestruturais (Figura 12) indicam que o resultado mais promissor para a obtenção do *scaffold*, com poros adequados para a inoculação do medicamento, foi obtido pela lavagem da amostra com solução aquosa de carbonato de cálcio.

#### **4.1.2 Análise estrutural**

Ao realizar um tratamento químico em vitrocerâmico, é possível que ocorram alterações na estrutura cristalina do material. Isso pode incluir a formação de novas fases cristalinas, transformação de fases existentes, modificação na orientação cristalina ou até mesmo dissolução parcial ou total da fase amorfa presente e de parte da fase cristalina formada. Essas alterações na estrutura cristalina podem ser observadas na análise de DRX. Ao se comparar

os padrões de difração de raios X antes e depois do tratamento químico, é possível identificar mudanças estruturais, indicando alterações na estrutura cristalina do vitrocerâmico. A Figura 10 mostra o resultado de DRX do vitrocerâmico LZSA sem o tratamento químico e com tratamento químico.

Figura 10 - DRX do vitrocerâmico LZSA sem o tratamento químico e com tratamento químico.



Fonte: Autora, 2024.

Com base nas informações provenientes do ICSD, foram discernidas as seguintes fases cristalinas: espodumênio- $\beta$  ( $\text{LiAlSi}_2\text{O}_6$ ), óxido de zircônio ( $\text{ZrO}_2$ ), metassilicato de lítio ( $\text{Li}_2\text{SiO}_3$ ), dissilicato de lítio ( $\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ ) e quartzo ( $\text{SiO}_2$ ). Esses resultados concordam com os relatados por Montedo *et al.* (2021). Na Tabela 4, as fases são quantificadas por meio do método *Rietveld*.

Conforme apresentado na Tabela 4, tanto o LZSA não submetido a tratamento químico quanto o LZSA tratado quimicamente são predominantemente constituídos pela fase cristalina de espodumênio- $\beta$

(LiAlSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>). O tratamento químico reduz significativamente a quantidade da fase amorfa, pois ácidos fortes dissolvem materiais vítreos (Iliescu *et al.*, 2005).

Tabela 4 - Quantificação pelo método de Rietveld do LZSA tratado e não tratado quimicamente (m%)

	ICSD card	LZSA não tratado quimicamente	LZSA tratado quimicamente
ZrO <sub>2</sub>	18190	6,3	7,3
LiAlSi <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	14235	50,0	51,5
Li <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	28192	3,6	4,5
Li <sub>2</sub> Si <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	67110	6,5	6,0
SiO <sub>2</sub> – Q	100078	2,8	3,3
<b>Amorfo</b>		<b>30,8</b>	<b>27,4</b>
<b>GOF</b>		<b>5,7</b>	<b>5,3</b>

GOF: *Goodness of Fit*

Fonte: Autora, 2024.

Essa redução da fase vítrea é benéfica neste caso, pois a formação de fases cristalinas de lítio (LiAlSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, Li<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> e Li<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) auxilia no controle da entrega de íons de lítio no meio (Jaeger, 2003) quando presentes na fase amorfa; os íons ficam então mais disponíveis para sofrer troca iônica. A presença do lítio como íon bioativo pode aumentar a ação do material em nível celular, acelerando assim a deposição de hidroxiapatita em vitrocerâmicas bioativas (Possolli *et al.*, 2021). No entanto, certas doses de lítio podem ser tóxicas para os seres humanos, porém o lítio fica menos disponível quando mais fases cristalinas à base de lítio, como o espodumênio-β, forem formadas (Possolli *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2018). A diminuição do teor de amorfo contribui igualmente para a formação de estruturas porosas na superfície do vitrocerâmico, uma vez que o ácido fluorídrico tem a capacidade de gerar microrrugosidades, por meio da dissolução da porção vítrea remanescente no material vitrocerâmico (Vallet-Regí; Balas; Arcos, 2007; Wang *et al.*, 2015; Xia *et al.*, 2022).

### 4.1.3 Análise de área superficial específica e isoterma de adsorção

Os *scaffolds* destinados a aplicações em engenharia tecidual devem apresentar não apenas propriedades de condução óssea, mas também características osteoindutivas ou osteogênicas (Matsunaka; Frantz, 2021). Para atingir tais requisitos, a porosidade emerge como um fator crucial. Idealmente, almeja-se poros interconectados que permitam a difusão e migração celular, microporosidade para oferecer uma ampla área de superfície propícia às interações entre células e *scaffolds*, e macroporosidade para facilitar a migração celular e vascularização. O dimensionamento dos poros deve ser adaptado para abranger o tecido e as células-alvo, garantindo uma porosidade suficiente para promover o crescimento celular interno, sem comprometer as propriedades mecânicas do *scaffold*. Além disso, a inclusão de canais vasculares embutidos visa aprimorar a angiogênese *in vivo* (Matsunaka; Frantz, 2021).

Na Tabela 5 são apresentados os resultados do ensaio da área de superfície específica (BET) das amostras de vitrocerâmico sem tratamento químico. Pode-se observar também o volume (VP) e o diâmetro dos poros ( $D_{\text{poros}}$ ).

Tabela 5 - Análise BET e BJH amostras sem tratamento químico

Amostra	T (°C)	t (h)	$A_{\text{BET}}$ (m <sup>2</sup> /g)	VP (cm <sup>3</sup> /g)	$D_{\text{poros}}$ (nm)
Vidro	-	-	0,172	0	-
700-2	700	2	0,090	0,001	ND
700-4	700	4	0,170	0,001	4,149
725-2	725	2	0,043	0,001	4,197
725-4	725	4	0,924	0,003	4,214
750-2	750	2	0,715	0,001	4,288
750-4	750	4	0,072	0,000	4,284
725-3	725	3	0,820	0,002	4,194

N.D - não determinado.

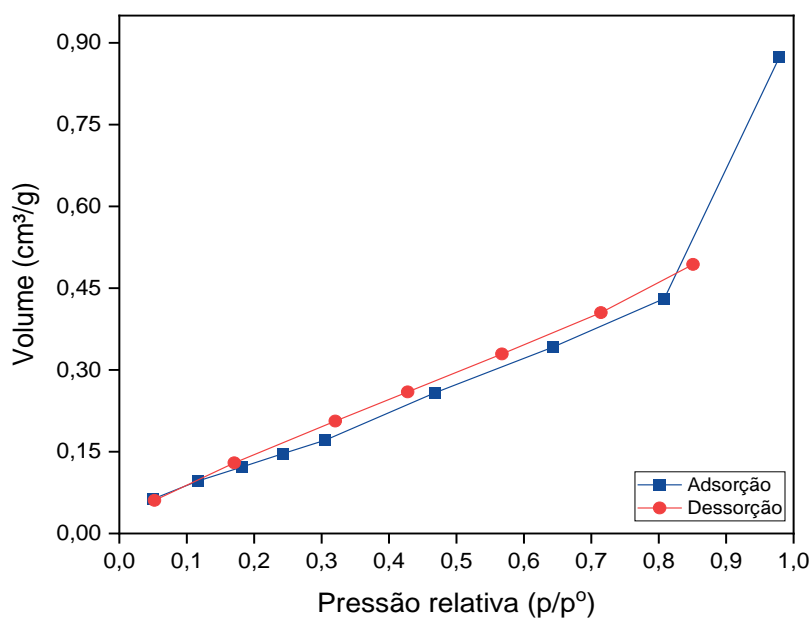
Fonte: Autora, (2024).

A partir dos resultados da Tabela 5, foi possível observar o aumento da área superficial específica de 0,172 m<sup>2</sup>/g (vidro) para 0,820 e 0,924 m<sup>2</sup>/g, respectivamente referentes aos vitrocerâmicos obtidos a 725 °C por 3 e 4 h. Com o aumento da temperatura, a área superficial específica diminuiu, provavelmente devido à densificação do material (Montedo *et al.*, 2009; Montedo; Floriano; Filho, 2011).

O diâmetro dos poros manteve-se em torno de 4 nm em todos os tratamentos térmicos realizados. Durante o processo de resfriamento rápido de um material vítreo, as moléculas não dispõem de tempo suficiente para se organizar em uma estrutura cristalina. Conseqüentemente, os vidros apresentam uma estrutura mais homogênea e tendem a exibir uma menor quantidade de poros (Vakifahmetoglu; Semerci; Soraru, 2020). Dessa forma, a amostra 725-3, submetida a um tratamento térmico de 725 °C por 3 h, destacou-se como a de melhores resultados e características, considerando a cristalização do material. Essa amostra foi escolhida para dar continuidade aos tratamentos químicos, visando a identificação da melhor condição para a obtenção do *scaffold*.

A análise de BET e BJH foi conduzida na amostra com a condição selecionada. Os ensaios BET e BJH oferecem informações quantitativas acerca da área superficial e da distribuição de poros. Os resultados dessas análises para as amostras submetidas ao ataque químico, ou seja, o *scaffold* propriamente dito, indicam que a área superficial específica e o raio dos poros são 1,665 m<sup>2</sup>/g e 2,2 nm, respectivamente. O volume dos poros é de 0,003 cm<sup>3</sup>/g. De acordo com a classificação IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), os poros das amostras LZSA tratadas quimicamente são classificados como mesoporos (Mccusker; Liebau; Englehardt, 2003).

Figura 11 exibe as isotermas de adsorção-dessorção da amostra tratada quimicamente, as quais podem ser classificadas como tipo IV, indicando que os poros são considerados canais cilíndricos com distribuição estreita de tamanhos (Rahman *et al.*, 2019). Essa distribuição de mesoporos está em concordância com resultados previamente encontrados na literatura, reforçando a viabilidade da vitrocerâmica como um *scaffold* para carregamento de fármacos (Fernandes; Correia, 2015; Vallet-Regi *et al.*, 2007).

Figura 11 - Isotermas de adsorção-dessorção do *scaffold* LZSA

Fonte: Autora, 2024.

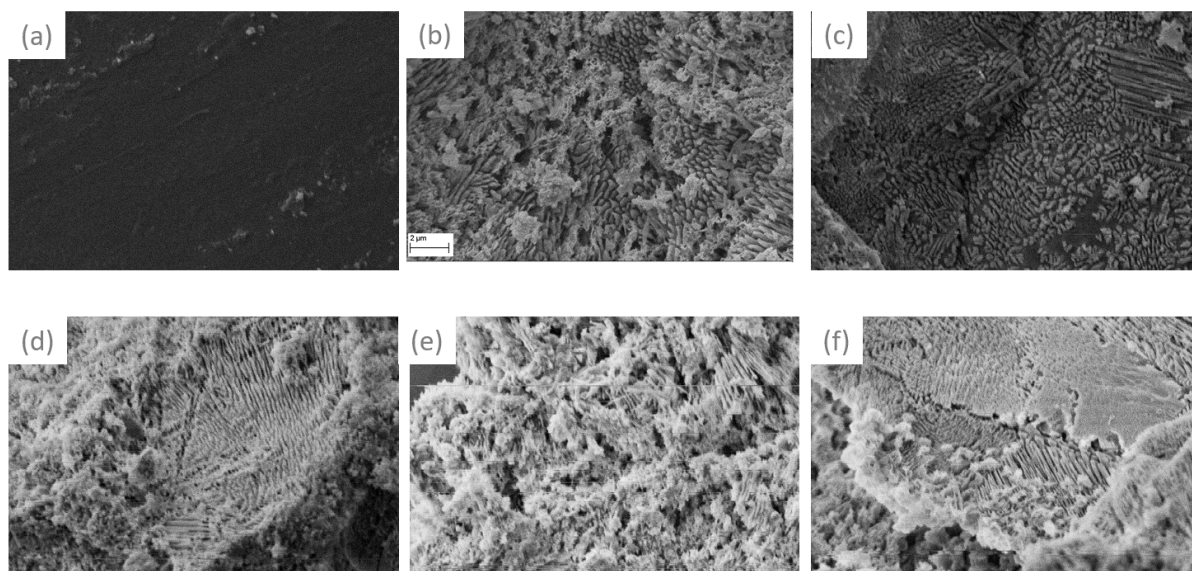
#### 4.1.4 Análise morfológica

A análise microestrutural obtida com tal porosidade pode ser observada na Figura 12. Elas mostram as imagens obtidas por MEV da microestrutura do vidro e do vitrocerâmico atacado quimicamente em diferentes condições de ataque químico.

A Figura 12(a) não mostra poros superficiais aparentes, já que a superfície do vidro é lisa e uniforme (Vakifahmetoglu; Semerci; Soraru, 2020). Nas demais imagens, é possível observar a presença de estruturas colunares geradas na cristalização e reveladas pelo processo de ataque químico (Montedo *et al.*, 2021). Analisando-se as imagens obtidas das diferentes condições de ataque, é possível concluir que a melhor condição é a que corresponde ao tratamento químico com 6% volume de HF durante 40 s e lavado com água deionizada e  $\text{CaCO}_3$ , como ilustrada na Figura 12(b), pois apresenta maior quantidade de poros na sua superfície; o diâmetro dessas estruturas porosas foi estimado em 200 nm e com espaçamento entre colunas de aproximadamente 100 nm, esses resultados relacionados com os resultados das análises de BET e BJH confirmam que a amostra com 6% volume de HF e lavada com  $\text{CaCO}_3$

(HF/6/40/H<sub>2</sub>O/CaCO<sub>3</sub>) foi a que se mostrou promissora como *scaffold* carreador de medicamento.

Figura 12 - Imagens de MEV da superfície de: (a) vidro LZSA, (b) HF/6/40/H<sub>2</sub>O/CaCO<sub>3</sub>, (c) HF/HCl/6/40/H<sub>2</sub>O/CaCO<sub>3</sub>, (d) HF/HCl/6/40/H<sub>2</sub>O/NH<sub>4</sub>OH, (e) HF/6/60/H<sub>2</sub>O e (f) HF/6/40/H<sub>2</sub>O



Fonte: Autora, 2024.

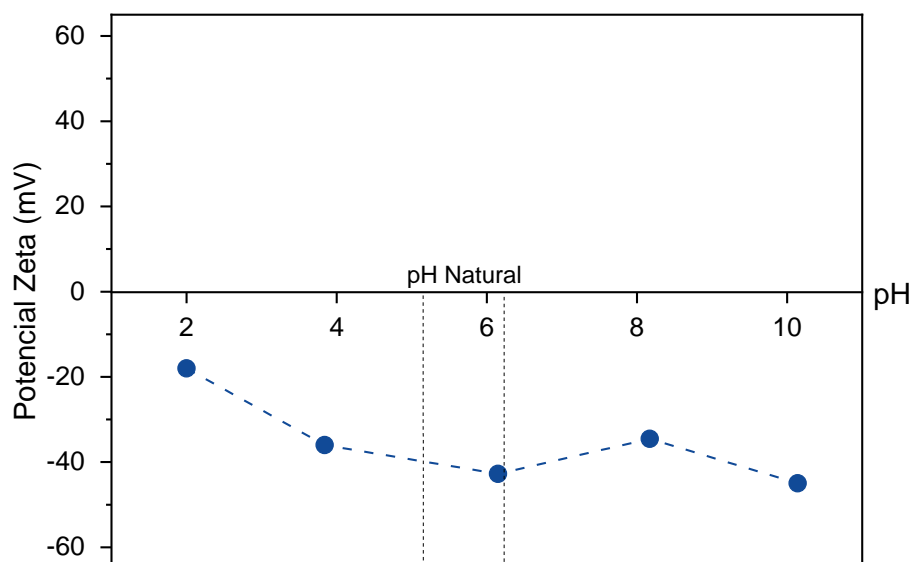
#### 4.1.5 Potencial Zeta

Com o intuito de avaliar a estabilidade coloidal em meio líquido, procedeu-se à análise do potencial zeta ( $\zeta$ ) dos *scaffolds* em diferentes faixas de pH (2-10) para determinar sua carga superficial. O potencial zeta de suspensões diluídas de vidro original LZSA foi inicialmente estudado para assegurar estabilidade coloidal melhorada. A Figura 13 mostra a variação do potencial zeta em função do pH para suspensões diluídas do vidro original LZSA.

A estabilidade coloidal costuma ser atingida quando os valores de potencial zeta encontram-se abaixo de -30 mV ou acima de +30 mV (Moreno, 2005). A Figura 13 revela que os resultados indicaram que em condições de pH neutro (pH 6), as amostras apresentaram valores mais pronunciados de potencial zeta, aproximadamente -40 mV. Esses achados sugerem que, em pH 6, ou seja, em solução aquosa, os *scaffolds* estão efetivamente dispersos,

proporcionando condições otimizadas para a incorporação de medicamentos em sua estrutura.

Figura 13 - Curvas de potencial Zeta para os *scaffolds*



Fonte: Autora, 2024.

Possolli *et al.* (2022) investigaram a vitrocerâmica do sistema LZS, semelhante a vitrocerâmica LZSA. Em sua pesquisa, observou-se que os valores do potencial zeta são reduzidos nos valores de pH 2 e 4. Além disso, o ponto isoelétrico, indicativo do estado em que uma superfície atinge carga neutra, foi identificado no pH 3 para o pó de vidro LZS. Dessa forma, a estabilidade da suspensão só pode ser alcançada em condições básicas de pH. O comportamento do vitrocerâmico LZSA é bem similar ao do LZS, conforme mostra os resultados na Figura 13.

Os materiais vítreos desenvolvem uma superfície hidratada quando expostos a soluções aquosas. A adsorção de  $\text{OH}^-$  ou  $\text{H}^+$  durante a ionização propicia a formação de dois sítios  $\text{SiOH}$ , resultando em configurações  $-\text{SiO}^-$  ou  $\text{SiOH}^{+2}$ , influenciando a carga superficial final e o pH. É importante destacar que todos os vidros podem experimentar uma leve dissolução ao serem descartados em soluções aquosas. A dissolução do vidro em água implica a ruptura das ligações de oxigênio do silício na estrutura vítrea por meio de reações com água e elementos alcalinos. Conforme indicado por Arcaro *et al.* (2016), a presença

de água remove alguns íons de lítio do vidro, levando à formação de íons hidratados com elevada radiação iônica, resultando em envelhecimento e repulsão entre as partículas. Essa configuração gera uma camada espessa o bastante para inibir ou afetar a atração das forças de Van der Waals, como evidenciado por altos valores de potencial zeta, atuando como um agente dispersante para as partículas de vidro.

Em conclusão, sobre a obtenção de *scaffolds*, os estudos realizados evidenciam a importância crítica da porosidade e da estrutura cristalina na concepção de *scaffolds* eficazes para aplicações em engenharia tecidual. A análise detalhada das propriedades dos materiais, incluindo o diâmetro dos poros e a distribuição mesoporosa, por meio de técnicas como BET e BJH, revelou que a amostra 725 °C e 3 h, submetida a um tratamento térmico específico, apresentou características promissoras. Os resultados da análise de BET e BJH indicaram uma área superficial específica de 1,665 m<sup>2</sup>/g, um raio de poro de 2,2 nm e um volume de poro de 0,003 cm<sup>3</sup>/g para a amostra tratada quimicamente, classificada como mesoporos conforme a IUPAC. A presença de mesoporos, aliada à distribuição estreita de tamanhos de poros, sugere que a vitrocerâmica desenvolvida pode servir como um *scaffold* apropriado para aplicações biomédicas, destacando-se como um potencial carreador de fármacos. Esses achados não apenas corroboram com as tendências observadas na literatura, mas também fornecem uma base sólida para avanços adicionais na otimização de *scaffolds* para engenharia tecidual, onde propriedades como porosidade, estrutura cristalina e capacidade de carregamento de fármacos são essenciais.

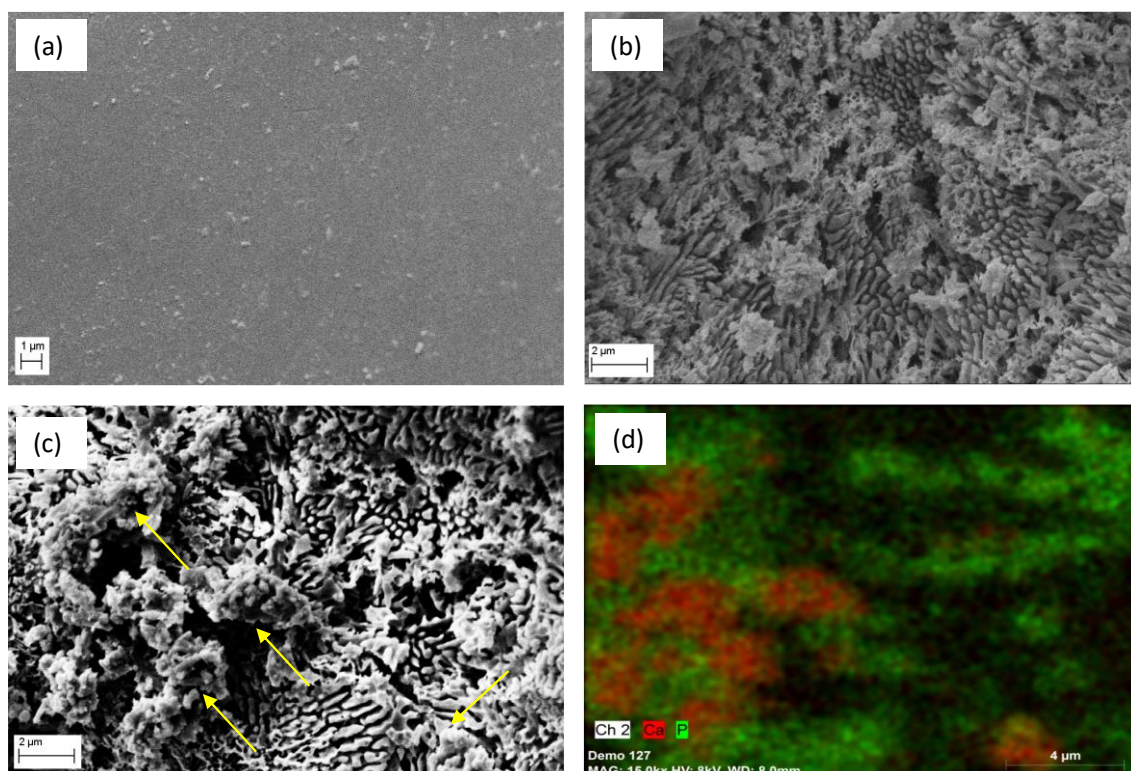
#### 4.2 COMPREENSÃO DO MECANISMO DE DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA: BIOATIVIDADE

A compreensão minuciosa do mecanismo de deposição da hidroxiapatita desempenha um papel fundamental no avanço dos materiais biomédicos com características bioativas. A capacidade de controlar e direcionar esse processo é essencial para otimizar a integração do biomaterial com o tecido biológico, impulsionando assim a regeneração e a proliferação celular óssea (Abbasi *et al.*, 2020).

### 4.2.1 Análise morfológica

Na Figura 14 são apresentadas imagens morfológicas do *scaffold* de LZSA, sujeito a tratamentos térmicos e químicos predefinidos, seguido por imersão em fluido corpóreo simulado (SBF). A Figura 14 mostra uma comparação entre o vidro LZSA, o vitrocerâmico a 725 °C por 3 h e o *scaffold* após imersão em SBF, incluindo também uma análise de EDS que confirma a deposição de compostos de fósforo e cálcio.

Figura 14 - Imagens MEV de (a) vidro LZSA, (b) LZSA tratado termicamente e quimicamente, (c) LZSA tratado quimicamente e imerso em SBF por 28 dias indicando a formação de fosfato de cálcio e (d) EDS do LZSA tratado quimicamente e imerso em SBF mostrando Ca e P



Fonte: Autora, 2024.

Na Figura 14(a), a ausência de poros superficiais é consistente com a natureza não porosa do vidro, como esperado (Vakifahmetoglu; Semerci; Soraru, 2020). Contrastando, na Figura 14(b), observa-se porosidades em uma estrutura cristalina colunar, com um diâmetro de colunas estimado em 200 nm e um

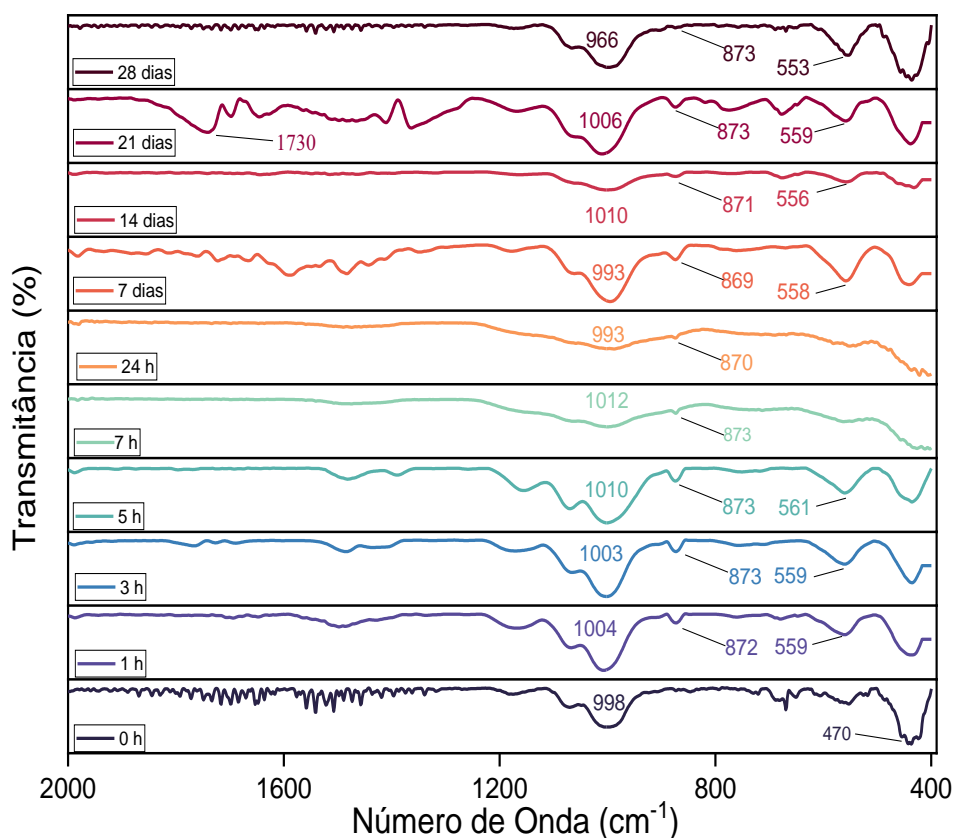
espaçamento de aproximadamente 100 nm. Esta configuração é resultado do processo de cristalização e foi revelada por meio do ataque químico, sendo uma microestrutura similar à obtida por Montedo *et al.* (2021). Identifica-se a presença de macroporos (>50 nm) e mesoporos (2 ~ 50 nm) na Figura 14(b), uma vez que ambas as características são desejáveis em um *scaffold*. Os poros maiores desempenham um papel crucial ao permitirem a infiltração de células, vasos sanguíneos e tecido extracelular, fomentando a vascularização e a regeneração tecidual (Yazdimamaghani *et al.*, 2014). Além disso, a macroporosidade facilita a difusão de nutrientes (König *et al.*, 2018). Por sua vez, a mesoporosidade, com uma faixa intermediária de tamanhos de poros, pode influenciar na adsorção e entrega de componentes bioativos, como fármacos, enquanto proporciona uma área superficial maior para interação com células ósseas, favorecendo a osseointegração (König *et al.*, 2018; Vallet-Regí; Balas; Arcos, 2007; Salinas; Vallet-Regí, 2007; Wang *et al.*, 2015). As Figuras 14(c) e 14(d) apresentam imagens de MEV dos *scaffolds* LZSA, ou seja, da vitrocerâmica LZSA tratada quimicamente, após imersão na solução de SBF por 28 dias. A superfície da amostra mostra-se relativamente rugosa, indicando lixiviação nas superfícies de vidro devido ao contato com a solução de SBF e subsequente troca iônica. As propriedades morfológicas e texturais do biomaterial sugerem que a imersão em SBF resulta na formação de uma camada de apatita na superfície das amostras. As estruturas globulares presentes na Figura 14(c) são características da hidroxiapatita, confirmadas na Figura 14(d) pelo perfil EDS, revelando a presença de Ca e P, e, por conseguinte, a formação de apatita.

#### 4.2.2 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

A aplicação do FTIR (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier) revela-se uma ferramenta de grande utilidade na avaliação da presença de hidroxiapatita. A hidroxiapatita exibe uma estrutura cristalina distinta, composta por grupos funcionais que manifestam modos de vibração específicos. Essas vibrações podem ser discernidas e analisadas por meio da espectroscopia de infravermelho, identificando a presença de fosfatos e carbonatos. Para avaliar a existência de grupos funcionais associados a apatitas ou hidroxiapatita, empregou-se a técnica de espectroscopia de infravermelho por

transformada de Fourier (FTIR). A Figura 15 exibe os resultados obtidos a partir da análise de dez amostras após imersão em SBF por diferentes períodos: 0, 1, 3, 5, 7 e 24 h, e 7, 14, 21 e 28 dias.

Figura 15 - FTIR das amostras imersas nos tempos: 1, 3, 5, 7 e 24 h e 7, 14, 21, e 28 dias



Fonte: Autora, 2024.

Em todas as amostras, é possível identificar os grupos característicos de carbonato e fosfato, indicativos da formação de hidroxiapatita (Kazarian *et al.*, 2004). Em uma pesquisa anterior, foi conduzido um estudo sobre a biocompatibilidade do vitrocerâmico LZS (Li<sub>2</sub>O-ZrO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub>). Nesse contexto, amostras do material foram submetidas ao SBF, resultando na formação de hidroxiapatita, como evidenciado após um período de 14 dias (Possolli *et al.*, 2021). Esses resultados foram determinados pela presença de dois picos principais relacionados à formação de fosfatos em aproximadamente 605 e 560 cm<sup>-1</sup>. Esta analogia também pode ser aplicada aos sistemas vitrocerâmicos do sistema LZSA, conforme demonstram os resultados dos ensaios desse trabalho,

ou seja, a fase formada foi na mesma faixa de comprimento de onda. Não foram encontradas diferenças significativas na biocompatibilidade entre os sistemas LZS e LZSA nos estudos consultados.

A amostra não imersa ( $t = 0$ ) apresenta picos em  $470\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes à ligação Si–O–Si, e em  $1095\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento da ligação Si– e ligação O–Si. Após 1 h de exposição em SBF, forma-se um pico a  $873\text{ cm}^{-1}$  referente ao  $\text{CO}_3^{2-}$  e um pico a  $1720\text{ cm}^{-1}$  aos 21 dias, atribuído ao alongamento da ligação C–O no grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  (Fernandes *et al.*, 2018).

A partir de 1 h de incubação em SBF, nota-se um pico a  $570\text{ cm}^{-1}$  que é atribuído ao modo vibracional  $\text{PO}_4^{3-}$  (Liu *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2005). A presença desses picos nos espectros de FTIR indica a formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada (HCA) bem cristalizada na superfície do vitrocerâmico (Gheisari; Karamian; Abdellahi, 2015). Geralmente, as bandas na região de  $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos grupos  $\text{HPO}_4^{2-}$ , mas neste caso estão sobrepostas pela ligação Si–O–Si (Kazarian *et al.*, 2004) oriundas do vidro.

Além disso, os resultados mais promissores foram observados nas amostras imersas em *Simulated Body Fluid* (SBF) por um período de 21 dias. Este achado reforça a clara formação de hidroxiapatita na matriz vitrocerâmica, conferindo ao material um potencial significativo para acelerar o processo de cicatrização óssea.

A estrutura colunar obtida do material e sua alta porosidade após tratamentos térmico e químico também destacam o grande potencial da vitrocerâmica LZSA para uso como *scaffolds* na administração controlada de medicamentos.

#### **4.2.3 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES (Al, Zr, Si)**

A dissolução de íons em biomateriais emerge como um aspecto crítico a ser minuciosamente considerado durante a pesquisa e desenvolvimento desses materiais, dada a sua estreita relação com a citotoxicidade e sua influência na formação de apatitas e bioatividade. O *scaffold* de LZSA, reconhecido por sua composição rica em íons de lítio (Li), zircônio (Zr), alumínio (Al) e silício (Si),

predominantemente presentes em fases cristalinas, bem como em teor de amorfo, foi submetido a análises detalhadas da entrega de íons em soluções TRIS-HCl após 7 e 28 dias, conforme detalhado na Tabela 6.

Tabela 6 - Concentração iônica de Zr, Al e Si (Medidos por ICP-OES) em 7 e 28 dias de imersão em TRIS-HCl

Tempo de Imersão	Concentração iônica ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Al	Si	Zr
7 dias	<LD	0,49	<LD
	<LD	0,47	<LD
	<LD	0,47	<LD
Média	LD = 0,03	$0,48 \pm 0,01$	LD = 0,03
28 dias	<LD	1,08	<LD
	<LD	1,08	<LD
	<LD	1,07	<LD
Média	LD = 0,03	$1,08 \pm 0,00$	LD = 0,03

Fonte: Autora, 2024.

A entrega de íons de silício foi quantificada em  $0,48 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$  após 7 dias de imersão, aumentando para  $1,08 \pm 0,00 \mu\text{g/mL}$  após 28 dias. Importa salientar que a quantidade de silício liberada não exerce efeito adverso na compatibilidade com o organismo humano, dado que íons de silício são abundantemente presentes em regiões de crescimento ósseo, contribuindo para a regeneração e proliferação celular (Su *et al.*, 2023). O teor de silício liberado pelo *scaffold* desempenha um papel crucial na promoção da osteointegração e na formação de camadas de apatitas, conforme corroborado pelos resultados de microscopia (Figura 14) e espectroscopia FTIR (Figura 15) (Henstock; Canham; Anderson, 2015; Naidu *et al.*, 2023).

O íon alumínio, por sua vez, apresentou uma entrega abaixo do limite de detecção do equipamento ( $0,03 \mu\text{g/mL}$ ), conforme previamente esperado. Isso se deve à cristalização do alumínio no *scaffold* na forma de espodumênio ( $\text{LiAlSi}_2\text{O}_{12}$ ), não alcançando concentrações elevadas que possam afetar a compatibilidade do *scaffold* com o organismo humano (Araujo *et al.*, 2021; Chatzistavrou *et al.*, 2011). Da mesma forma, os íons de zircônio não

alcançaram concentrações significantes para conferir toxicidade ao *scaffold*; pelo contrário, o zircônio pode induzir a proliferação e diferenciação de osteoblastos (Ghosh; Sharma; Talukder, 1992).

A fase vítrea residual apresentou redução significativa após o tratamento químico, conforme destacado na Tabela 3. A diminuição do teor amorfo, resultante do contato da vitrocerâmica com ácido fluorídrico, assegura que a quantidade disponível de lítio não ultrapasse os limites estabelecidos para sua aplicação em contextos clínicos.

Concluindo, no contexto científico abordado, foram realizadas análises detalhadas da vitrocerâmica LZSA, especialmente em relação à sua interação com fluido simulado corporal (SBF). O estudo revelou que a imersão por 21 dias resultou nos melhores desempenhos, indicando a formação de hidroxiapatita e destacando a vitrocerâmica como promissora para acelerar a cicatrização óssea. A entrega controlada de íons, como silício, alumínio e zircônio, foi examinada, evidenciando-se a contribuição positiva do silício para a osteointegração, enquanto alumínio e zircônio permaneceram em níveis não tóxicos. Adicionalmente, a redução da fase vítrea após tratamento químico foi observada, consolidando a idoneidade da vitrocerâmica para aplicações biomédicas, com implicações significativas para a engenharia de *scaffolds* e biomateriais.

### 4.3 AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DE LÍTIO

A avaliação rigorosa da dissolução de lítio desempenha um papel crucial no desenvolvimento de formulações farmacêuticas eficazes e seguras. Esses estudos ajudam a otimizar a formulação, garantindo que os pacientes recebam doses consistentes e previsíveis do medicamento, contribuindo para uma terapia bem-sucedida e controlada. A entrega de lítio pode ser benéfica ou prejudicial, dependendo de sua concentração no plasma sanguíneo.

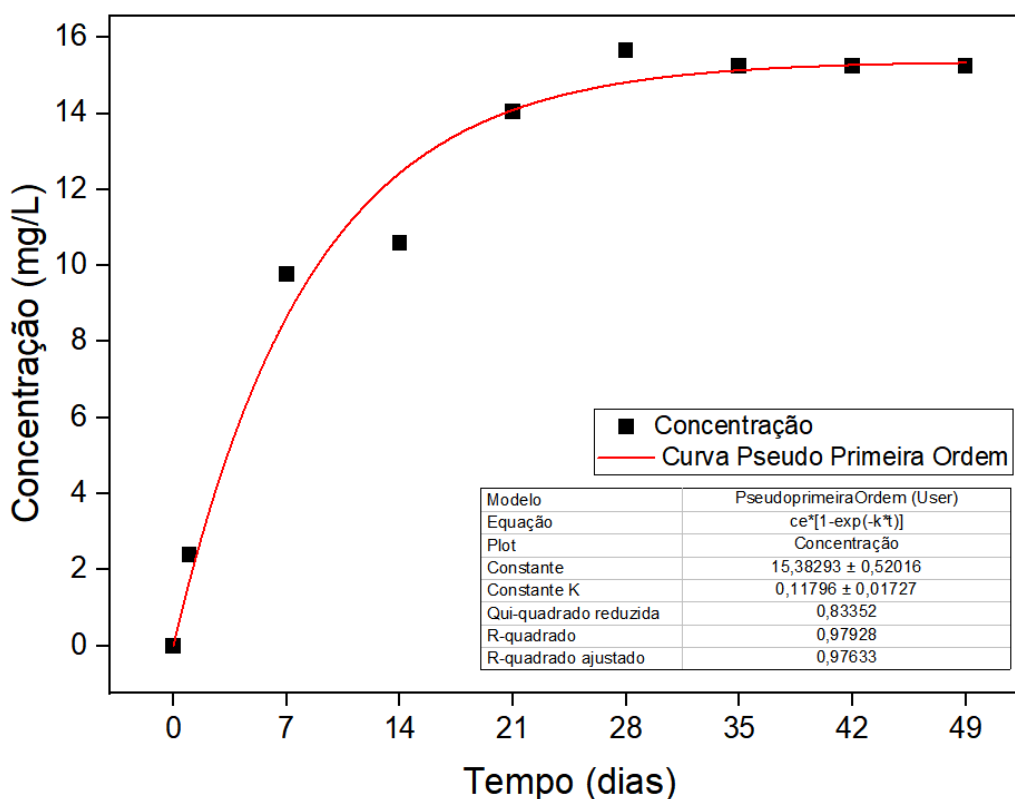
#### 4.3.1 Tris-HCl (tris(hidroximetil)aminometano) com ácido clorídrico

A cinética de entrega de lítio no *scaffold*, refere-se à taxa em que o lítio é liberado do material ao longo do tempo. Essa cinética pode ser influenciada por vários fatores, como a composição do biomaterial, as condições de

fabricação e as propriedades do meio em que o *scaffold* é colocado. Os estudos nesse campo geralmente envolvem a avaliação da influência de diferentes configurações na entrega de lítio, a fim de entender e controlar esse processo.

A Figura 16 exibe a curva cinética de entrega de lítio no *scaffold*, fornecendo uma referência visual para a dinâmica desse processo. A figura expressa a concentração em mg/L de lítio liberada no decorrer do tempo. Os tempos utilizados foram de 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias. Os resultados obtidos da entrega foram de 2,4 mg/L em 1 dia, 12,3 mg/L em 3 dias, 10,2 mg/L em 7 dias, 10,6 mg/L em 14 dias, 14,1 mg/L em 21 dias, 15,7 mg/L em 28 dias, 15,3 mg/L em 35 dias, 15,3 mg/L em 42 dias e 15,3 mg/L em 49 dias. O pico de entrega ocorre entre 21 e 28 dias; a partir daí a concentração de lítio liberado se estabiliza.

Figura 16 - Cinética de liberação de lítio no *scaffold*



Fonte: Autora, 2024.

A curva de pseudo primeira ordem é frequentemente utilizada em cinética química para descrever a taxa de uma ocorrência de primeira ordem. A curva de pseudo primeira ordem geralmente representa a variação da concentração de um reagente ao longo do tempo em uma ocorrência de primeira ordem (O'Shannessy; Winzor, 1996). Essa curva é caracterizada por uma diminuição exponencial da concentração do reagente com o tempo. Na cinética de entrega de substância, como o lítio em materiais, a curva de pseudo primeira ordem pode ser usada para modelar a taxa de entrega em função do tempo, assumindo um comportamento de entrega de primeira ordem. A Figura 16 apresenta um  $r^2$  ajustado de 0,97633, mostrando o caráter confiável do modelo usado na cinética.

Estudos anteriores mostram que a cinética de dissolução do lítio descreve o processo pelo qual este elemento é integralmente absorvido pelo trato gastrointestinal, em um intervalo aproximado de 8 h. O pico plasmático é alcançado entre 1 e 2 h após a administração de formulações convencionais, enquanto para as preparações de entrega lenta, esse pico ocorre em torno de 4 h. As formulações de entrega prolongada visam minimizar as concentrações plasmáticas máximas precoces do íon lítio. O lítio, após absorção, é inicialmente distribuído no líquido extracelular e, posteriormente, gradualmente acumulado em diversos tecidos, atravessando lentamente a barreira hematoencefálica. Observa-se uma distribuição preferencial do lítio para determinados tecidos. A ligação às proteínas plasmáticas é inferior a 10% (Baldessarini; Tarazi, 2005; Oliveira *et al.*, 2010).

Outras pesquisas mostram que a meia-vida de eliminação do lítio é de 18 h em adolescentes, 20 a 26 h em adultos e 36 h em idosos, permitiria o uso em dose única diária em qualquer forma farmacológica. Entretanto, a fim de evitar pico sérico acentuado, é administrado em doses menores de 12 em 12 h nas formas de entrega normal (Demétrio, 2005). O lítio é eliminado exclusivamente pelos rins, sendo livremente filtrado pelos glomérulos. Cerca de 80% do lítio filtrado é reabsorvido, de forma semelhante ao sódio, sendo que, em casos nos quais há diminuição do sódio, ocorre aumento da reabsorção do lítio, elevando seus níveis séricos. O lítio não sofre biotransformação (Demétrio, 2005; Oliveira *et al.*, 2010).

### 4.3.2 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES (Al, Zr, Si)

O perfil de entrega de lítio no *scaffold* de LZSA em 7 e em 28 dias de imersão em SBF é mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Análise de entrega de íons nos *scaffolds* LZSA

Tempo de imersão	Entrega de íons ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	Al	Si	Li	Zr
7 dias	<LD	0,49	9,36	<LD
	<LD	0,47	9,37	<LD
	<LD	0,47	9,35	<LD
Média	<b>LD = 0,03</b>	<b>0,48 <math>\pm</math>0,01</b>	<b>9,36 <math>\pm</math>0,01</b>	<b>LD = 0,03</b>
28 dias	<LD	1,08	15,30	<LD
	<LD	1,08	15,20	<LD
	<LD	1,07	15,30	<LD
Média	<b>LD = 0,03</b>	<b>1,08 <math>\pm</math>0,00</b>	<b>15,30 <math>\pm</math>0,05</b>	<b>LD = 0,03</b>

Fonte: Autora, 2024.

Observou-se um aumento na entrega de lítio ao longo do tempo de imersão, atingindo até 28 dias. O *scaffold* de LZSA apresentou concentrações de íons de lítio na solução próximas aos limites terapêuticos após 7 dias de imersão ( $9,36 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ ), e após 28 dias, a entrega permaneceu dentro dos parâmetros aceitáveis para o corpo humano ( $\leq 17,4 \mu\text{g/mL}$ ) (Aral; Vecchio-Sadus, 2008; Jaeger, 2003; Miguez-Pacheco *et al.*, 2016). A entrega de íons de lítio na amostra parece originar-se da fase vítrea presente na superfície do vitrocerâmico, sendo diretamente correlacionada ao vidro residual não cristalizado. A parte amorfa é capaz de realizar troca iônica com o meio, resultando na entrega de uma maior quantidade de íons (Aral; Vecchio-Sadus, 2008; Daguano *et al.*, 2019; Jaeger, 2003; Smith *et al.*, 1990). Entretanto, a fase vítrea residual não é diretamente exposta na superfície do *scaffold*, visto que a cristalização do LZSA é de natureza superficial (Montedo *et al.*, 2021) e a fase vítrea está predominantemente "encapsulada" por uma camada cristalina. Após tratamento químico, observou-se ainda uma redução na evidência do vidro residual, de acordo com o esperado, conforme indicado na Tabela 2. O teor de

material amorfo diminuiu após o contato do vitrocerâmico com o ácido fluorídrico, impedindo que os teores de lítio ultrapassassem os limites estabelecidos para uso humano, uma vez que uma parte da fase vítrea foi removida. A influência da dissolução do lítio nas fases cristalinas do *scaffold* continua a demandar investigação, dado que a distribuição de lítio entre as fases vítrea e cristalina permanece um aspecto ainda não elucidado.

Concluindo, o *scaffold* de LZSA revelou aumento gradual na entrega de lítio ao longo de 28 dias de imersão, mantendo-se dentro dos limites terapêuticos aceitáveis. A cinética de entrega, modelada pela curva de pseudo primeira ordem, apresentou um pico aos 21 dias, seguido de estabilização. A cinética de dissolução do lítio descreve sua absorção no trato gastrointestinal, atingindo pico plasmático entre 1 e 2 h após administração. A meia-vida de eliminação varia com a idade, permitindo o uso em dose única diária. Estes estudos fornecem informações cruciais para garantir a eficácia e segurança de formulações farmacêuticas contendo lítio.

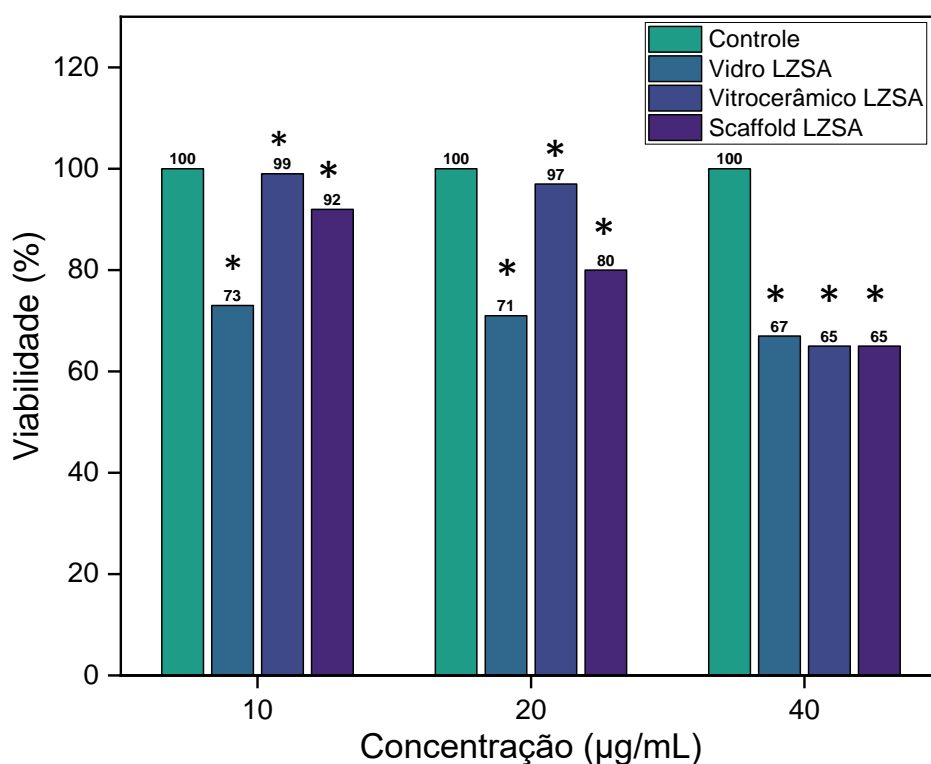
#### 4.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR

O vitrocerâmico LZSA possui um grande potencial para uso como *scaffolds* na entrega de fármacos, já que possui as características essenciais para que atue, como bioatividade, porosidade suficiente para incorporação de fármacos e caráter não tóxico, de acordo com os resultados apresentados anteriormente. No entanto, é absolutamente crucial conduzir ensaios voltados à avaliação da citotoxicidade em células, bem como à investigação do impacto sobre as células sanguíneas. A citotoxicidade e a hemocompatibilidade são parâmetros de suma importância no desenvolvimento de um *scaffold* eficiente. Certificar-se de que o material seja citocompatível representa um papel vital na prevenção de potenciais efeitos adversos no ambiente celular. Além disso, a realização do ensaio de hemocompatibilidade é essencial para garantir a plena compatibilidade do *scaffold* com o sistema sanguíneo, evitando reações prejudiciais como hemólise e coagulação.

#### 4.4.1 Ensaio de viabilidade celular (MTT)

A Figura 17 mostra os resultados da análise de Viabilidade Celular por MTT, ou seja, a citotoxicidade *in vitro* de diferentes concentrações em amostras de vidro, vitrocerâmico e *scaffold*. Nota-se que as amostras de vidro exerceram efeito citotóxico sobre as células NIH3T3 em todas as concentrações, matando em torno de 30% das células. Por sua vez, as amostras de vitrocerâmico apresentaram efeito citotóxico somente na concentração mais elevada, 40  $\mu\text{g/mL}$ , matando 35% das células, ou seja 65% são células viáveis, saudáveis que não morreram.

Figura 17 - Ensaio de citotoxicidade *in vitro* de diferentes concentrações (10, 20 e 40  $\mu\text{g/mL}$ ) do vidro, do vitrocerâmico e do *scaffold*



Fonte: Autora, 2024.

OBS: O \* indica as amostras que apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ), pelo teste t.

A mesma analogia se faz com o *scaffold*. No que se refere ao *scaffold*, os resultados foram de 92, 80 e 65,67%, respectivamente nas concentrações de

10, 20 e 40 µg/mL, com efeito citotóxico observado apenas na concentração mais elevada. Conforme estabelecido pela norma ISO 10993-5:2009, um material é considerado inadequado e prejudicial às células quando reduz a viabilidade em mais de 30% (ISO, 2009). Destaca-se que até 20% de morte celular é aceitável.

Nas concentrações mais elevadas, tanto o vidro quanto o vitrocerâmico e o *scaffold* apresentaram valores próximos a 66%, indicando provocarem complicações celulares nessa concentração, sugerindo, assim, a utilização de concentrações inferiores para aplicações biomédicas, em consonância com as diretrizes normativas.

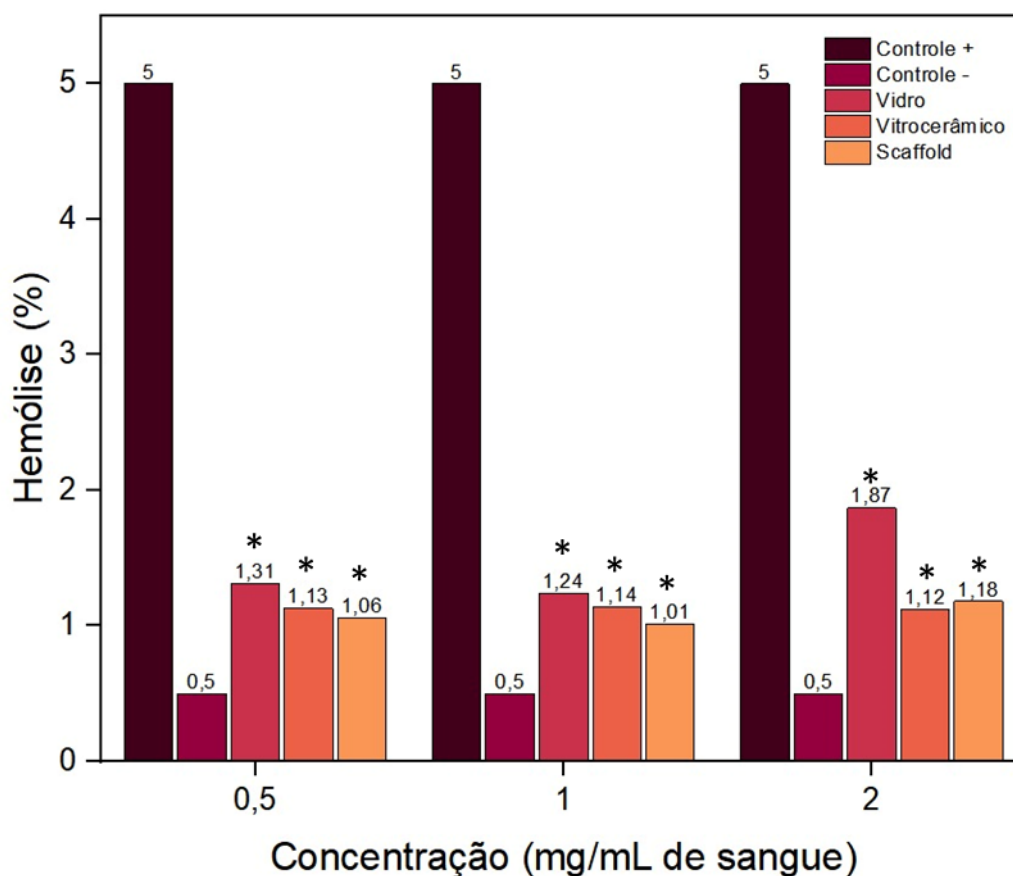
Os testes estatísticos foram conduzidos utilizando a análise de variância (One-way, ANOVA com teste posterior de Tukey-Kramer), utilizando o programa GraphPadPrism 8.0, com nível de significância definido como  $p < 0,05$ . Todas as amostras apresentaram significância estatística.

Estudos realizados por Possolli *et al.* (2021) mostraram a bioatividade de um sistema (LZS) composto por lítio ( $\text{Li}_2\text{O}$ ), zircônio ( $\text{ZrO}_2$ ) e dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), e os testes de citotoxicidade realizados mostraram que as substâncias foram eficazes nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1 mg/mL. Foi considerado não citotóxico. O LZSA é, com relação aos óxidos presentes, muito semelhante à vitrocerâmica LZS; a principal diferença entre as duas vitrocerâmicas é a presença de alumina no sistema LZSA. Comparando-se os resultados obtidos com esses materiais, ambas as vitrocerâmicas não danificam as células e não são prejudiciais à saúde humana em doses controladas. Esta descoberta é importante porque demonstra a bioatividade e segurança do LZSA.

#### **4.4.2 Teste de hemocompatibilidade**

A hemólise é definida como a destruição prematura das hemácias e pode ser definida com base nos níveis de destruição observados. Os materiais são classificados em três categorias distintas: materiais que resultam em mais de 5% de hemólise são classificados como hemolíticos e indicam uma significativa destruição de hemácias, entre 5 e 2% como levemente hemolíticos e abaixo de 2% como não hemolíticos, apontando que há pouca ou nenhuma capacidade de destruição de hemácias (Totea *et al.*, 2014). O ensaio de hemocompatibilidade pode ser observado na Figura 18.

Figura 18 - Teste de hemocompatibilidade dos compostos em diferentes concentrações (0,5, 1 e 2 mg/mL)



Fonte: Autora, 2024.

OBS: O \* indica as amostras que apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ), pelo teste t.

Nesse ensaio, nenhuma das amostras apresentaram efeito hemolítico nas concentrações de 0,5, 1 e 2 mg/mL de sangue. Vidro, vitrocerâmico e *scaffold* ficaram dentro dos limites ótimos de utilização e não influenciam na ruptura de eritrócitos (Henkelman *et al.*, 2009). Estudos anteriores investigaram a hemocompatibilidade de vários pós cerâmicos, como alumina e zircônia. Os resultados mostraram que a atividade hemolítica desses materiais foi inferior a 0,5%, sendo indicados em aplicações biomédicas (Dion *et al.*, 1993).

Em geral, as vitrocerâmicas e os vidros bioativos apresentam baixa lise de glóbulos vermelhos e apresentam potencial para uso em aplicações onde a angiogênese precisa ser promovida. Da mesma forma, o LZSA não apresentou hemólise significativa. Em outras palavras, tanto as vitrocerâmicas quanto os

vidros bioativos assim como o LZSA, não causam uma quantidade significativa de hemólise (destruição de glóbulos vermelhos do sangue). Isso sugere que esses materiais são considerados seguros nesse aspecto e podem ser utilizados em aplicações em que seja importante evitar danos às células sanguíneas, especialmente em situações em que a promoção da angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) seja desejada.

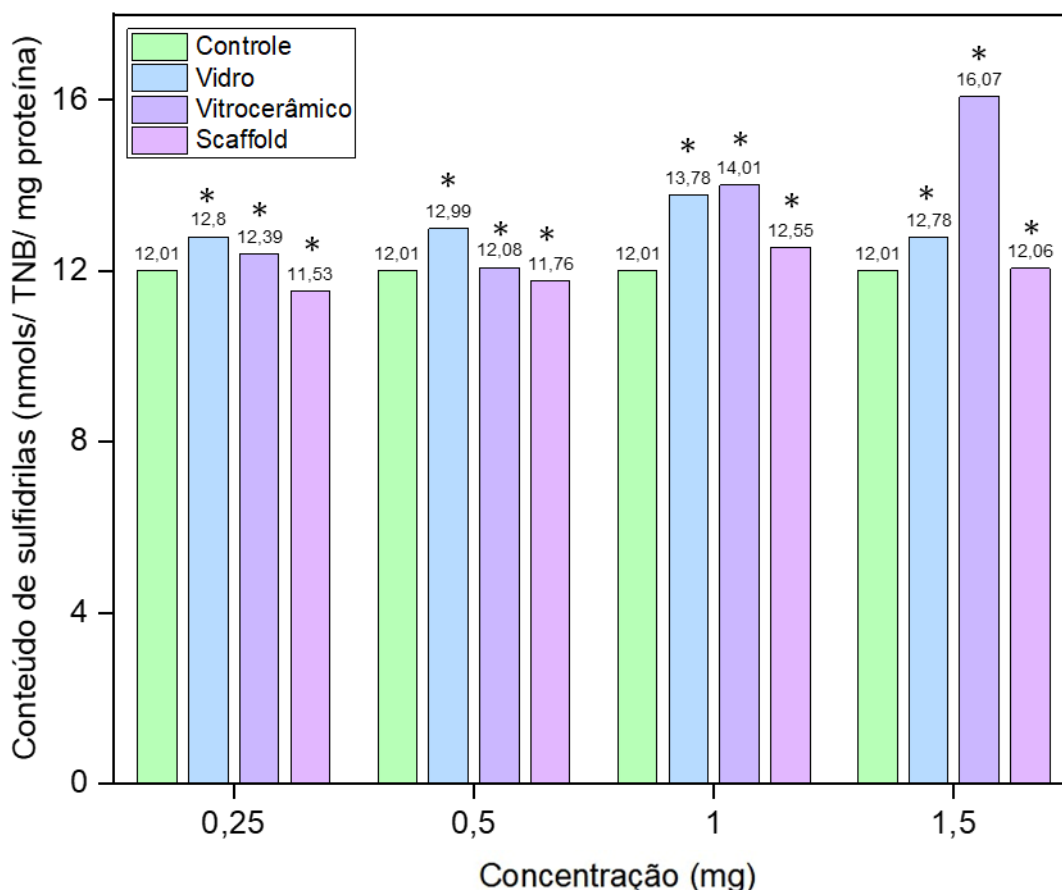
#### **4.4.3 Dano à proteína**

A atividade antioxidante desempenha um papel crucial na proteção das células e biomoléculas contra os danos causados pela oxidação. Os antioxidantes são substâncias que têm a capacidade de neutralizar os radicais livres, que são moléculas instáveis e altamente reativas que podem causar danos às células através da oxidação. Sua ação antioxidante está associada à sua capacidade de doar elétrons para neutralizar os radicais livres, protegendo assim as células contra danos oxidativos. A redução de grupos dissulfeto oxidados nas moléculas é uma parte importante do processo antioxidante. Os grupos dissulfeto (-S-S-) podem se formar através da oxidação de grupos tiol (-SH), que são comuns em muitas moléculas biológicas, como proteínas. A presença de antioxidantes permite que esses grupos dissulfeto sejam reduzidos de volta aos grupos tiol originais, restaurando assim a estrutura e a funcionalidade das moléculas (Barbosa *et al.*, 2010).

Grupos tiol desempenham papéis cruciais em diversas funções biológicas. Na regulação proteica participam na ativação ou desativação de proteínas em resposta a estímulos específicos. Na proteção contra estresse oxidativo, agem como antioxidantes naturais, protegendo células e moléculas contra danos oxidativos. Na integração de implantes, facilitam a interação de biomateriais com tecidos circundantes, contribuindo para angiogênese e regeneração tecidual. Na modulação de sinalização celular, influenciam positivamente as vias de sinalização celular, afetando o comportamento das células em torno do biomaterial. Na manutenção da função proteica, a preservação de grupos tiol em proteínas é crucial para manter sua estrutura e função, especialmente em ambientes de biomateriais (Barbosa *et al.*, 2010; Barreiros; David; David, 2006).

A Figura 19 apresenta os resultados da análise da formação de grupos tiol em amostras de vidro, vitrocerâmica e *scaffold*.

Figura 19 - Dano à proteína: conteúdo de sulfidrilas por mg de material



Fonte: Autora, 2024.

OBS: O \* indica as amostras que apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ), pelo teste t.

Neste ensaio, a redução das sulfidrilas nos grupamentos tiol, em comparação com o controle, é considerada como indicativa de dano proteico. O estresse oxidativo é caracterizado pela quebra das pontes de ligação e a subsequente diminuição dessa quantidade.

Os dados revelam que tanto o vidro quanto o vitrocerâmico, em todas as dosagens testadas, atuaram como agentes protetores da proteína, evidenciado pelo aumento na quantidade de grupamentos tiol, notadamente na dosagem de 1,5 mg no vitrocerâmico. Similarmente, o *scaffold* também exibiu esse

comportamento em concentrações de 1 e 1,5 mg, sendo ambas superiores ao controle. Esses resultados sugerem um efeito positivo desses materiais na preservação dos grupamentos tiol, indicando potencial capacidade antioxidante e protetora contra danos proteicos.

Em síntese, a avaliação de viabilidade celular indicou diferentes comportamentos em vidro, vitrocerâmico e *scaffold*, revelando efeitos citotóxicos distintos. O vidro demonstrou citotoxicidade em todas as concentrações, enquanto o vitrocerâmico apresentou melhor viabilidade em níveis mais baixos, exibindo citotoxicidade apenas na concentração mais elevada. O *scaffold* manteve alta viabilidade, com citotoxicidade apenas na concentração mais alta. A importância da consideração da toxicidade celular no desenvolvimento de materiais biomédicos foi destacada, juntamente com a significativa atividade antioxidante observada nos materiais, evidenciada pela proteção contra danos proteicos, indicando potencial para aplicações biomédicas promissoras.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ADSORÇÃO/DEPOSIÇÃO E ENTREGA DOS FÁRMACOS NOS SCAFFOLDS OBTIDOS

Embora os *scaffolds* de LZSA apresentem bioatividade, citotoxicidade e hemocompatibilidade interessantes, sua capacidade de impregnação de fármacos deve ser avaliada. Para escolher a melhor técnica para inoculação do medicamento, foram testadas as técnicas de inoculação por ultrassom e por impregnação com o corante azul de metileno. A aplicação de medicamentos por meio de ultrassom e imersão são duas técnicas distintas, cada uma com suas características e benefícios específicos. O ultrassom, geralmente utilizado em procedimentos terapêuticos, envolve a utilização de ondas sonoras de alta frequência para facilitar a penetração de medicamentos através da pele, promovendo uma absorção mais eficaz. Por outro lado, a técnica de imersão refere-se à submersão direta do paciente em soluções medicamentosas, proporcionando uma absorção através da pele por meio da exposição prolongada ao medicamento. Enquanto o ultrassom oferece uma entrega mais direcionada e rápida, a imersão pode ser vantajosa em casos nos quais uma absorção mais gradual é desejada. Cada abordagem tem seus próprios méritos,

sendo a escolha entre ultrassom e imersão determinada pela natureza específica do tratamento, características do paciente e os objetivos terapêuticos almejados.

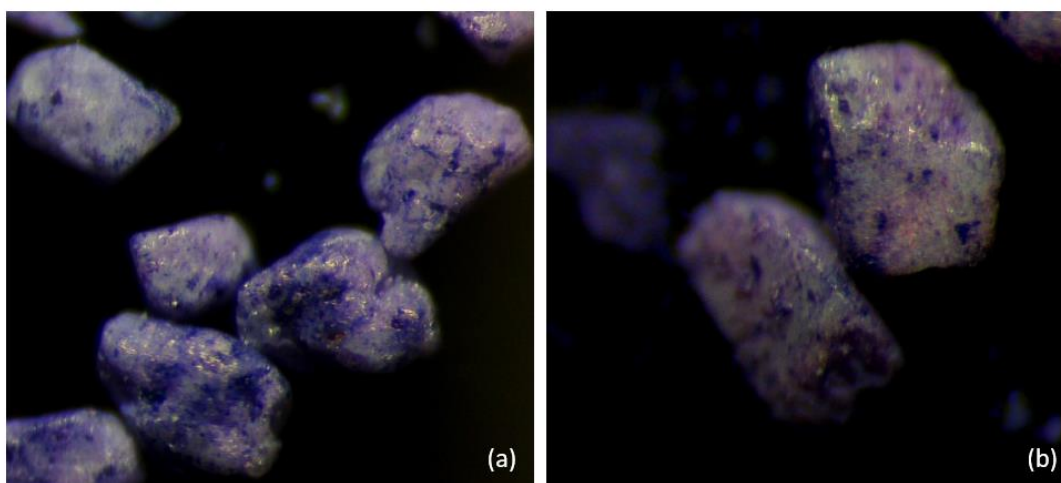
#### 4.5.1 Escolha da técnica de impregnação com corante azul de metileno

A escolha entre a técnica de impregnação de fármacos a ser usada neste trabalho foi realizada a partir de testes com emprego de azul de metileno, uma substância mais barata.

O azul de metileno é um corante amplamente utilizado em técnicas de coloração de materiais porosos. Ele possui a capacidade de penetrar nos poros e se adsorver nas superfícies internas do material, tornando-os visíveis. Ao combinar o azul de metileno em um vitrocerâmico com porosidade, o corante é absorvido nos poros, preenchendo-os e proporcionando uma coloração característica. Isso permite a visualização das características dos poros, mas principalmente analisar a capacidade do material de absorver e inserir o corante nos poros. Essa técnica foi utilizada para avaliar a capacidade do *scaffold* de absorver o medicamento.

A Figura 20 fornece uma comparação visual entre as duas abordagens, destacando as diferenças observadas nos processos de introdução do corante no *scaffold*.

Figura 20 - Microscopia óptica comparando grânulos de *scaffold* impregnados com azul de metileno por meio das técnicas: Imersão (a) e Ultrassom (b)



Fonte: Autora, 2024.

Ao se explorar as técnicas de imersão de medicamentos, nota-se uma diferença significativa ao se empregar a inoculação por ultrassom. Surpreendentemente, esta última técnica não revelou a eficácia esperada, pois a superfície dos materiais não exibiu a intensidade de coloração azul prevista.

Por meio da análise superficial dos grânulos por microscopia óptica, é possível se observar que a melhor retenção de corante ocorreu pela técnica de imersão, em que a superfície do *scaffold* se tornou mais uniformemente azul e com coloração mais acentuada.

Assim, a partir da análise das imagens da Figura 20, optou-se pela escolha do método de imersão por apresentar quantidades maiores de penetração de azul de metileno no *scaffold*.

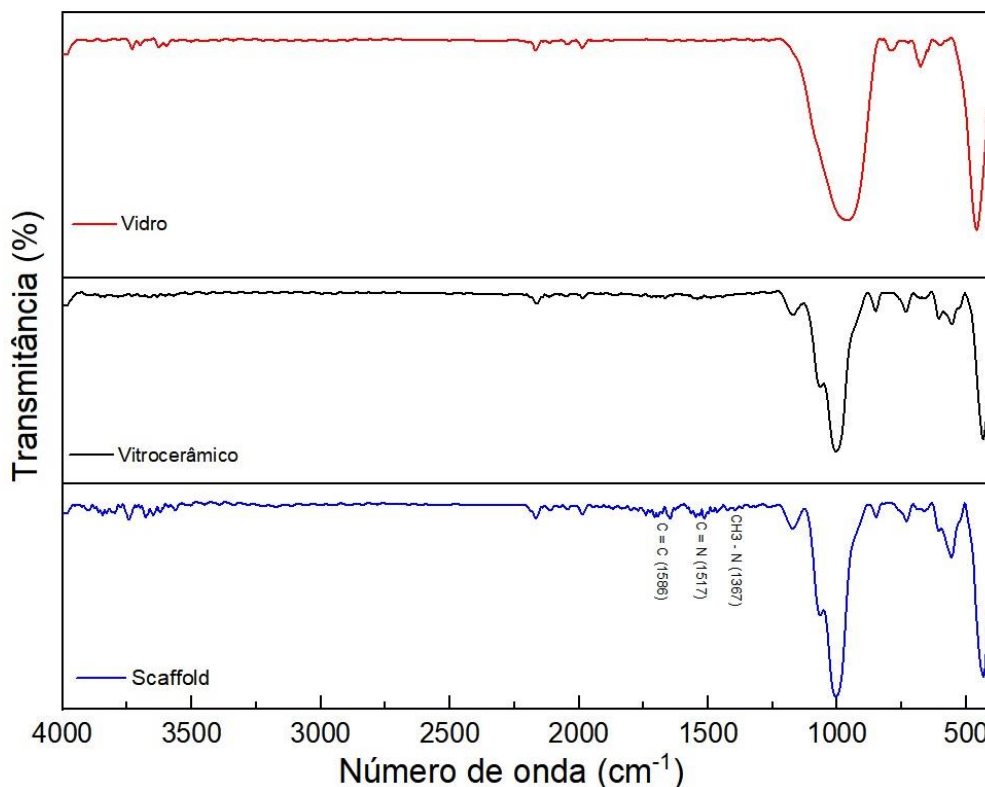
#### 4.5.1.1 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR)

Por meio da análise por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é possível identificar a impregnação de corante no material, devido à presença de grupos funcionais específicos do azul de metileno. Além disso, o uso do FTIR não apenas confirma a presença do corante, mas também permite avaliar o comportamento químico do material após o processo de impregnação.

A Figura 21 apresenta o espectro FTIR do *scaffold*, do vitrocerâmico e do vidro após imersão em uma solução de corante e água. Ao observar os dados da figura, fica evidente que a inoculação do corante no *scaffold* foi bem-sucedida, pois detecta-se a presença de grupos funcionais característicos do azul de metileno. Especificamente, observa-se a banda de  $1367\text{ cm}^{-1}$ , correspondente aos grupos metila ( $\text{CH}_3$ ), além de bandas em  $1517\text{ cm}^{-1}$  atribuídas à ligação  $\text{C}=\text{N}$  e em  $1586\text{ cm}^{-1}$  referentes à ligação  $\text{C}=\text{C}$ , todas associadas à estrutura química do corante.

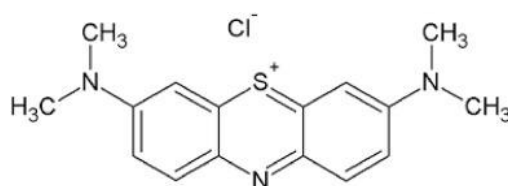
O azul de metileno é um composto aromático heterocíclico com estrutura planar, cuja fórmula molecular é  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{SCl}$ , conforme ilustrado na Figura 22 (Ong et al., 2005).

Figura 21 - FTIR do *scaffold*, vitrocerâmico e vidro contendo azul de metileno inoculado por imersão



Fonte: Autora, 2024.

Figura 22 - Estrutura química do corante azul de metileno



Fonte: Adaptado de Oladoye *et al.* (2022).

A análise espectroscópica confirma a presença desses grupos funcionais (C=C, C=N e CH<sub>3</sub>), que são indicativos da presença do corante impregnado nos poros do *scaffold* LZSA (Dutta, 2017; Patel; Vashi, 2015), reforçando que o método de imersão foi eficaz para promover a incorporação do azul de metileno nas estruturas porosas do material

A comparação entre os espectros do *scaffold*, vitrocerâmico e vidro imersos em solução de corante revela mudanças significativas nas intensidades das bandas, sugerindo interações específicas entre o azul de metileno e a

superfície porosa do scaffold. Essas interações podem ocorrer devido à capacidade dos poros do LZSA de adsorver moléculas do corante, facilitando a sua incorporação. Outro aspecto relevante é a ausência de novos picos significativos no espectro após a impregnação, o que indica que o processo não alterou quimicamente a estrutura da matriz vítrea, mantendo as propriedades fundamentais do material, ao mesmo tempo em que permite a funcionalização com o corante. Esse resultado é particularmente importante para aplicações que envolvem a liberação controlada de substâncias, como na entrega de fármacos, pois sugere que o material retém sua integridade estrutural mesmo após a imersão e a adsorção do corante.

#### 4.5.1.2 Perda de massa por Termogravimetria (TG)

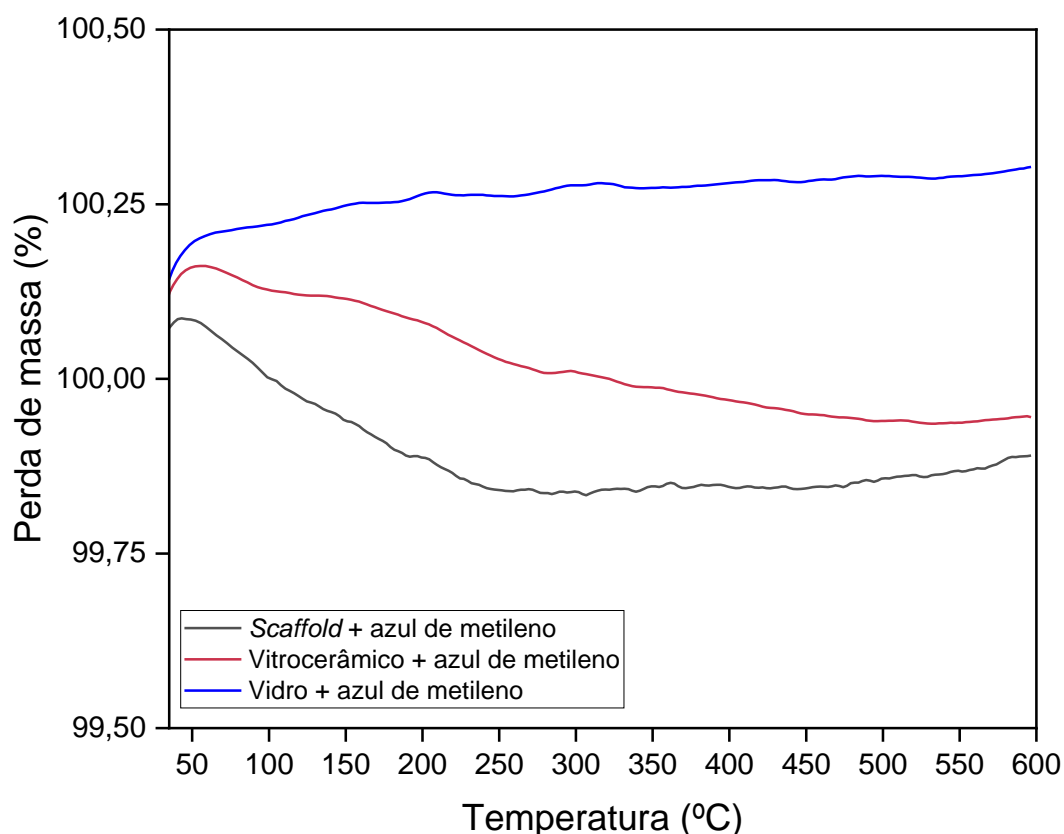
A avaliação da inoculação do corante azul de metileno em um material poroso pode ser conduzida por meio da técnica de termogravimetria (TG), analisando-se a perda de massa ocorrida no aquecimento do material. O material poroso foi imerso a uma solução de corante azul de metileno e, em seguida, submetido à análise termogravimétrica. Durante o processo de aquecimento, a amostra experimenta uma diminuição gradual de massa à medida que o corante é desorvido do material poroso. A taxa e o perfil dessa perda de massa fornecem informações cruciais sobre a capacidade de adsorção e a estabilidade do corante no *scaffold* de LZSA. A Figura 23 mostra o gráfico de TG das amostras de vidro, vitrocerâmico e *scaffold* inoculadas com azul de metileno.

Nota-se que a inoculação do corante no vidro LZSA não foi suficiente para se detectar uma perda de massa, visto que o vidro não possui poros aparentes em volume suficiente para a impregnação do corante (Vakifahmetoglu; Semerci; Soraru, 2020).

Porém, no vitrocerâmico, observa-se que houve uma redução crescente de massa à medida que se aumenta a temperatura, chegando a 0,6% de massa liberada; tal perda de massa está relacionada à inoculação do azul de metileno, já que o mesmo se decompõe em temperaturas próximas as obtidas (Arab; Araújo; Pejon, 2015; Pejon, 2015).

No *scaffold*, por outro lado, ocorreu uma perda de massa de 0,25%, aproximadamente, devido a maior porosidade superficial existente nesse material, em relação ao vitrocerâmico, gerada pelo tratamento químico realizado.

Figura 23 - Termogravimetria do vidro, vitrocerâmico e *scaffold* com corante azul de metileno



Fonte: Autora, 2024.

Dessa forma, conclui-se que a técnica de imersão é mais adequada para a impregnação de azul de metileno, e possivelmente dos medicamentos empregados nesse trabalho, em relação à técnica de ultrassom. Além disso, foi confirmado por FTIR e termogravimetria a efetividade da impregnação do corante no *scaffold*. No entanto, esse resultado não significa que a mesma massa de fármaco será impregnada no *scaffold*, já que cada tipo de medicamento interage na superfície dos poros de *scaffold* de forma diferente. Assim, testes de impregnação com cada medicamento empregado nesse estudo deverão ser realizados.

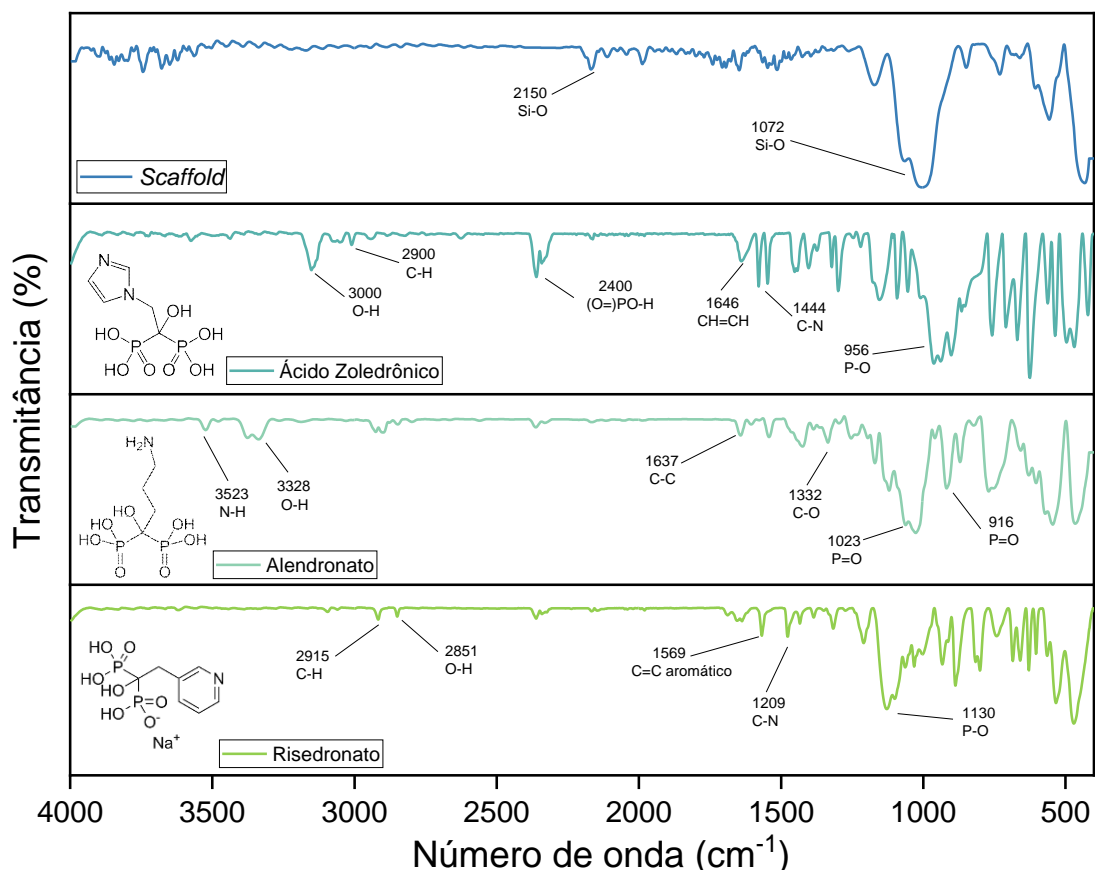
#### 4.5.2 Caracterização dos *scaffolds* com medicamento

Os ensaios realizados com azul de metileno demonstraram a eficácia na capacidade de adsorção do *scaffold*, como observado nos resultados de análise superficial por microscopia óptica, espectroscopia FTIR e termogravimetria. Essa mesma metodologia foi empregada para caracterizar os *scaffolds* contendo os fármacos alendronato de sódio, risedronato de sódio e ácido zoledrônico, visando sua incorporação nos poros do material.

##### 4.5.2.1 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 24 mostra os resultados de FTIR realizado no *scaffold* e nos medicamentos: ácido zoledrônico, alendronato de sódio e risedronato de sódio.

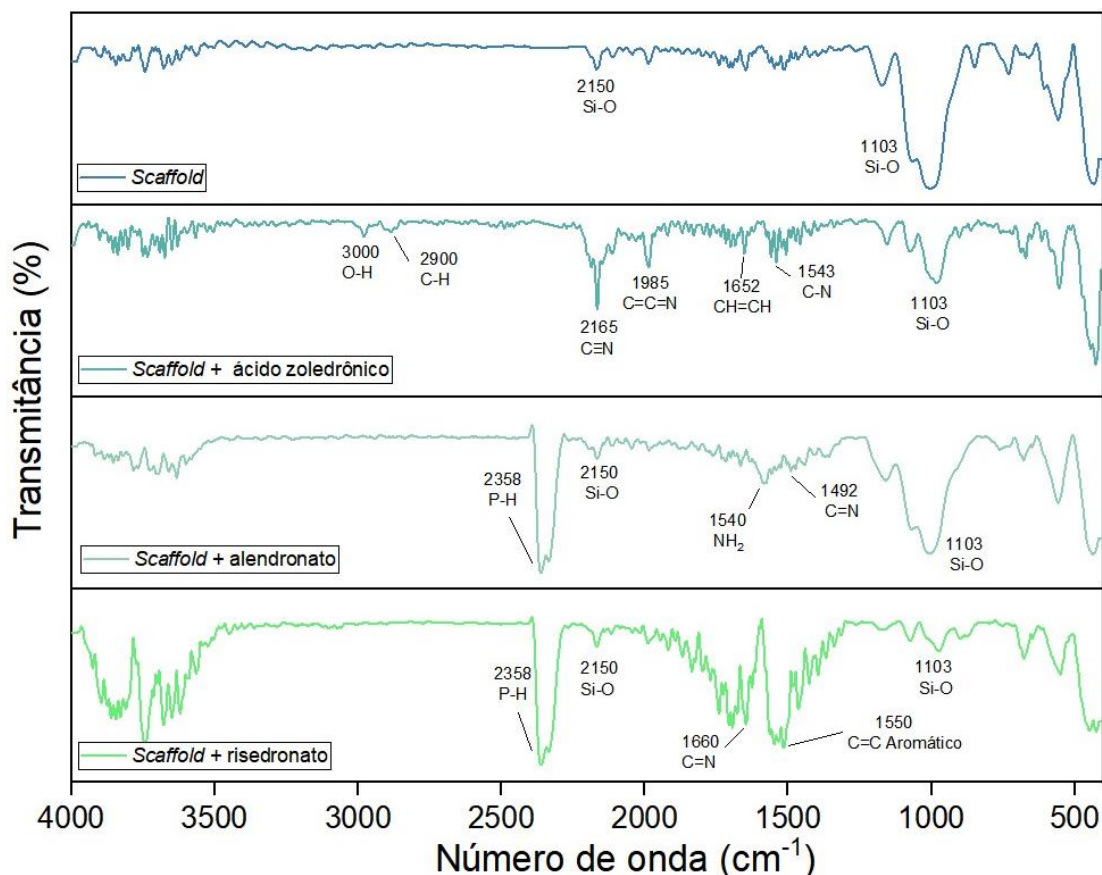
Figura 24 - FTIR do *scaffold* e dos medicamentos: ácido zoledrônico, alendronato de sódio e risedronato de sódio.



Fonte: Autora, 2024.

A Figura 25 mostra os resultados de FTIR realizado no *scaffold* sem e com medicamentos, para confirmar a presença destes no *scaffold*.

Figura 25 - FTIR do *scaffold* sem e com medicamentos



Fonte: Autora, 2024.

De acordo com Thoke *et al.* (2013), o alendronato de sódio em sua forma pura exibe características peculiares relacionadas aos seus grupos funcionais, incluindo uma ligação N-H localizada a 3523 cm<sup>-1</sup>, atribuível ao grupo amino, e uma ligação O-H a 3328 cm<sup>-1</sup> da hidroxila.

As ligações C-C apresentam características típicas de compostos orgânicos, enquanto as ligações de P=O, são observadas nos picos a 1023 e 916 cm<sup>-1</sup> (Thoke *et al.*, 2013). Observa-se também um pico em 1540 cm<sup>-1</sup>, indicativo da absorção de vibração de flexão do grupo amino (Dutta, 2017). As ligações de C-N, que absorvem a 1492 cm<sup>-1</sup>, e os picos de P-H em 2358 cm<sup>-1</sup> são evidências da presença do fármaco. A banda em 2150 cm<sup>-1</sup> sugere a

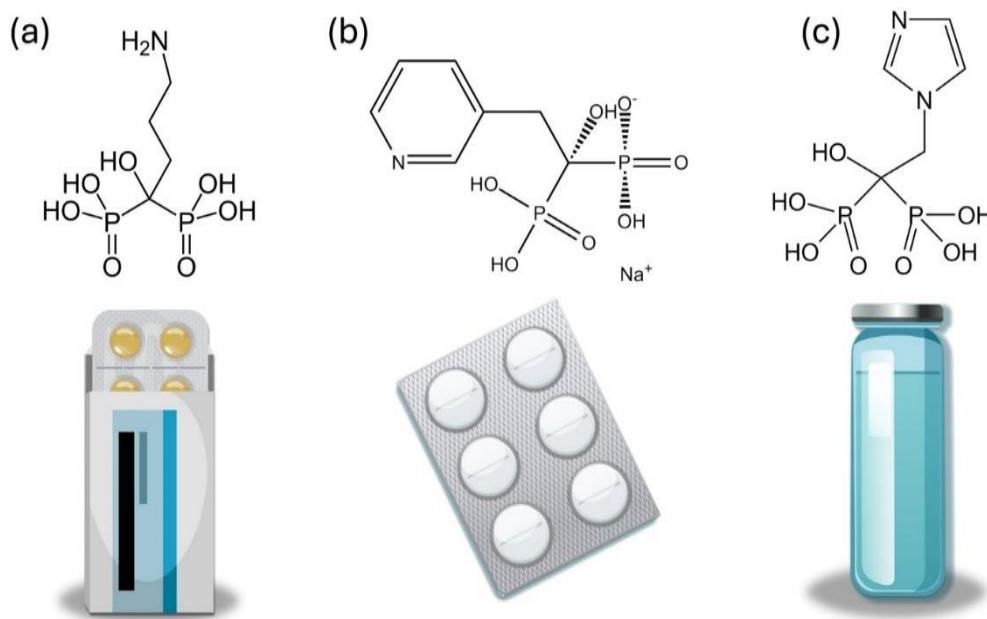
presença de Si–O, característica do material do vidro (Von Aulock *et al.*, 2014), assim como os demais picos de absorção infravermelha em torno de  $1100\text{ cm}^{-1}$ . Também foi constatada a presença desse mesmo pico para os medicamentos, risedronato de sódio e ácido zoledrônico.

O risedronato de sódio possui picos característicos a  $1550\text{ cm}^{-1}$  associados ao anel aromático, ligações de P-H derivados do grupo fosfato em  $2358\text{ cm}^{-1}$ , grupo hidroxila em  $2915\text{ cm}^{-1}$  e ligação C-N característica do grupo amina em  $1660\text{ cm}^{-1}$ . Esse pico também foi constatado por Pathak *et al.* (2024), que mostra que o trecho C=C e C=N foi caracterizado pelos picos entre  $1400$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$ . A formação do grupo fosfato no risedronato de sódio e no alendronato de sódio é na mesma banda do espectro ( $2358\text{ cm}^{-1}$ ), confirmando a incorporação do fármaco.

Os espectros do ácido zoledrônico puro são caracterizados por absorções infravermelhas, com picos principais em torno de 464, 504, 628, 705, 760, 1300, 1406, 1461, 1549, 1581, 2820, 3160 e  $3440\text{ cm}^{-1}$ . As bandas em 464, 504, 1549 e  $1581\text{ cm}^{-1}$  indicam vibrações da ligação dupla do grupo CH no anel imidazol (Khajuria *et al.*, 2017). Quando esse medicamento é inserido no *scaffold*, o FTIR também mostra esse pico a  $1652\text{ cm}^{-1}$ . As bandas em 1549,  $1581\text{ cm}^{-1}$  são idênticas às vibrações da ligação simples C-N (Boran *et al.*, 2020). Quando o medicamento está inserido no *scaffold* essa ligação é observada a  $1543\text{ cm}^{-1}$ . Também aparece a ligação característica do grupo amina nas bandas de 2165 e  $1985\text{ cm}^{-1}$ . As bandas em 3160 e  $3440\text{ cm}^{-1}$  caracterizam as ligações OH nas formações de dímeros no ácido zoledrônico disperso em água (Khajuria *et al.*, 2017); quando esse medicamento é inserido no *scaffold*, seu FTIR apresenta um pico a  $3000\text{ cm}^{-1}$  que indica as vibrações da ligação do grupo OH. A Figura 26 mostra imagens das moléculas dos medicamentos alendronato de sódio, risedronato de sódio e ácido zoledrônico. Em termos de estrutura química, todos apresentam o grupo fosfonato, composto por um átomo de fósforo ligado a quatro átomos de oxigênio, conferindo-lhes afinidade pelos minerais ósseos. Adicionalmente, cada um possui uma cadeia alquil variável e um átomo de nitrogênio, contribuindo para inibir a reabsorção óssea. As ligações químicas predominantes em suas estruturas são covalentes, essenciais para a estabilidade molecular e eficácia terapêutica ao inibirem a atividade dos osteoclastos. Embora compartilhem características estruturais fundamentais, as

nuances específicas em suas estruturas e ligações podem influenciar propriedades físicas e farmacocinéticas, diferenciando seus perfis de eficácia e tolerabilidade clínica

Figura 26 - Imagens das moléculas dos medicamentos: (a) Alendronato de sódio; (b) Risedronato de sódio e (c) Ácido zoledrônico



Fonte: Autora, 2024.

O alendronato de sódio é um bisfosfonato usado no tratamento de doenças ósseas, como a osteoporose. Sua estrutura molecular é caracterizada pela presença do grupo fosfonato que consiste em um átomo de fósforo ligado a quatro átomos de oxigênio. Esse grupo é essencial para a ação do medicamento, pois se liga fortemente aos minerais dos ossos, inibindo a atividade dos osteoclastos e ajudando a prevenir a reabsorção óssea. Possui uma cadeia alquil (uma sequência de átomos de carbono e hidrogênio) que contribui para a estrutura geral da molécula e pode influenciar suas propriedades físicas e farmacocinéticas. O alendronato de sódio também contém um átomo de nitrogênio em sua estrutura, que desempenha um papel na inibição das enzimas envolvidas na reabsorção óssea. As ligações na estrutura molecular do alendronato de sódio são predominantemente covalentes, incluindo as ligações

fosfonato, carbono-carbono e carbono-nitrogênio. Essas características estruturais são fundamentais para a eficácia do alendronato de sódio como um agente terapêutico para condições ósseas.

O risedronato de sódio é outro bisfosfonato utilizado no tratamento de doenças ósseas, como a osteoporose. A estrutura molecular do risedronato de sódio apresenta algumas semelhanças com outros bisfosfonatos e inclui características específicas. Assim como outros bisfosfonatos, o risedronato de sódio contém um grupo fosfonato. Este grupo é composto por um átomo de fósforo ligado a quatro átomos de oxigênio e é fundamental para a afinidade do medicamento pelos minerais ósseos.

O risedronato de sódio possui um átomo de nitrogênio em sua estrutura, desempenhando um papel semelhante ao observado em outros bisfosfonatos. O átomo de nitrogênio contribui para a atividade farmacológica do medicamento, inibindo as enzimas envolvidas na reabsorção óssea. Assim como o alendronato de sódio, o risedronato de sódio tem uma cadeia alquil em sua estrutura. Essa cadeia pode variar em comprimento e estrutura, afetando as propriedades físicas e farmacocinéticas do medicamento. As ligações químicas na estrutura molecular do risedronato de sódio são predominantemente covalentes, incluindo ligações fosfonato, carbono-carbono e carbono-nitrogênio. Essas ligações são cruciais para a estabilidade da molécula e sua capacidade de se ligar aos ossos, inibindo a atividade dos osteoclastos e prevenindo a perda óssea.

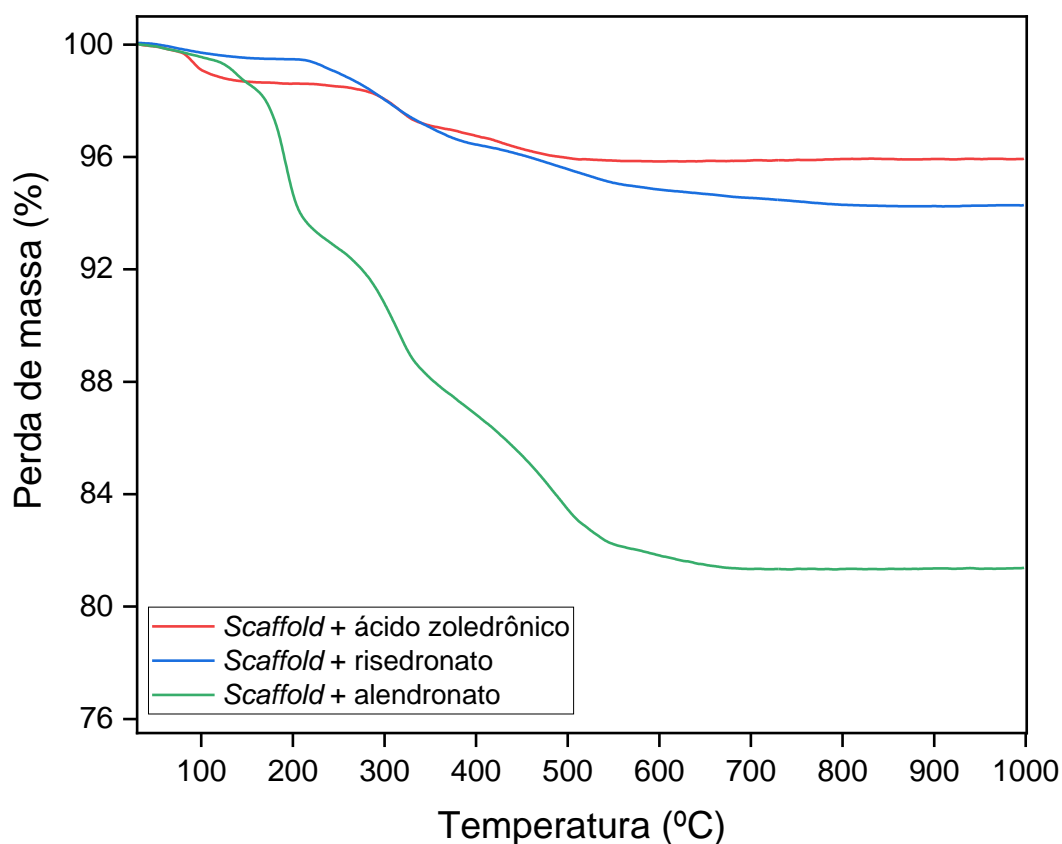
O ácido zoledrônico é uma molécula complexa com uma estrutura química que contém ligações fosforo e nitrogênio. A principal característica estrutural é a presença do grupo bisfosfonato, que é composto por dois grupos fosfonato ligados a um átomo central de carbono. Esses grupos fosfonato desempenham um papel crucial na capacidade do ácido zoledrônico de se ligar fortemente aos minerais dos ossos. A molécula também contém nitrogênio, e a presença desse elemento está relacionada à capacidade do ácido zoledrônico de inibir as enzimas envolvidas na reabsorção óssea. Essas características estruturais conferem ao medicamento propriedades que o tornam eficaz no tratamento de condições ósseas, como osteoporose e câncer ósseo metastático.

#### 4.5.2.2 Perda de massa por Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica nos *scaffolds* com medicamentos inoculados permite uma avaliação da perda de massa associada ao aquecimento da amostra, indicando a capacidade de impregnação de cada medicamento no *scaffold*. A Figura 27 mostra a termogravimetria (TG) do *scaffold* com os medicamentos.

Os *scaffolds* impregnados com medicamentos apresentam perda gradual de massa à medida que a temperatura aumenta. Essa diminuição na massa do *scaffold* pode ser atribuída à dessorção dos medicamentos no material poroso. As perdas de massa observadas foram de 18,6% para o alendronato de sódio, que representa uma quantidade aproximada de 4,13 mg desse medicamento, considerando a massa de *scaffold* usada no ensaio.

Figura 27 - Termogravimetria dos *scaffolds* contendo os medicamentos usados



Fonte: Autora, 2024.

As perdas de massa foram de 5,7 e 4,1%, representando quantidades inoculadas de 1,21 e 0,90 mg, respectivamente para o risedronato de sódio e o ácido zoledrônico.

Os resultados revelam que os *scaffolds* possuem diferentes capacidades de inoculação em relação a cada um dos medicamentos empregados, confirmadas pelas perdas de massa; assim, possivelmente, diferentes perfis de entrega dos medicamentos serão obtidos.

Essas variações nas quantidades inoculadas de medicamento podem ser explicadas pelas diferentes naturezas e intensidades de cargas elétricas dos medicamentos. Quando dois materiais com cargas opostas estão em contato próximo em uma solução líquida, ocorre atração eletrostática entre eles; se tratar-se de uma superfície sólida em contato com um fluido, ocorrerá a adsorção do fluido pelo sólido (Savaji; Niitsoo; Couzis, 2014). Sabe-se que o vitrocerâmico LZSA apresenta cargas elétricas negativas (Pozzobom *et al.*, 2014), tendo afinidade com compostos contendo cargas positivas. Assim, alendronato de sódio, risedronato de sódio e ácido zoledrônico, que apresentam carga positiva, como mostrado na Figura 26 (a), (b) e (c), podem se ligar à superfície do *scaffold* LZSA (Rufino; Neto, 2014).

A relação da natureza das cargas elétricas entre o *scaffold* e o material inoculado explica porque a inoculação de azul de metileno foi muito menor do que dos medicamentos usados, já que o azul de metileno possui carga elétrica negativa (Oladoye *et al.*, 2022; Putra *et al.*, 2021). Assim, sua inoculação foi limitada apenas à deposição na superfície porosa do LZSA, enquanto que em relação aos medicamentos, deve ter ocorrida adsorção na superfície dos poros (Fernández; Ortega-Castro; Frau, 2017).

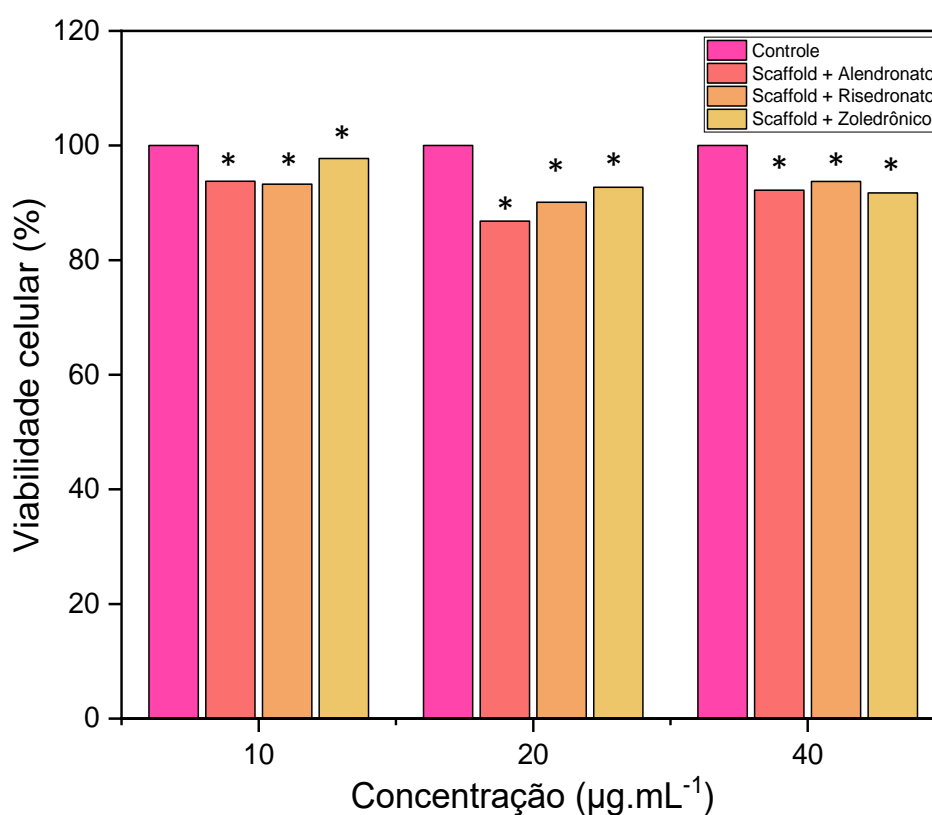
#### 4.5.2.3 Ensaio de viabilidade celular (MTT)

A avaliação da viabilidade celular foi conduzida mediante ensaio de MTT, um procedimento no qual as células provenientes da linhagem imortalizada de fibroblastos NIH3T3 foram submetidas a diversos tratamentos. Nesse contexto, os *scaffolds*, estruturas tridimensionais utilizadas como suporte para o crescimento celular, foram especialmente concebidos para incorporar medicamentos específicos, a saber risedronato de sódio, ácido zoledrônico e

alendronato de sódio. As concentrações desses medicamentos nos *scaffolds* foram de 10, 20 e 40  $\mu\text{g/mL}$ .

A Figura 28 mostra o padrão resultante da avaliação da viabilidade celular nos *scaffolds* que continham os medicamentos mencionados. Esta figura mostra os efeitos observados nas células, destacando possíveis tendências ou variações associadas às diferentes concentrações dos medicamentos.

Figura 28 - Viabilidade celular pelo teste de MTT em linhagem celular NIH3T3 dos *scaffolds* carregados com medicamentos (risedronato de sódio, ácido zoledrônico e alendronato de sódio).



Fonte: Autora, 2024.

OBS: O \* indica as amostras que apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ), pelo teste t.

A Figura 28 evidencia que, em comparação com o grupo controle, não são observadas diferenças estatisticamente significativas na viabilidade celular nos grupos testados em nenhuma das doses avaliadas. O grupo controle foi considerado como tendo 100% de células viáveis. Portanto, a associação dos

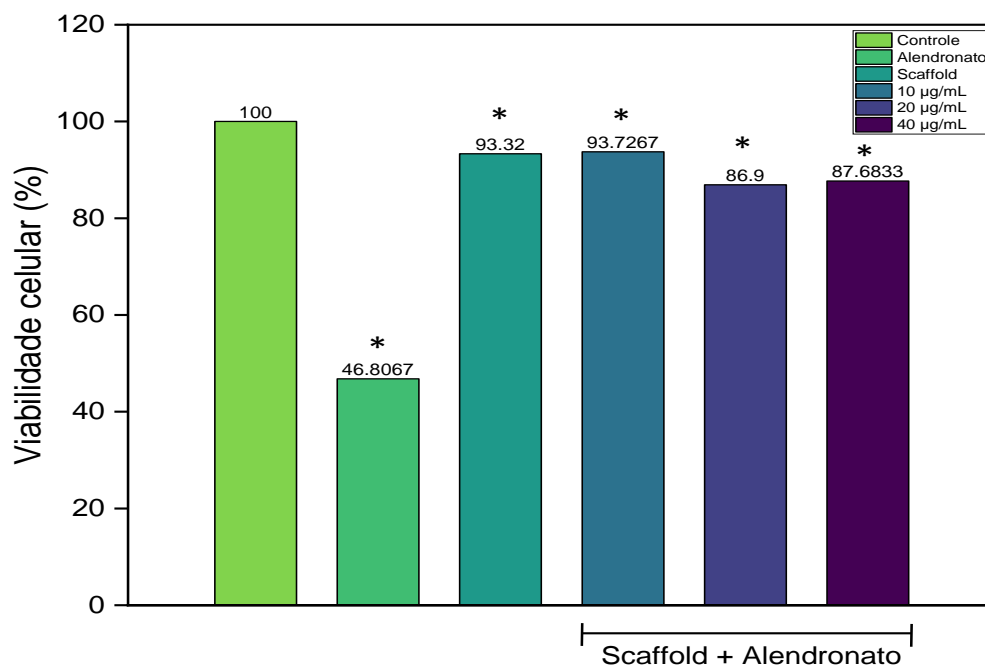
*scaffolds* com os medicamentos empregados não apresentou citotoxicidade nas condições analisadas para as células NIH3T3.

Esses dados são fundamentais para compreender a influência dos tratamentos na viabilidade celular, fornecendo conhecimentos valiosos sobre o potencial terapêutico dos medicamentos incorporados nos *scaffolds*.

Em uma extensão desse ensaio, a viabilidade celular do *scaffold*, do *scaffold* com o alendronato de sódio e do alendronato de sódio puro foi examinada por meio do ensaio de MTT, Figura 29, utilizando células da linhagem imortalizada de fibroblastos NIH3T3. Essas células foram submetidas a diferentes tratamentos, incluindo o alendronato de sódio isoladamente (40 µg/mL), o *scaffold* e o *scaffold* contendo alendronato de sódio (10, 20 e 40 µg/mL).

Figura 29 - Viabilidade celular pelo teste de MTT em linhagem celular NIH3T3.

Efeito do alendronato de sódio, *scaffold*, *scaffold* contendo alendronato de sódio (10, 20 e 40 µg/mL) na viabilidade celular em cultura de células imortalizadas de fibroblastos (NIH3T3).



Fonte: Autora, 2024.

OBS: O \* indica as amostras que apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ), pelo teste t.

Os resultados mostram uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o grupo tratado com alendronato de sódio, indicando a toxicidade associada ao medicamento.

No entanto, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas na viabilidade celular entre os grupos de teste tratados com *scaffold* contendo alendronato de sódio em comparação com o grupo controle, independentemente das doses aplicadas.

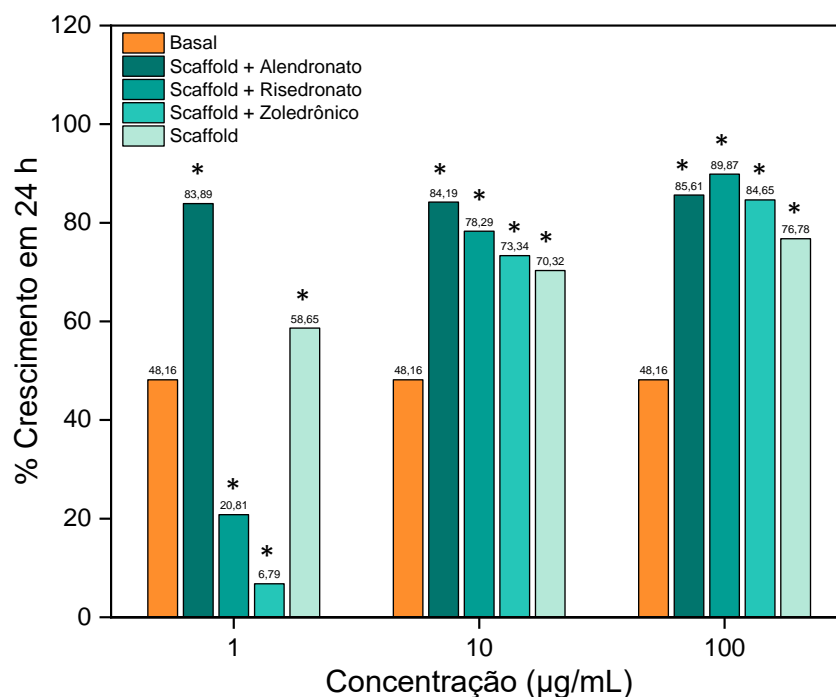
Contudo, observa-se uma diferença estatística significativa entre o grupo tratado com alendronato de sódio e os grupos de teste tratados com *scaffold* contendo alendronato de sódio nas doses examinadas, sugerindo que a combinação de alendronato de sódio com o *scaffold* atenua a citotoxicidade do medicamento.

#### 4.5.2.4 Avaliação da migração celular em uma "ferida" criada artificialmente (SCRATCH)

O ensaio de *scratch* em *scaffolds* fornece informações importantes sobre a capacidade do material em promover a migração, adesão e regeneração celular.

Este tipo de ensaio é particularmente relevante nas fases iniciais de avaliação de biocompatibilidade, pois permite investigar como as células interagem com a superfície do *scaffold*, tanto em termos de crescimento quanto de comportamento frente à "ferida" simulada. Além disso, o teste oferece conhecimentos valiosos sobre o potencial terapêutico do *scaffold* no contexto da engenharia tecidual e da medicina regenerativa, auxiliando na compreensão de sua eficácia em promover o reparo tecidual.

A Figura 30 ilustra o comportamento do crescimento celular nos *scaffolds* tratados com os medicamentos, evidenciado pelo preenchimento progressivo de uma "ferida" artificial, criada artificialmente nas células que crescem sobre a estrutura tridimensional. Essa "ferida" simula uma área de dano tecidual, e a observação subsequente do fechamento dessa região ao longo do tempo permite quantificar o efeito do material na estimulação da migração e proliferação celular.

Figura 30 - Crescimento celular nos *scaffolds* tratados com os medicamentos

Fonte: Autora, 2024.

OBS: O \* indica as amostras que apresentaram significância estatística ( $p < 0,05$ ), pelo teste t.

Os resultados são apresentados como porcentagem da área de cobertura após 24 h em relação ao instante inicial (tempo 0).

A Figura 30 revela que as células se mantiveram viáveis em contato com o material, evidenciando não apenas a ausência de afastamento, mas também uma adesão que resultou na união celular. Observou-se que o material favoreceu o fechamento da "ferida" simulada, sem apresentar toxicidade ou inibir o crescimento celular; ao contrário, estimulou o processo de cicatrização.

A Figura 31 ilustra, por meio de microscopia óptica, o processo de cicatrização observado através do crescimento celular na área arranhada.

É notável o crescimento celular já em 24 h; as concentrações contribuem para que o crescimento celular seja mais efetivo. A amostra basal, sem a presença do *scaffold*, corresponde à condição padrão, com o arranhão representando a lesão.

Vale destacar que, mesmo isoladamente, o *scaffold* contribuiu significativamente para o crescimento celular, demonstrando seu potencial para

promover a cicatrização. Dessa maneira, o ensaio simula condições semelhantes a um ferimento, proporcionando uma medida representativa do processo de cicatrização. A análise do preenchimento do arranhão demonstra não apenas a biocompatibilidade dos *scaffolds*, mas também sua capacidade de atuar como suporte para a cicatrização, favorecendo a formação de novo tecido.

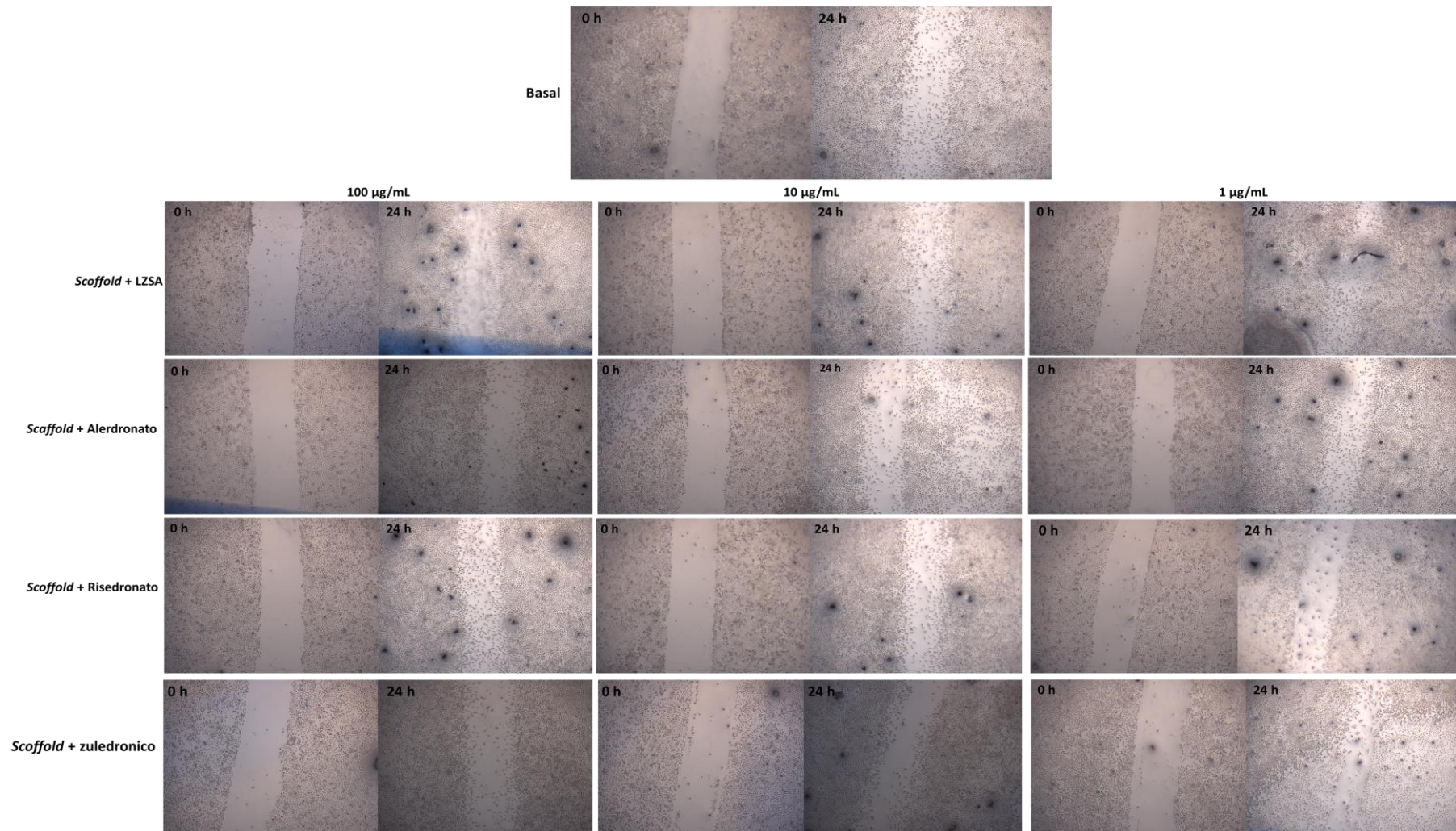
#### 4.5.2.5 Entrega de medicamento (UV-VIS)

Uma maior área superficial específica, associada a uma maior quantidade de poros, possibilita a incorporação mais significativa de medicamento no *scaffold*, viabilizando a entrega do medicamento. Os bifosfonatos contêm dois grupos de ácido fosfórico e são compostos fortemente polares e iônicos (Panderi *et al.*, 2019).

O modelo de entrega de fármaco cinético de ordem zero é baseado na entrega lenta da substância ativa a partir de formas farmacêuticas que não se desagregam. Essa entrega pode ser influenciada por uma entrega imediata, chamada "efeito explosão", que ocorre quando o medicamento é liberado da superfície do sistema matricial ou quando a estrutura do sistema sofre alterações.

Observa-se que, embora aparentemente se idealize um perfil de entrega de ordem zero, onde a velocidade de entrega é menor que a velocidade de dissolução, formando uma solução saturada e permitindo a cedência constante do fármaco, essa situação é difícil de ser alcançada na prática, pois a entrega real é influenciada por fatores como a estrutura da matriz, a concentração do fármaco e a interação com o ambiente (Lopes *et al.*, 2005). Esse modelo não se mostrou adequado para o *scaffold* com os medicamentos risedronato de sódio ( $R^2$  ajustado de 0,54, nem para o medicamento ácido zoledrônico, ( $R^2$  ajustado de 0,45) e também é inadequado para o medicamento alendronato de sódio ( $R^2$  ajustado de 0,85).

Outro modelo proposto de cinética de entrega de fármaco baseia-se na equação de Higuchi (Higuchi, 1963), frequentemente utilizada para descrever a velocidade de entrega controlada do fármaco a partir de um sistema matricial.

Figura 31 - Imagens de microscopia óptica do crescimento celular obtidas durante o ensaio de *Scratch*

Fonte: Autora, 2024.

O modelo de Higuchi descreve a entrega de fármacos como um processo de difusão baseado na Lei de Fick, dependente da raiz quadrada do tempo. Essa relação pode ser insuficiente para sistemas que se expandem, pois, esses sistemas podem ser frágeis e precisam considerar o relaxamento das cadeias poliméricas para transporte do medicamento. Portanto, a engenharia de Higuchi apresenta limitações na interpretação dos mecanismos de entrega controlada. Ainda assim, esse modelo é mais realista do que o modelo de ordem zero, pois considera os vários mecanismos que ocorrem nos sistemas matriciais (Higuchi, 1963; Lopes *et al.*, 2005).

Observa-se que, para o propósito desse trabalho, esse modelo também não se apresenta como adequado para o *scaffold* com os medicamentos risedronato de sódio ( $R^2$  ajustado de 0,54), ácido zoledrônico ( $R^2$  ajustado de 0,45) e alendronato de sódio ( $R^2$  ajustado de 0,85). Esses dois modelos se sobrepõem no gráfico, foi observado que os valores de  $R^2$  para ambos foram os mesmos.

A seguir são apresentados os resultados dos demais modelos matemáticos empregados na análise da cinética de entrega de medicamentos.

#### 4.5.2.5.1 Entrega e Determinação Quantitativa de Risedronato de sódio

A Tabela 8 mostra os modelos cinéticos do risedronato de sódio, presente no composto *scaffold* + risedronato, referente aos modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, de pseudo 1ª ordem, logaritmica e o modelo de pseudo 2ª ordem, enquanto a Figura 32 mostra as curvas desses modelos ajustadas aos dados experimentais.

O modelo matemático de Korsmeyer-Peppas é utilizado para descrever a entrega do soluto em sistemas que combinam a difusão do fármaco (transporte Fickiano) com o transporte não-Fickiano, proposto por Korsmeyer *et al.* (Wu *et al.*, 2019). Esse modelo apresenta-se mais eficiente quando comparado ao de ordem zero e de Higuchi, em se tratando da entrega do medicamento nos *scaffolds*. Obteve-se  $R^2$  de 0,9509, observado na Tabela 8 e poucos pontos fora da curva, conforme mostra a Figura 32.

Tabela 8 - Modelos cinéticos do Risedronato de sódio

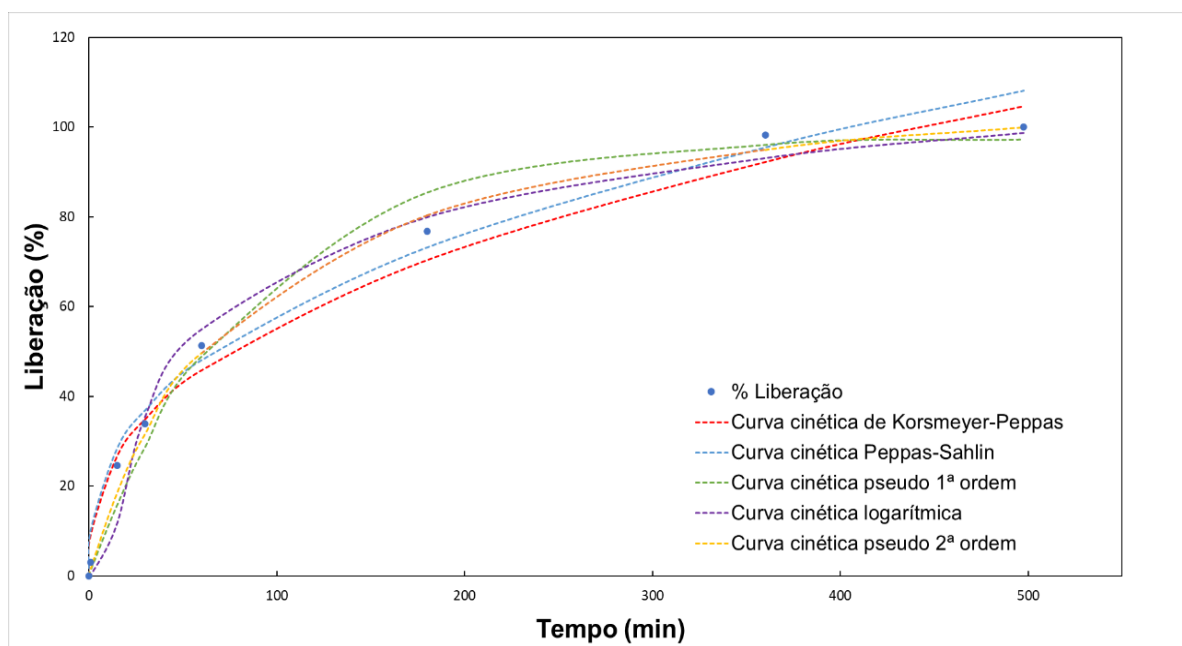
Modelo	Equação	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado
Kormeyer-Peppas	$Km.t^n$ Km = 9,25733 ± 2,73893 n = 0,39064 ± 0,05168	0,96591	0,95909
Peppas-Sahlin	$Kd.t^m + Kr.t^{2m}$ Kd = 0; Kr = 9,25748 m = 0,19532	0,98314	-
Pseudo 1ª ordem	$a(1 - \exp(-b.x))$ a = 97,49064 ± 3,5600 b = 0,01156 ± 0,00142	0,9873	0,98476
Logarítmica	$a.Ln(-b.Ln(x))$ a = 105,2873 ± 5,259 b = -0,41126 ± 0,01367	0,99012	0,98765
Pseudo 2ª ordem	$ce^2.K2.t/(1+k2 .ce.t)$ ce = 116,18668 ± 3,73347 k2 = 1,0685E <sup>-4</sup> ± 1,44539E <sup>-5</sup>	0,99012	0,98765

Fonte: Autora, 2024.

O modelo de Peppas-Sahlin é relevante para a entrega de medicamentos em *scaffolds* vitrocerâmicos, pois esses sistemas podem envolver mecanismos complexos de entrega do fármaco. O modelo de Peppas-Sahlin considera tanto a entrega por difusão quanto a entrega por relaxamento das cadeias em se tratando de cadeias poliméricas. Isso é importante em sistemas vitrocerâmicos, que podem apresentar múltiplos mecanismos de entrega do fármaco (Baggi; Kilaru, 2016). Esse modelo se mostrou adequado para esse estudo, apresentando R<sup>2</sup> de 0,98314.

O modelo de pseudo primeira ordem é valioso para estudar a dissolução de sólidos em líquidos, como a entrega de fármacos a partir de sistemas sólidos. Isso é relevante para sistemas de entrega de medicamentos baseados em *scaffolds* bioativos (Baggi; Kilaru, 2016). Embora o modelo de Peppas-Sahlin também seja relevante para sistemas expansíveis como os *scaffolds* vitrocerâmicos, o modelo de pseudo primeira ordem pode ser uma alternativa útil devido à sua facilidade de aplicação e interpretação (Coseglio *et al.*, 2019). Esse modelo se mostrou adequado para esse estudo, com R<sup>2</sup> de 0,98476.

Figura 32 - Curva cinética de entrega de Risedronato de sódio



Fonte: Autora 2024

O modelo logaritmo é uma abordagem matemática que assume que a taxa de entrega é proporcional ao logaritmo da quantidade de medicamento não liberado. Embora não haja resultados específicos sobre o modelo logaritmo em *scaffolds* vitrocerâmicos, é possível aplicar o modelo em sistemas de entrega controlada, que podem ser utilizados em *scaffolds* vitrocerâmicos. O modelo logaritmo é uma ferramenta matemática versátil e amplamente utilizada em diversas áreas, desde a modelagem de demanda turística até as propostas de perdas de propagação em sistemas de televisão digital aberta (Coseglio *et al.*, 2019; Zucolotto *et al.*, 2023). Esse modelo mostrou-se muito interessante para o medicamento risedronato de sódio. Obteve-se  $R^2$  de 0,98765.

O modelo de pseudo segunda ordem pode ser aplicada para modelar a cinética de entrega de fármacos a partir de matrizes poliméricas ou cerâmicas presentes em *scaffolds* (Coseglio *et al.*, 2019).

A capacidade do modelo de pseudo segunda ordem em descrever especificamente os dados experimentais, o torna uma ferramenta avançada para estudar a cinética de adsorção e entrega de compostos em sistemas complexos como os *scaffolds* (Zheng *et al.*, 2019).

A curva cinética de entrega de risedronato de sódio, presente no composto *scaffold* + risedronato, mais representativa foi o modelo de pseudo 2ª

ordem, apresentando  $R^2$  de 0,9941, em que é possível observar uma entrega de 50% do medicamento no tempo de 60 min; a entrega de 90% ocorreu próximo ao tempo de 360 min, tendo sua entrega completa (100%) no tempo de 498 min.

O risedronato de sódio é moderadamente solúvel em água. Isso significa que pode se dissolver em água em quantidades significativas, mas não em quantidades excessivamente altas (El-Wakil *et al.*, 2023). Na forma de sal de sódio, o risedronato de sódio apresenta uma carga elétrica negativa, devida à presença de grupos fosfonato em sua estrutura molecular, os quais tendem a ionizar-se em solução, liberando íons com carga negativa (Walash *et al.*, 2008). A presença de cargas negativas tanto no medicamento (risedronato de sódio) quanto no *scaffold*, sugere que as interações eletrostáticas entre eles poderiam ser repulsivas, em vez de atrativas. Nesse caso, é mais provável que a interação entre o medicamento e o *scaffold* ocorra por um processo de adsorção física do medicamento no *scaffold*. As moléculas do medicamento aderem à superfície do *scaffold* por forças físicas, como forças de Van der Waals e interações dipolo-dipolo, pois o *scaffold* possui uma superfície porosa e quimicamente funcionalizada, que proporciona locais de ligação para as moléculas do medicamento (Crandall, 2001). Com um tempo total de entrega de 540 min, pode-se classificar o perfil de entrega do medicamento como gradual ou prolongado. Esse período prolongado sugere que o medicamento está sendo liberado lentamente ao longo do tempo, em vez de uma entrega rápida e imediata. Esse tipo de entrega é frequentemente associado a sistemas de entrega controlada, como nos *scaffolds* bioativos, onde o medicamento é gradualmente liberado em taxas controladas, proporcionando uma terapia mais sustentada e eficaz (Pereira; Oliveira; Denadai, 2022). Estudo anterior verificou que em relação à entrega *in vitro*, esse fármaco foi liberado completamente do sistema em 240 min e a cinética de entrega seguiu a equação de ordem zero (Gomes; Cruz; Ferreira, 2022).

#### 4.5.2.5.2 Entrega e Determinação Quantitativa de Ácido zoledrônico

A Tabela 9 mostra os modelos cinéticos do ácido zoledrônico, presente no composto *scaffold* + ácido zoledrônico, referente aos modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, de pseudo 1ª ordem, logarítmica e de

pseudo 2ª ordem, enquanto a Figura 33 mostra as curvas desses modelos ajustadas aos dados experimentais.

Tabela 9 - Modelos cinéticos do ácido zoledrônico

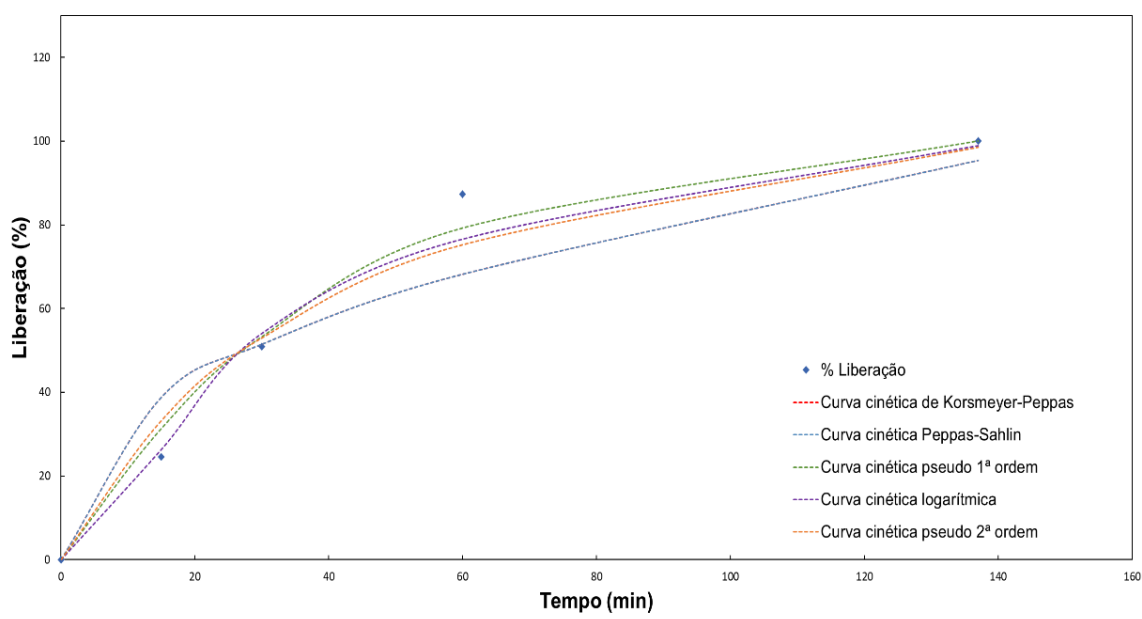
Modelo	Equação	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado
Kormeyer-Peppas	$Km.t^n$ Km = 12,9286 ± 7,08672 n = 0,40612 ± 0,11869	0,91231	0,88308
Peppas-Sahlin	$Kd.t^m + Kr.t^{2m}$ Kd = 0; Kr = 12,92681 m = 0,20307	0,95546	-
Pseudo 1ª Ordem	$a(1 - \exp(-b.x))$ a = 103,99635 ± 7,0123 b = 0,02396 ± 0,00404	0,98235	0,97647
Logarítmica	$a.Ln(-b.Ln(x))$ a = 121,46253 ± 18,538 b = -0,45885 ± 0,04139	0,95548	0,93322
Pseudo 2ª Ordem	$ce^2.K2.t/(1+k2.ce.t)$ ce = 129,87099 ± 17,99293 k2 = 1,76907E <sup>-4</sup> ± 8,67633E <sup>-5</sup>	0,96472	0,95296

Fonte: Autora, 2024.

Assim como na cinética de entrega do risedronato de sódio no *scaffold*, a análise é a mesma. Sabe-se que após a descoberta de Higuchi, Korsmeyer *et al.* (1983) propuseram um modelo que foi utilizado de forma eficiente para analisar a cinética de entrega de medicamentos e lipossomos (Haghiralsadat *et al.*, 2018; Peppas; Narasimhan, 2014). O modelo ficou conhecido como Korsmeyer-Peppas. Esse modelo foi melhor que os dois anteriores, ordem zero e Higuchi, apresentando R<sup>2</sup> superior a 0,88, mas não seria o desejável para o medicamento ácido zoledrônico.

A leitura da curva cinética de liberação do medicamento ácido zoledrônico do modelo logarítmico, modelo este já tratado no risedronato de sódio, mostra alguns pontos fora da curva da linha de tendência e apresenta resultado com R<sup>2</sup> de 0,93322, considerado um valor baixo que ainda não é o apropriado para esse estudo.

Figura 33 - Curva cinética de entrega de ácido zoledrônico



Fonte: Autora, 2024

O modelo de Peppas-Sahlin apresenta  $R^2$  de 0,95546. Apesar do valor obtido, observa-se que ainda não está representando uma curva de entrega ideal para o propósito desse trabalho.

O modelo matemático de pseudo 2ª ordem mostrou-se adequado, com  $R^2$  de 0,95298; a Figura 33 mostra que a curva do modelo matemático ajusta muito bem os dados experimentais, com uma leitura de 50% de entrega do medicamento já bem definida.

O modelo matemático mais adequado para o ácido zoledrônico foi o pseudo 1ª ordem, apresentando  $R^2$  de 0,97647. Na curva da cinética de entrega, é possível observar uma entrega de 50% do medicamento no tempo de 30 min; a entrega de 90% ocorreu no tempo de 60 min, tendo sua entrega completa (100%) em 137 min.

O ácido zoledrônico é uma molécula orgânica que possui grupos funcionais ácidos. Mais especificamente, possui um grupo fosfonato ( $\text{PO}_3\text{H}_2$ ) que é altamente ionizável em solução aquosa, resultando em uma carga negativa na molécula, que permanece em solução. O ácido zoledrônico, um bisfosfonato de última geração, tem a vantagem de maior potência e remissão mais prolongada, além de um tempo de infusão curto (Griz; Colares; Bandeira, 2006). A rápida entrega do ácido zoledrônico, em apenas 137 min, sugere um

mecanismo de entrega imediata e acelerada. Considerando que o *scaffold* possui carga elétrica negativa, a interação eletrostática entre a carga negativa do medicamento e a do *scaffold* pode não ser o principal mecanismo de retenção. Nesse contexto, é mais plausível que a incorporação do Ácido zoledrônico no *scaffold* ocorra principalmente por meio de adsorção física ou incorporação física (Faham, 2019). Isso implica que as moléculas do medicamento são retidas principalmente na superfície ou nos poros do *scaffold* devido a forças físicas, como interações de Van der Waals ou ocupação de espaços dentro da estrutura do *scaffold* (Vallet-Regí, 2006), que são mais fracas que as forças de atração químicas, o que facilitaria sua entrega.

#### 4.5.2.5.3 Entrega e Determinação Quantitativa de Alendronato de sódio

A Tabela 10 mostra os modelos cinéticos do alendronato de sódio, presente no composto *scaffold* + alendronato de sódio, referente aos modelos matemáticos de Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, de pseudo 1ª ordem, logarítmica e o modelo de pseudo 2ª ordem,

Tabela 10 - Modelos cinéticos do alendronato de sódio

Odelo	Equação	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado
Kormeyer-Peppas	$Km.t^n$ Km = 12,89128 ± 4,27279 n = 0,48991 ± 0,08895	0,9738	0,96507
Peppas-Sahlin	$Kd.t^m + Kr.t^{2m}$ Kd = 11,58748; Kr = 2,47585 m = 0,35823	0,99119	-
Pseudo 1ª Ordem	$a(1 - \exp(-b.x))$ a = 120,73908 ± 37,851 b = 0,02805 ± 0,0167	0,93127	0,90836
Logarítmica	$a.Ln(-b.Ln(x))$ a = 134,25723 ± 28,6248 b = -0,49942 ± 0,05778	0,95652	0,91304
Pseudo 2ª Ordem	$ce^2.K2.t/(1+k2*ce.t)$ ce = 171,31817 ± 70,62819 k2 = 1,29725E-4 ± 1,54426E-5	0,93446	0,91262

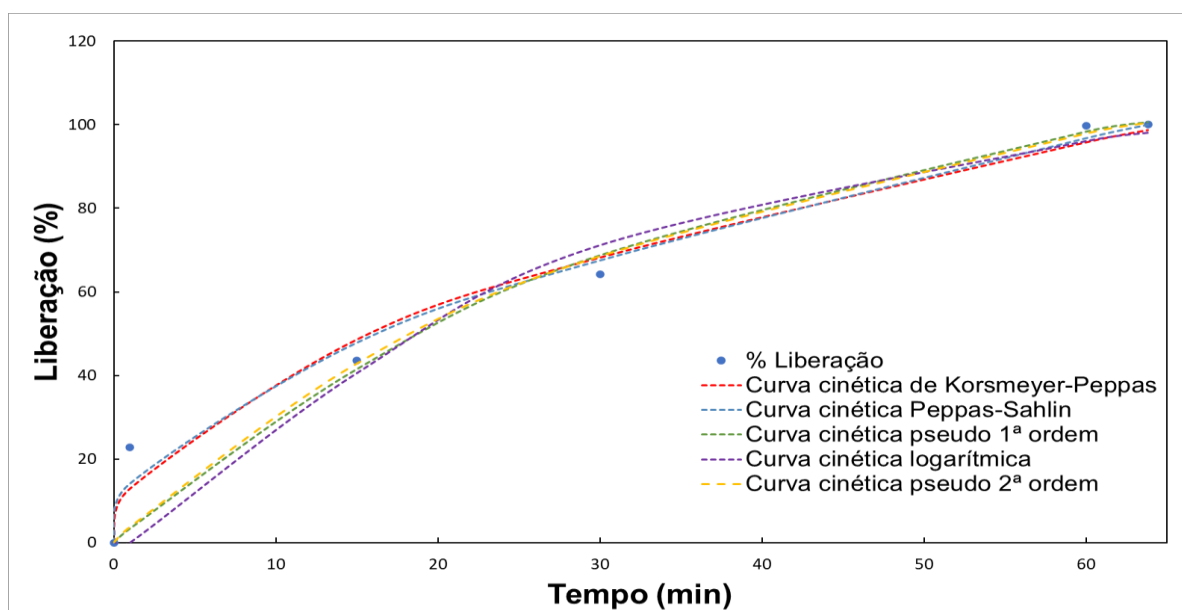
Fonte: Autora, 2024.

A Figura 34 mostra as curvas dos modelos testados, ajustadas aos dados experimentais.

O modelo de curva cinética pseudo 1ª ordem de entrega de medicamento, para o alendronato de sódio não se revelou adequado, apesar de apresentar  $R^2$  de 0,90836, pois alguns pontos experimentais não se ajustaram bem ao modelo matemático para descrever a entrega do medicamento. Ao analisar outros medicamentos, como o ácido zoledrônico e o risedronato de sódio, percebe-se que o modelo mais adequado varia para cada um deles. Esse modelo foi o melhor para o medicamento ácido zoledrônico.

O modelo de curva cinética pseudo 2ª ordem de entrega de medicamento, para o alendronato de sódio apresentou  $R^2$  de 0,91262, indicando uma melhora no ajuste dos pontos experimentais da curva de entrega. Embora tenha sido o melhor modelo utilizado para descrever a cinética de entrega do risedronato de sódio, não foi adequado para o alendronato de sódio.

Figura 34 - Curva cinética de entrega de alendronato de sódio



Fonte: Autora, 2024

O modelo logarítmico também não foi o adequado para explicar a cinética de entrega do medicamento alendronato de sódio no *scaffold*. Conforme observado na Figura 34, os dados experimentais não se ajustaram adequadamente a este modelo.

O modelo de entrega de medicamentos de Korsmeyer-Peppas, que é um dos modelos matemáticos mais aplicados para interpretar perfis de difusão para entrega de fármacos (Lopes; Lobo; Costa, 2005), mostrou-se interessante para explicar a cinética de entrega do Alendronato de sódio. A Tabela 10 mostra  $R^2$  igual a 0,96507.

Analisando-se os modelos matemáticos avaliados, o que melhor representa a cinética de entrega para o alendronato de sódio é o modelo de Peppas-Sahlin, com  $R^2$  de 0,99. O modelo de Peppas-Sahlin é relevante para a entrega de medicamentos em *scaffolds* vitrocerâmicos, uma vez que esses sistemas podem envolver mecanismos complexos de entrega de fármacos (Baggi; Kilaru, 2016).

Na Figura 34 é possível se observar uma entrega de 50% do medicamento no intervalo de tempo de 15 e 30 min; a entrega de 90% ocorreu próximo ao tempo de 60 min, tendo sua entrega completa (100%) em 64 min.

O alendronato de sódio possui um grupo fosfonato na sua estrutura, que é altamente ionizável em solução aquosa. Isso confere uma carga negativa à molécula do alendronato de sódio (Ananchenko; Novakovic; Tikhomirova, 2013). Devido à sua solubilidade em água, o alendronato de sódio pode ser incorporado em um *scaffold* principalmente por adsorção física ou incorporação física. Isso significa que as moléculas do medicamento podem ser retidas principalmente na superfície ou nos poros do *scaffold* devido a forças físicas, como interações de Van der Waals (Alarfaj, 2011). A entrega total do alendronato de sódio do *scaffold* em apenas 64 min, portanto, sugere uma entrega mais rápida do medicamento, quando comparado ao risedronato de sódio e o ácido zoledrônico, o que pode ser benéfico em certos contextos terapêuticos.

A Tabela 11 mostra a quantidade relativa liberada (% de entrega) em função do tempo em min dos três medicamentos empregados: risedronato de sódio, ácido zoledrônico e alendronato de sódio. A Tabela mostra que para o medicamento ácido zoledrônico, a liberação de 50% do medicamento se deu no tempo de 30 min, tendo sua entrega completa (100%) em 137 min. Para o alendronato de sódio a liberação de 50% do medicamento foi no intervalo de tempo de 15 e 30 min. e sua entrega completa (100%) em 64 min e para o risedronato de sódio, a liberação de 50% do medicamento ocorreu no tempo de 60 min; tendo sua entrega completa (100%) no tempo de 498 min.

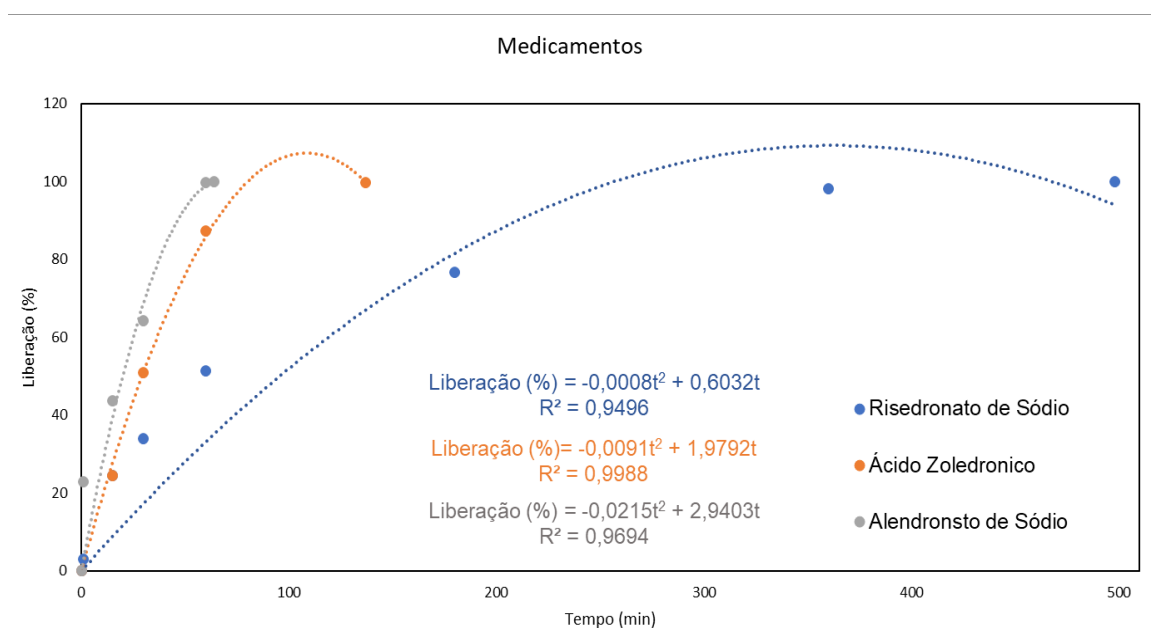
Tabela 11 - Quantidade relativa de medicamento liberado (%) em função do tempo

Ácido Zoledrônio		Alendronato de sódio		Risedronato de sódio	
t (min)	% Entrega	t (min)	% Entrega	t (min)	% Entrega
0	0,0	0	0,0	0	0,0
15	24,6	1	22,8	1	2,9
30	50,9	15	43,6	15	24,5
60	87,3	30	64,3	30	33,9
137	100	60	99,8	60	51,3
180	102	64	100	180	76,8
				360	98,2
				498	100

Fonte: Autora 2024

A Figura 35 mostra a curva cinética polinomial representando os dados experimentais desses medicamentos. Trata-se de da aplicação do modelo matemático polinomial como alternativa de modelo cinético de liberação de medicamentos em *scaffolds* vitrocerâmicos.

Figura 35 - Curva cinética de entrega dos medicamentos



Fonte: Autora 2024

Analisando-se a Figura 35 observa-se que aplicação de um modelo polinomial para o material estudado apresenta os valores de  $R^2$  elevados:  $R^2=0,95$  para o risedronato de sódio,  $R^2=1,0$  para o ácido zoledrônico e  $R^2=0,97$  para o alendronato de sódio. Esse modelo apresenta-se como um modelo adequado de cinética de liberação de medicamentos, pode-se dizer que este modelo representa os dados experimentais de cinética de entrega dos medicamentos empregados no *scaffold* estudado.

Em resumo, os diferentes bisfosfonatos empregados (risedronato de sódio, ácido zoledrônico e alendronato de sódio) exibem distintos perfis de entrega nos *scaffolds*. O risedronato de sódio, moderadamente solúvel em água, é liberado gradualmente ao longo de 540 min, possivelmente devido à sua menor capacidade de se dissolver em água e ser retido por adsorção física ou incorporação física no *scaffold*. O ácido zoledrônico, praticamente insolúvel em água, é liberado em 180 min, sugerindo uma entrega um pouco mais rápida, enquanto o alendronato de sódio, mais solúvel em água, apresenta uma entrega ainda mais rápida, em apenas 60 min. A rápida entrega desses últimos pode ser atribuída à sua capacidade de adsorção física ou incorporação física no *scaffold*, apesar de sua carga elétrica negativa. Ou seja, embora apresentem a mesma baixa solubilidade em água e retenção no *scaffold* pelo mecanismo de adsorção física, está claro que a intensidade desses fatores para cada um dos medicamentos empregados é diferente no *scaffold* estudado. Uma melhor compreensão sobre essas intensidades requereria um estudo mais aprofundado, que foge aos objetivos desse trabalho.

## 5 CONCLUSÃO

Uma vitrocerâmica LZSA, com composição molar de  $14,6\text{Li}_2\text{O}\cdot 8,6\text{ZrO}_2\cdot 67,3\text{SiO}_2\cdot 9,5\text{Al}_2\text{O}_3$ , foi submetida a um ataque químico controlado com ácido fluorídrico para criar arcabouços bioativos e mesoporosos com estruturas colunares (*scaffolds*). O ácido fluorídrico (6 vol% por 40 s de imersão) causou a dissolução parcial do vidro residual na superfície, revelando cristais colunares gerados durante a cristalização. A análise detalhada, utilizando técnicas como BET e BJH, revelou características promissoras na amostra submetida a tratamento térmico a 725 °C e 3 h, após tratamento térmico específico, com uma área superficial de 1,665 m<sup>2</sup>/g, raio de poro de 2,2 nm e volume de poro de 0,003 cm<sup>3</sup>/g, caracterizado pela isoterma de adsorção de mesoporo. A presença de mesoporos e distribuição estreita sugere que essa vitrocerâmica pode ser um *scaffold* ideal para aplicações biomédicas, destacando-se como potencial carreador de fármacos.

A hidroxiapatita cresceu em uma camada na vitrocerâmica LZSA devido à troca iônica com o fluido corporal simulado, tornando o material bioativo, especialmente nas amostras submersas em SBF por 21 dias. Análises detalhadas revelaram que esse período resultou nos melhores desempenhos, indicando a formação de hidroxiapatita e destacando a vitrocerâmica como promissora para acelerar a cicatrização óssea. A entrega controlada de íons, como silício, alumínio e zircônio, foi examinada, mostrando a contribuição positiva do silício para a osteointegração, enquanto alumínio e zircônio permaneceram em níveis não tóxicos. Além disso, a redução da fase vítrea após tratamento químico foi observada, reforçando a adequação da vitrocerâmica para aplicações biomédicas, com implicações significativas para a engenharia de *scaffolds* e biomateriais.

Os testes de citotoxicidade e hemocompatibilidade indicaram que a vitrocerâmica LZSA é não tóxica em concentrações abaixo de 40 µg/mL e não apresenta efeitos hemolíticos. O *scaffold* de LZSA demonstrou uma entrega gradual de lítio ao longo de 28 dias, permanecendo dentro de limites terapêuticos aceitáveis. A cinética de entrega, modelada pela curva de pseudo primeira ordem, mostrou um pico aos 21 dias, seguido de estabilização. A cinética de dissolução do lítio sugere sua absorção no trato gastrointestinal, atingindo pico

plasmático entre uma e duas horas após administração, com meia-vida de eliminação variável com a idade, permitindo uso em dose única diária. Esses estudos são cruciais para garantir a eficácia e segurança de formulações farmacêuticas com lítio.

A avaliação da viabilidade celular revelou diferentes comportamentos citotóxicos no vidro, na vitrocerâmica e no *scaffold*. O vidro mostrou citotoxicidade em todas as concentrações, enquanto o vitrocerâmico apresentou melhor viabilidade em níveis mais baixos, sendo citotóxico apenas na concentração mais elevada. O *scaffold* manteve alta viabilidade, mostrando citotoxicidade apenas na concentração mais alta. Destaca-se a importância de considerar a toxicidade celular no desenvolvimento de materiais biomédicos, juntamente com a notável atividade antioxidante observada nesses materiais, indicando potencial para aplicações biomédicas promissoras. Foi observado aumento na quantidade de grupamentos tiol, especialmente na dosagem de 1,5 mg no vitrocerâmico, e o *scaffold* também exibiu esse comportamento em concentrações de 1 e 1,5 mg, superando o controle. Esses resultados sugerem um efeito positivo na preservação dos grupamentos tiol, indicando potencial antioxidante e capacidade protetora contra danos proteicos.

Os fármacos empregados foram inoculados pela técnica de imersão. Os ensaios com o corante azul de metileno confirmaram a eficácia do LZSA na absorção do corante, evidenciada por análises de redução de massa, espectroscopia e avaliações morfológicas. A mesma abordagem foi aplicada para caracterizar os *scaffolds* contendo os fármacos, Risedronato de sódio, Ácido zoledrônico e Alendronato de sódio, revelando a presença dos medicamentos por meio de análise FTIR. A avaliação da viabilidade celular, realizada com células de fibroblastos, indicou que a incorporação desses medicamentos nos *scaffolds* não apresentou citotoxicidade, sendo essenciais para futuras aplicações biomédicas. Além disso, o ensaio de *scratch* revelou a capacidade dos *scaffolds* em promover o crescimento celular e cicatrização, destacando seu potencial terapêutico. A análise termogravimétrica dos *scaffolds* com medicamentos permitiu avaliar mudanças de massa, indicando diferentes perfis de entrega dos fármacos. A cinética de entrega do risedronato de sódio indica que o modelo de pseudo 2ª ordem representa bem os dados experimentais, com  $R^2$  de 0,9941, em que é possível observar uma entrega de

50% do medicamento no tempo de 60 min; a entrega de 90% ocorreu próximo ao tempo de 360 min, tendo sua entrega completa (100%) no tempo de 498 min. O modelo matemático mais adequado para representar a cinética de entrega do ácido zoledrônico foi o de pseudo 1ª ordem, apresentando  $R^2$  de 0,97647. Na curva da cinética de entrega, é possível observar uma entrega de 50% do medicamento no tempo de 30 min; a entrega de 90% ocorreu no tempo de 60 min, tendo sua entrega completa (100%) em 137 min. Para o alendronato de sódio, o modelo matemático que melhor representa a cinética de entrega é o modelo de Peppas-Sahlin, apresentando um  $R^2$  de 0,99; observou-se uma entrega de 50% do medicamento no intervalo de tempo de 15 e 30 min; a entrega de 90% ocorreu próximo ao tempo de 60 min, tendo sua entrega completa (100%) em 64 min. Por outro lado, o modelo polinomial de cinética de entrega também foi testada e apresentou valores de  $R^2$  adequados para ambos os medicamentos estudados.

A entrega controlada dos medicamentos associados ao *scaffold* foi observada, sugerindo potencial para aplicações específicas em medicina regenerativa.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Considerando os resultados promissores obtidos com a vitrocerâmica LZSA e seu potencial em aplicações biomédicas, algumas sugestões para trabalhos futuros podem incluir:

Otimização do processo de funcionalização: Explorar técnicas aprimoradas de funcionalização para otimizar a incorporação de fármacos, garantindo uma entrega controlada mais eficaz e prolongada;

Avaliação *in vivo*: Realizar estudos *in vivo* para validar os resultados obtidos *in vitro*, investigando a resposta biológica e a eficácia do material no contexto fisiológico real;

Testes de biocompatibilidade a longo prazo: Conduzir estudos de biocompatibilidade a longo prazo para avaliar o desempenho do material ao longo do tempo e sua capacidade de sustentar funções biológicas;

Aplicações específicas: Focar em aplicações específicas, como reparo de lesões ósseas críticas ou desenvolvimento de *scaffolds* para órgãos específicos, para direcionar o potencial terapêutico do material; e

Avaliação de carga de fármacos diferentes: Expandir a pesquisa para incluir outros tipos de fármacos e avaliar a capacidade do material de suportar diferentes cargas farmacológicas.

## REFERENCIAS

ABBASI, Naghmeh *et al.* Porous scaffolds for bone regeneration. **Journal of Science: Advanced Materials and Devices**, v. 5, n. 1, p. 1–9, 2020.

ABOUREHAB, Mohammed A.S. *et al.* Laboratory determination and thermodynamic analysis of alendronate solubility in supercritical carbon dioxide. **Journal of Molecular Liquids**, v. 367, 2022.

AFOLABI, Inioluwa Christianah; POPOOLA, Segun Isaiah; BELLO, Olugbenga Solomon. Modeling pseudo-second-order kinetics of orange peel-paracetamol adsorption process using artificial neural network. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 203, 2020.

AFRA, Simindokht *et al.* Chitosan/Nanohydroxyapatite/Hydroxyethyl-cellulose-based printable formulations for local alendronate drug delivery in osteoporosis treatment. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 7, p. 100418, jun. 2024.

AFZAL, Adeel. Implantable zirconia bioceramics for bone repair and replacement: A chronological review. **Materials Express**, v. 4, n. 1, p. 1–12, 2014.

AGNELLO, Gabriel *et al.* Intrinsic properties of multi-component glass surfaces exposed to aqueous hydrofluoric (HF) and/or hydrochloric (HCl) acid-based treatments. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 592, p. 121766, 2022.

AKSENOV, Michael Y.; MARKESBERY, William R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, n. 2–3, p. 141–145, abr. 2001.

ALARFAJ, Nawal A.; ABD EL-RAZEQ, Sawsan A.; AL-QAHTANI, Fatma N. Spectrophotometric determination of alendronate sodium in bulk drug and in pharmaceutical formulation. **Asian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 23, n. 2, p. 697–700, 2011.

ANANCHENKO, Gennady; NOVAKOVIC, Jasmina; TIKHOMIROVA, Anna. Alendronate Sodium. *In*: [S. l.: s. n.], 2013. p. 1–33.

ANDERSSON, H. Orjan; SODERGARD, Anders. Solubility and film formation of phosphate and alumina containing silicate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 246, p. 9–15, 1999.

ARAL, Hal; VECCHIO-SADUS, Angelica. Toxicity of lithium to humans and the environment-A literature review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 70, n. 3, p. 349–56, 2008.

ARAB, Paola Bruno; ARAÚJO, Thiago Peixoto; PEJON, Osni José. Identification of clay minerals in mixtures subjected to differential thermal and thermogravimetry analyses and methylene blue adsorption tests. **Applied Clay Science**, v. 114, 2015.

ARAUJO, M.S. *et al.* In vitro bioactivity and antibacterial capacity of 45S5 Bioglass®-based compositions containing alumina and strontium. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 13, p. 154–161, 2021.

ARCARO, S. *et al.* The influence of nano alumina additions on the coefficient of thermal expansion of a LZS glass–ceramic composition. **Ceramics International**, v. 42, n. 7, p. 8620–8626, 2016.

ARCOS, Daniel; GREENSPAN, D C. A new quantitative method to evaluate the in vitro bioactivity of melt and sol-gel-derived silicate glasses. [s. l.], 2002.

ARCOS, Daniel; VALLET-REGÍ, María. Bioceramics for drug delivery. **Acta Materialia**, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 890–911, 2013.

ASRI, R. I. M. *et al.* Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. **Materials Science & Engineering C**, v. 77, p. 1261–1274, 2017.

BAGGI, Ravindra Babu; KILARU, Naveen Babu. Calculation of predominant drug release mechanism using Peppas-Sahlin model, Part-I (substitution method): A linear regression approach. **Asian Journal of Pharmacy and Technology**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 223, 2016.

BAINO, Francesco. Bioactive glasses – When glass science and technology meet regenerative. **Ceramics International**, v. 44, n. 13, p. 14953–14966, 2018.

BAINO, Francesco; YAMAGUCHI, Seiji. The use of simulated body fluid (SBF) for assessing materials bioactivity in the context of tissue engineering: Review and challenges. **Biomimetics**, v. 5, n. 4, p. 57, 2020.

BARBOSA, Kiriaque *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.

BERRICHE, Olfa *et al.* Risk factors for postmenopausal osteoporosis. **Alexandria Journal of Medicine**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 187–192, 2017.

BEST, S.M *et al.* Bioceramics Past, present and for the future. **Bioceramics: Past, present and for the future**, [s. l.], v. 28, p. 1319–1327, 2008.

BIZERRA, Alexa; SILVA, Viviane. SISTEMAS DE ENTREGA CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente-RESMA**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 1–12, 2016.

BORAN, Gökçen *et al.* Synergistic effect of graphene oxide and zoledronic acid for osteoporosis and cancer treatment. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p.

7827, 2020. PICONI, C.; MACCAURO, G. Zirconia as a ceramic biomaterial. **Biomaterials**, v. 20, n. 1, p. 1–25, 1999.

BRÜNING, Jürgen *et al.* Characterization of a new solvate of risedronate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 100, n. 3, p. 863–73, 2011.

CAO, Yang; WANG, Bochu. Biodegradation of silk biomaterials. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 4, p. 1514–1524, 2009.

CARVALHO, Elaine A. S. *et al.* Development of epoxy matrix artificial stone incorporated with sintering residue from steelmaking industry. **Materials Research**, v. 18, n. 2, p. 235-239, 2015.

CHATZISTAVROU, Xanthippi *et al.* Thermal analysis and in vitro bioactivity of bioactive glass–alumina composites. **Materials Characterization**, [s. l.], v. 62, n. 1, p. 118–129, 2011.

CHEN, Qizhi. Optimization of Bioglass® Scaffold Fabrication Process. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 4190, p. 4184–4190, 2011.

CHEN, Shunyu *et al.* Biomimetic mineralization of nanocrystalline hydroxyapatites on aminated modified polylactic acid microspheres to develop a novel drug delivery system for alendronate. **Materials Science and Engineering C**, v. 110, 2020.

CHEN, Mi *et al.* Hierarchically multifunctional bioactive nanoglass for integrated tumor/infection therapy and impaired wound repair. **Materials Today**, v. 53, p. 27–40, mar. 2022.

CLARKE, Bart L.; KHOSLA, Sundeep. Physiology of Bone Loss. **Radiologic Clinics of North America**, v. 48, n. 3, p. 483–495, 2010.

COLPO, Julio C. *et al.* Antibiotic and anesthetic drug release from double-setting  $\alpha$ -TCP cements. **Journal of Materials Science**, v. 53, n. 10, 2018.

COSEGLIO, Bruna B. *et al.* Cinética de remoção de fenol utilizando hidrogel scaffold de quitosana modificado com nanotubo de carbono como adsorvente. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**. São Paulo: Editora Blucher, 2019. p. 791–797.

COSTA, Bruna D. *et al.* Neoformação óssea e osteointegração de biomateriais micro e nanoestruturados em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 177–187, 2015.

CRANDALL, Carolyn. Risedronate. **Archives of Internal Medicine**, [s. l.], v. 161, n. 3, p. 353, 2001.

CUMMINGS, Steven R; MELTON, L Joseph. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. **The Lancet**, [s. l.], v. 359, n. 9319, p. 1761–1767, 2002.

DAVID, Williams F. On the mechanisms of biocompatibility. **Science Direct**, p. 2491–2953, 2008.

- DAGUANO, Juliana K.M.B. *et al.* In vitro biocompatibility of new bioactive lithia-silica glass-ceramics. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 94, p 117–125, 2019.
- DEE, Kay C; PULEO, David A.; BIZIOS, Rena. An introduction to Tissue-Biomaterial Interactions. **Wiley- Liss**, 2002.
- DEMÉTRIO, Frederico N. Manejo clínico do lítio. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 62, n. 3, mar. 2005.
- DENIZOT, F.; LANG, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. **Journal of Immunological Methods**, v. 89, n. 2, p. 271–277, maio 1986.
- DEUBENER, J. *et al.* Updated definition of glass-ceramics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 501, 2018.
- DIAZ-RODRIGUEZ, Patricia; SÁNCHEZ, Mirian; LANDIN, Mariana. Drug-loaded biomimetic ceramics for tissue engineering. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 272, 2018.
- DINIZ, Elaine C.; BRITO, Isabella S.; SANTOS, Marcos V. F. Aplicabilidade da medicina regenerativa em Odontologia. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, p. e11111637300, 2022.
- DION, Isabelle *et al.* Blood haemolysis by ceramics. **Biomaterials**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 107–110, 1993.
- DORATI, Rossella *et al.* **Biodegradable scaffolds for bone regeneration combined with drug-delivery systems in osteomyelitis therapy**. [S. l.: s. n.], 2017.
- DUTTA, Aastha. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization**, p. 73-93, 2017.
- KAWACHI, Elizabete Y. *et al.* Bioceramics: tendencies and perspectives of an interdisciplinary area. **Química nova**, 2002.
- ELLIOTT, J. C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. **Studies in Organic Chemistry**, v. 18, 1994.
- EL-WAKIL, Nahla *et al.* Risedronate-loaded aerogel scaffolds for bone regeneration. **Drug Delivery**, v. 30, n. 1, p. 51–63, 31 dez. 2023.
- FAHAM, Shadab *et al.* Spectrophotometric and visual determination of zoledronic acid by using a bacterial cell-derived nanopaper doped with curcumin. **Microchimica Acta**, [s. l.], v. 186, n. 11, p. 719, 2019.
- FAZIL, Mohammad *et al.* Biodegradable intranasal nanoparticulate drug delivery system of risedronate sodium for osteoporosis. **Drug Delivery**, v. 23, n. 7, 2016.
- FERNANDES, Hugo R *et al.* Bioactive glasses and glass-ceramics for healthcare applications in bone regeneration and tissue engineering. **Materials**, v. 12, p. 1–54, 2018.

FERNANDES, Ane J. D.; CORREIA, Liz J. H. Fosfatos de cálcio mesoporosos para entrega controlada de fármacos. **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 1, n. 28, p. 78, 2015.

FERNÁNDEZ, David; ORTEGA-CASTRO, Joaquín; FRAU, Juan. Theoretical study of the deposition and adsorption of bisphosphonates on the 001 hydroxyapatite surface: Implications in the pathological crystallization inhibition and the bone antiresorptive action. **Applied Surface Science**, v. 392, p. 204-214, 2017.

FERREIRA, Welberth S. *et al.* Propriedades estruturais e eletrônicas da hidroxiapatita a partir de cálculos de primeiros princípios. **Engevista**, v. 19, n. 1, p. 194–201, 2017.

FERREIRA, Iuri E. P.; TRINCA, Luzia A.; FERREIRA, Cláudia P. Efficient experimental designs for chemical kinetics studies. **Química Nova**, [s. l.], v. 37, n. 4, 2014.

FIHRI, Aziz *et al.* Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 347, p. 48–76, set. 2017.

FU, Qiang *et al.* Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. I. Preparation and *in vitro* degradation. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 95A, n. 1, p. 164–171, 2010.

GAUTAM, Gaurav; KUMAR, Sanjeev; KUMAR, Kamal. Processing of biomaterials for bone tissue engineering: State of the art. **Materials Today: Proceedings**, v. 50, n. 5, p. 2206-2217, 2022.

GERHARDT, Lutz-christian; BOCCACCINI, Aldo R. Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Materials**, v. 3, p. 3867–3910, 2010.

GHEISARI, Hassan; KARAMIAN, Ebrahim; ABDELLAHI, Majid. A novel hydroxyapatite -Hardystonite nanocomposite ceramic. **Ceramics International**, v. 41, n. 4, 2015.

GHOSH, Sujita; SHARMA, Archana; TALUKDER, Geeta. Zirconium - An abnormal trace element in biology. **Biological Trace Element Research**, v. 35, n. 3, 1992.

GOMES, Maria Luiza P.M. *et al.* Production and characterization of a novel artificial stone using brick residue and quarry dust in epoxy matrix. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 7, n. 4, 2018.

MACÍAS, Jesús G.; MARTÍNEZ, José M. O. Aminobisphosphonates: Reconsideration 25 years after their approval for the treatment of osteoporosis. **Medicina Clínica**, v. 159, n. 7, p. 336-343, 2022.

GRIZ, Luiz; COLARES, Viviane; BANDEIRA, Francisco. Tratamento da doença de Paget óssea: importância do ácido zoledrônico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 845–851, 2006.

GUASTALDI, Antonio C.; HERRERA, Anahi A. Fosfato de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1352-1358, 2010.

GUPTA, Smriti; MAJUMDAR, Shreyasi; KRISHNAMURTHY, Sairam. Bioactive glass: A multifunctional delivery system. **Journal of Controlled Release**, v. 335, p. 481–497, 2021.

GUTIERRES, Manuel *et al.* Substitutos ósseos: Conceitos gerais e estado atual. **Arquivos de Medicina**, v. 19, n. 4, p. 153–162, 2005.

HAGHIRALSADAT, Fateme *et al.* A comprehensive mathematical model of drug release kinetics from nano-liposomes, derived from optimization studies of cationic PEGylated liposomal doxorubicin formulations for drug-gene delivery. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. 1, 2018.

HEJBØL, Eva K. *et al.* Injectable scaffold materials differ in their cell instructive effects on primary human myoblasts. **Journal of Tissue Engineering**, v. 8, 2017.

HENCH, Larry L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487–1510, 1991.

HENCH, Larry L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 11, p. 967–978, 2006.

HENCH, Larry L. The future of bioactive ceramics. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, n. 2, 2015.

HENCH, Larry L. Bioactive glasses Importance of structure and properties in bone regeneration Elsevier Enhanced Reader. **Journal of Molecular Structure**, v. 1073, p. 24–30, 2014.

HENG, Paul W. S. Controlled release drug delivery systems. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 23, n. 9, p. 833–833, 2018.

HENKELMAN, S. *et al.* Standardization of incubation conditions for hemolysis testing of biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, n. 5, 2009.

HENSTOCK, J. R.; CANHAM, L. T.; ANDERSON, S. I. Silicon: The evolution of its use in biomaterials. **Acta Biomaterialia**, 2015.

HERRERA, A. Study of the influence of  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$  and  $CO_3^{2-}$  ions in the biomimetic crystallization of amorphous calcium phosphate (ACP) and conversion into octacalcium phosphate (OCP). **Quím. Nova**, v. 30, 2007.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 12, 1963.

HO, Yuh Shan. Review of second-order models for adsorption systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 136, n. 3, 2006.

HOARE, Todd R; KOHANE, Daniel S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymers with aligned carbon nanotubes: Active composite materials**, v. 49, n. 8, p. 1993–2007, 2008.

HOLZAPFEL, Boris M. *et al.* How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 4, p. 581–603, abr. 2013.

HOPPE, Alexander; GÜLDAL, Nusret S; BOCCACCINI, Aldo R. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. **Biomaterial**, v. 11, p. 2757–2774, 2011.

HUBBELL, Jeffrey A. Bioactive biomaterials. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 10, n. 2, p. 123–129, 1999.

IBRAHIM, Mahmoud Z. *et al.* Biomedical materials and techniques to improve the tribological, mechanical and biomedical properties of orthopedic implants – A review article. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 714, p. 636–667, 2017.

ILIESCU, C. *et al.* Characterization of masking layers for deep wet etching of glass in an improved HF / HCl solution. **Surface and Coatings Technology**, v. 198, p. 314–318, 2005.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-1:2018 - Biological evaluation of medical devices -- Part 1: Evaluation and testing within a risk management process. **International Organization for Standardization**, v. 2018, 2018.

ISO. ISO 10993-5:2009. **Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**, 2009.

ISO/FDIS 23317. **Implants for surgery-In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.iso.org>.

IZQUIERDO, Cristina de M.; OLIVEIRA, Marília G.; WEBER, João B. B. Terapêutica com bisfosfonatos: implicações no paciente odontológico-revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia**, v. 16, n. 3, p. 347-352, 2011.

JAEGER, Albert. Lithium. **Medicine**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 131–132, 2012.

JAYARAMA, A. *et al.* Materials Today: Proceedings Chemical etching of glasses in hydrofluoric Acid: A brief review. **Materials Today: Proceedings**, n. xxxx, 2022.

JESUS, I. G. C. de *et al.* Estudo da bioatividade de scaffold de vidro bioativo, quitosana e ranelato de estrôncio para regeneração óssea. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, 2020.

JONES, Julian R. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomaterialia**, v. 23, n. S, p. S53–S82, 2015.

JUNIOR, Paulo E Silva; ORÉFICE, Rodrigo L. Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli(Metacrilato de Metila). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n. 3, p. 109–115, 2001.

KANIS, John A. Osteoporosis III: Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. **Lancet**, v. 359, p. 1929–1936, 2002.

KAWACHI, Elizabete Y. *et al.* Bioceramics: Tendências and perspectives of na interdisciplinar area. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518–522, 2000.

KAY C. DEE, David A. Puleo, Rena Bizios. An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions. p. 248, 2002.

KAZARIAN, Sergei G. *et al.* Characterisation of bioactive and resorbable polylactide/Bioglass® composites by FTIR spectroscopic imaging. **Biomaterials**, v. 25, n. 18, 2004.

KHAJURIA, Deepak K. *et al.* Medicamentos para o tratamento da osteoporose: revisão. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 4, p. 372–382, 2011.

KIRSTE, Gloria *et al.* Effect of chloride ions in Tris buffer solution on bioactive glass apatite mineralization. **International Journal of Applied Glass Science**, v. 8, n. 4, 2017.

KOKUBO, Tadashi; KIM, Hyun-min; KAWASHITA, Masakazu. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, v. 24, p. 2161–2175, 2003.

KONG, Fanguo *et al.* Novel combinatorial transdermal drug delivery of alendronate with risedronate for the treatment of osteoporosis. **Acta Biochimica Polonica**, v. 66, n. 4, 2019.

KÖNNIG, D. *et al.* Mechanosensation across borders: fibroblasts inside a macroporous scaffold sense and respond to the mechanical environment beyond the scaffold walls. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 12, n. 1, 2018.

KORSMEYER, Richard W. *et al.* Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, 1983.

KUMAR, Priti; NAGARAJAN, Arvindhan; UCHIL, Pradeep D. Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. **Cold Spring Harbor Protocols**, pdb.prot095505, 2018.

KUMAR, K. Vasanth; KHADDOUR, Issam A.; GUPTA, Vinod K. A pseudo second-order kinetic expression for dissolution kinetic profiles of solids in solutions. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 16, 2010.

LANZA, Robert P; LANGER, Robert; VACANTI, Joseph. **Principles of Tissue Engeneering**. [s.l: s.n.]1039 p.

LI, Guanhua *et al.* Comprehensive investigation of in vitro hemocompatibility of surface modified polyamidoamine nanocarrier. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, [s. l.], v. 74, n. 3, 2020.

LIMMAHAKHUN, Sakkadech *et al.* 3D-printed cellular structures for bone biomimetic implants. **Additive Manufacturing**, v. 15, p. 93–101, maio 2017.

LIU, Dean Mo *et al.* Structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite. **Biomaterials**, v. 23, n. 7, 2002.

LIU, Xiao *et al.* Comparative studies of Tris-HCl, HEPES and NaHCO<sub>3</sub>/CO<sub>2</sub> buffer systems on the biodegradation behaviour of pure Zn in NaCl and SBF solutions. **Corrosion Science**, v. 157, 2019.

LOPES, Carla M. *et al.* Formas farmacêuticas de entrega modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 144–154, 2005.

LOWRY, Oliver H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

LURAGHI, Andrea; PERI, Francesco; MORONI, Lorenzo. Electrospinning for drug delivery applications: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 334, p. 463-484, 2021.

VALLET-REG, María; BALAS, Francisco; ARCOS, Daniel. Mesoporous Materials for Drug Delivery. **Chem.Int.**, p. 7548–7558, 2007.

MACIEJEWSKA, Karina *et al.* Role of trace elements (Zn, Sr, Fe) in bone development: Energy dispersive X-ray fluorescence study of rat bone and tooth tissue. **Institute of Stomatology, Katowice, Poland. Biofactors**, v. epub, p. 425–435, 2014.

MALLORIE, Amy; SHINE, Brian. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. **Surgery**, v. 33, n. 1, p. 1-6, 2022.

MATSUNAKA, Luis Eduardo Z.; FRANTZ, Julio Cesar. Analysis of the compressive strength of scaffolds manufactured by additive manufacturing applied in bone regeneration. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 93043–93069, 2021.

MCCUSKER, L. B.; LIEBAU, F.; ENGLEHARDT, G. Nomenclature of structural and compositional characteristics of ordered microporous and mesoporous materials with inorganic hosts (IUPAC recommendations 2001): Physical chemistry Division commission on colloid and surface chemistry including catalysis. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 58, n. 1, 2003.

MENAZEA, A. A.; ABDELGHANY, A. M. Gamma irradiated Hench's Bioglass and their derivatives Hench's Bioglass-ceramic for bone bonding efficiency. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 174, p. 108932, 2020.

MIGUEZ-PACHECO, V. *et al.* Development and characterization of lithium-releasing silicate bioactive glasses and their scaffolds for bone repair. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, 2016.

MILAK, Pamela. **Compósito alumina-vitrocâmico do sistema LZSA de elevada resistência ao desgaste**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2014.

MIRKHALAF, M. *et al.* Personalized 3D Printed Bone Scaffolds: A Review. **Acta Biomaterialia**, v. 156, p. 110-124, 2022.

MONTEDO, Oscar R. K. **Projeto, caracterização e preparação de camada de proteção para revestimento cerâmico constituída por vitrocerâmico do sistema LZSA**. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

MONTEDO, Oscar R. K. *et al.* Sintering behavior of LZSA glass-ceramics. **Materials Research**, v. 12, n. 2, 2009.

MONTEDO, Oscar R. K.; FLORIANO, Fernando J.; FILHO, Jaime De O. Sintering kinetics of a 18.8Li<sub>2</sub>O 8.3ZrO<sub>2</sub> 64.2SiO<sub>2</sub> 8.7Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glass ceramic. **Ceramics International**, v. 37, n. 6, 2011.

MONTEDO, Oscar R. K. *et al.* Effect of the crystalline layer on the electrical behaviour of 17.7Li<sub>2</sub>O·5.2ZrO<sub>2</sub>·68.1SiO<sub>2</sub>·9.0Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glass ceramic monoliths. **Ceramics International**, v. 47, n. 15, p. 21358–21366, 2021.

NAIDU, Shrishti *et al.* Silicon nanoparticles: Synthesis, uptake and their role in mitigation of biotic stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 255, 2023.

NAIR, Lakshmi S.; LAURENCIN, Cato T. Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8–9, p. 762–798, ago. 2007.

NARAYANASWAMY, Radhika; TORCHILIN, Vladimir P. Hydrogels and Their Applications in Targeted Drug Delivery. **Molecules**, v. 24, p. 1–18, 2019.

NAVARRO, M. *et al.* Biomaterials in orthopaedics. **Interface**, v. 5, p. 1137–1158, 2008.

NEAMTU, B. V. *et al.* Soft magnetic composites based on hybrid coated Fe-Si nanocrystalline powders. v. 330, p. 219–227, 2017.

NOTES, Literature. Biomateriais. **Rev Fac Ciênc Méd Sorocaba**, v. 22, n. 2, p. 83–84, 2020.

NUERNBERG, R. B.; FALLER, C. A.; MONTEDO, O. R. K. Crystallization kinetic and thermal and electrical properties of  $\beta$ -spodumeness/cordierite glass–ceramics. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 1, 2017.

OLADOYE, Peter O. *et al.* **Methylene blue dye: Toxicity and potential elimination technology from wastewater**. [S. l.: s. n.], 2022.

OLIVEIRA, Luciana S. de A. F. *et al.* Biomateriais com aplicação na. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 37, 2010.

OLIVEIRA, Lindomar G. *et al.* Osteoporosis Drug Treatment Update. **Revista Brasileira de Ortopedia**, [s. l.], v. 56, n. 5, p. 550–557, 2021.

ONG, Soon An *et al.* Biodegradation of redox dye Methylene Blue by up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 124, n. 1–3, 2005.

O'SHANNESY, Daniel J.; WINZOR, Donald J. Interpretation of deviations from pseudo-first-order kinetic behavior in the characterization of ligand binding by biosensor technology. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 236, n. 2, 1996.

PANDERI, Irene *et al.* Insights into the Mechanism of Separation of Bisphosphonates by Zwitterionic Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography: Application to the Quantitation of Risedronate in Pharmaceuticals. **Separations**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 6, 2019.

PATEL, Himanshu; VASHI, R. T. Feasibility of Naturally Prepared Adsorbent. **Characterization and Treatment of Textile Wastewater**. [s.l: s.n.]

PAUL, Willi; SHARMA, Chandra P. Ceramic Drug Delivery: A Perspective. **Biomaterials applications**, v. 17, p. 253–26, 2003.

PAUL, Willi; SHARMA, Chandra P. Ceramic Drug Delivery. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 17, p. 0253–12, 2007.

PEPPAS, Nicholas A.; NARASIMHAN, Balaji. Mathematical models in drug delivery: How modeling has shaped the way we design new drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, 2014.

PEREIRA, D. T. D.; OLIVEIRA, T. M.; DENADAI, Â. M. L. Uma visão geral dos sistemas de entrega controlada de fármacos. **Journal of Exact Sciences**, v. 35, p. 11–16, 20 out. 2022.

PIRES, Ana Luiza R.; BIERHALZ, Andréa C.K.; MORAES, Ângela M. Effectiveness of silver-impregnated central venous catheters for preventing catheter-related blood stream infections: a meta-analysis. **Química Nova**, v. 38, p. 957–971, 2015.

POSSOLLI, Natália M. *et al.* LZS bioactive glass-ceramic scaffolds: Colloidal processing, foam replication technique and mechanical properties to bone tissue engineering. **Open Ceramics**, v. 9, p. 67–78, 2022.

POSSOLLI, Natália M. *et al.* .Dissolution, bioactivity behavior, and cytotoxicity of 19.58Li<sub>2</sub>O-11.10ZrO<sub>2</sub>-69.32SiO<sub>2</sub> glass–ceramic. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, 2021.

POZZOBOM, I. E. F. *et al.* Processing and characterization of glass-ceramic foams belonging to the Li<sub>2</sub>O-ZrO<sub>2</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> (LZSA) system produced by gelcasting. **Revista Materia**, v. 19, n. 2, 2014.

PUTRA, Ananda *et al.* Association structure and solubility dynamic of methyl red and methylene blue in the system of water, sodium dodecyl benzene sulfonate and pentanol. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1876, 2021.

RABIEE, Sayed M. *et al.* Effect of ion substitution on properties of bioactive glasses: A review. **Ceramics International**, v. 41, n. 6, p. 7241–7251, 2015.

RADIN, S. *et al.* The effect of in vitro modeling conditions on the surface reactions of bioactive glass. **J Biomed Mater Res**. v. 5, p. 364–375, 1996.

RADOMINSKI, Sebastião C. *et al.* Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. **Revista Brasileira de Reumatologia**, [s. l.], v. 57, n. S 2, p. 452–466, 2017.

RAHMAN, Md Matiar *et al.* A statistical approach to determine optimal models for IUPAC-classified adsorption isotherms. **Energies**, [s. l.], v. 12, n. 23, 2019.

RALSTON, Stuart. H. Bone structure and metabolismo. **Medicine**, v. 41, n. 10, p. 581-585, 2021.

RATNER, B. D. (Buddy D.). **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine**. [s.l.] Elsevier Academic Press, 2013. 851 p.

RIBAS, Renata G. *et al.* Current advances concerning the most cited metal ions doped bioceramics and silicate-based. **Ceramics Internatio**, jul. 2019.

RICHES, P. *et al.* Bioactive Materials 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. **KeAi- Chinese Roots Global Impact**, v. 3, p. 278–314, 2018.

RINALDI, Mariana R. L. *et al.* Transdisciplinary treatment of Class III malocclusion using conventional implant-supported anchorage: 10-year posttreatment follow-up. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 20, n. 3, p. 69–79, 2015.

RUFINO, João; NETO, Bezerra. **ABORDAGEM AB INITIO DO ALENDRONATO DE SÓDIO MOLECULAR E TRÊS DE SEUS CRISTAIS**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Universidade Federal do Ceará, 2014.

RYAN, E. J. *et al.* Collagen scaffolds functionalised with copper-eluting bioactive glass reduce infection and enhance osteogenesis and angiogenesis both in vitro and in vivo. **Biomaterials**, v. 197, p. 405–416, 2019.

SALIMI, Anis; ROOSTA, Aliakbar. Experimental solubility and thermodynamic aspects of methylene blue in different solvents. **Thermochimica Acta**, v. 675, 2019.

SALINAS, Antonio J.; VALLET-REGÍ, María. Evolution of ceramics with medical applications. **Zeitschrift fur Anorganische und Allgemeine Chemie**, v. 633, n. 11–12, p. 1762–1773, 2007.

SANTOS, M. L. *et al.* Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: Nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Eclética Química**, v. 30, n. 3, 2005.

SANZ, Carolina K. **Produção, caracterização e avaliação in vitro de filmes finos de vidro niobo-fosfato por deposição a laser pulsado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.

SAVAJI, Kunal V.; NIITSOO, Olivia; COUZIS, Alexander. Influence of particle/solid surface zeta potential on particle adsorption kinetics. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 431, 2014.

SCAFFARO, Roberto *et al.* Development of polymeric functionally graded scaffolds: A brief review. **Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials**, v. 15, n. 2, p. 107-183, 2017.

SCHATKOSKI, Vanessa M. *et al.* Current advances concerning the most cited metal ions doped bioceramics and silicate-based bioactive glasses for bone tissue engineering. **Ceramics International**, v. 47, n. 3, p. 2999–3012, 2021.

SCHOBER, Hans Christof; MAUS, Uwe; DIMAI, Hans. Epidemiology of Osteoporosis. **Osteologie**, v. 32, n. 2, 2023.

SHI, H. *et al.* Hydroxyapatite based materials for bone tissue engineering: A brief and comprehensive introduction. **Crystals**, v. 11, p. 149, 2021.

SCHWARTSMANN, C. R. *et al.* Novas superfícies em artroplastia total do quadril. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 47, n. 2, p. 154–159, abr. 2012.

SILVA JUNIOR, P. E.; ORÉFICE, R. L. Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli(Metacrilato de Metila). **Polímeros**, v. 11, n. 3, p. 109–115, 2001.

SILVA, Viviane V. Aplicação de Biomateriais em Ortopedia e Engenharia de Tecido Ósseo. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 5, n. 2, p. 14–27, 2017.

SIQUEIRA, Renato L.; ZANOTTO, Edgar D. Biosilicate® historical of a highly bioactive brazilian glass-ceramic. **Química Nova**, v. 34, n. 7, 2011.

SMITH, R. I. *et al.* The structure of metastable lithium disilicate,  $\text{Li}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ . **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, [s. l.], v. 46, n. 3, p. 363–365, 1990.

SOARES, S. **Desenvolvimento de suportes porosos de vidro bioativo para aplicações biomédicas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Universidade da Beira Interior, 2012.

SOUZA, M. T. *et al.* Lithium-zirconium silicate glass-ceramics for restorative dentistry: Physicochemical analysis and biological response in contact with human osteoblast. **Materialia**, v. 2, p. 37–45, 2018.

SPEZZIA, Sérgio. Biomateriais. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 22, n. 2, p. 83–84, ago. 2021.

SU, Yingchao *et al.* Supplemental mineral ions for bone regeneration and osteoporosis treatment. **Engineered Regeneration**, v. 4, n. 2, p. 170-182, 2023.

SUÁREZ, M. *et al.* Novel antimicrobial phosphate-free glass–ceramic scaffolds for bone tissue regeneration. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

TEIXEIRA, Luyza B.; DE MORAES, Elisângela G.; DE OLIVEIRA, Antonio P. N. Influence of single-side ion exchange parameters in LZS and LZSA sintered glass-ceramics. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 61, n. 6, p. 663-676, 2021.

THOKE, Sagar B *et al.* Desenvolvimento de formulação e avaliação de comprimido efervescente de Alendronato de sódio de sódio com vitamina D3. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 3, n. 5, 2013.

TOTEA, Georgeta *et al.* In vitro hemocompatibility and corrosion behavior of new Zr-binary alloys in whole human blood. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, n. 7, p. 796–803, 2014.

VACULIKOVA, Eliska *et al.* Preparation of risedronate nanoparticles by solvent evaporation technique. **Molecules**, [s. l.], v. 19, n. 11, p. 17848–61, 2014.

VAKIFAHMETOGLU, Cekdar; SEMERCI, Tugce; SORARU, Gian Domenico. Closed porosity ceramics and glasses. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 103, n. 5, p. 2941-2969, 2020.

VALLET-REGÍ, Maria. Evolution of bioceramics within the field of biomaterials. **Comptes Rendus Chimie**, v. 13, p. 174–185, 2010.

VALLET-REGÍ, María; BALAS, Francisco; ARCOS, Daniel. Mesoporous Materials for Drug Delivery. **Angewandte Chemie**, v. 46, p. 7548–7558, 2007.

VIEIRA, Silvia *et al.* Nanoparticles for bone tissue engineering. **Biotechnology Progress**, v. 33, n. 3, p. 590–611, 2017.

VON AULOCK, F. W. *et al.* Advances in Fourier transform infrared spectroscopy of natural glasses: From sample preparation to data analysis, **Lithos**, v. 206–207, p. 52-64, 2014.

VON PETERSDORFF-CAMPEN, K.; DANERS, M. S. Hemolysis Testing In Vitro: A Review of Challenges and Potential Improvements. **ASAIO Journal**, v. 68, n. 1, p 3-13, 2022.

WAGNER, William. R. *et al.* Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. **Orthopedic Surgery**, 2020. 1–1586 p.

WALASH, M I *et al.* Spectrophotometric Determination of Risedronate in Pharmaceutical Formulations via Complex Formation with Cu (II) Ions: Application to Content Uniformity Testing **International Journal of Biomedical science**. [s.l: s.n.].

WANG, Biao *et al.* How zoledronic acid improves osteoporosis by acting on osteoclasts. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.

WANG, Xiaoyan *et al.* Mimicking bone matrix through coaxial electrospinning of core-shell nanofibrous scaffold for improving neurogenesis bone regeneration. **Biomaterials Advances**, [s. l.], v. 145, 2023.

WANG, Ying *et al.* Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 11, n. 2, p. 313–327, 2015.

YUE, Patrick Y.K. *et al.* A Simplified Method for Quantifying Cell Migration/Wound Healing in 96-Well Plates. **Slas Discovery**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 427–433, 2010.