

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS
COM CAPACIDADE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE FÁRMACOS A PARTIR
DE MATERIAIS ORGÂNICO-INORGÂNICOS
PARA IMPLANTODONTIA

JOÃO AUGUSTO OSHIRO JUNIOR

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. LEILA APARECIDA CHIAVACCI

ARARAQUARA – SP
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS
COM CAPACIDADE DE LIBERAÇÃO CONTROLADA
DE FÁRMACOS A PARTIR
DE MATERIAIS ORGÂNICO-INORGÂNICOS
PARA IMPLANTODONTIA

JOÃO AUGUSTO OSHIRO JUNIOR

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. LEILA APARECIDA CHIAVACCI

ARARAQUARA - SP
2014

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

O82d Oshiro Junior, João Augusto
Desenvolvimento de membranas com capacidade de liberação controlada de fármacos a partir de materiais orgânico-inorgânicos para implantodontia / João Augusto Oshiro Junior. – Araraquara, 2014.
89 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Leila Aparecida Chiavacci.
Coorientador: Bruno Leonardo Caetano.

1. Materiais híbridos orgânico-inorgânico. 2. Membranas ureasil-poliéter. 3. Liberação controlada de fármacos. 4. Acetato de dexametasona. 5. Regeneração óssea guiada.
I. Chiavacci, Leila Aparecida, orient. II. Caetano, Bruno Leonardo, coorient. III. Título.

CAPES: 40500005

Dedicatória

Dedico esse trabalho a Minha mãe, **Solange Zaccarone Carlos**, pela confiança em mim depositada, por me dar força para seguir em frente e nunca desanimar, pelo amor incondicional e pelos ensinamentos que levarei por toda a minha vida.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a **Deus**, por ter abençoado minha jornada, e nunca ter me abandonado nos momentos mais difíceis. .

A minha família, em especial a minha mãe, **Solange** e a minha irmã, **Juliana**, pelo amor, incentivo e força em todos os momentos, além de serem grandes exemplos de caráter e sabedoria.

Aos meus avôs, **Agostinha Zaccarone Garcia** e **Thomaz Carlos Garcia**, pelo incentivo, apoio e amor, além de acreditarem em mim e servirem de exemplo de vida.

Agradeço a minha orientadora **Prof^a. Dr. Leila Aparecida Chiavacci** pela dedicação, paciência, amizade e por todo conhecimento adquirido durante a realização desse trabalho e por ter me dado força nas situações adversas e pelos ensinamentos que me serviram de grande valia para meu crescimento pessoal e profissional.

A minha namorada e amiga, **Mariana Rillo Sato**, pela paciência, pela força, incentivo, pelas palavras amigas e principalmente por ter sido uma das poucas pessoas a acreditar que tudo daria certo!

Ao meu co-orientador **Dr. Bruno Leonardo Caetano** pela paciência, pela força, e pelas palavras de incentivo.

Aos meus amigos e amigas, **Mirela, Ana Claudia, Neima, Ariane, Marina, Kamila, Diego, Leandro Lopes, Danila, Natalia Rissi, Felipe Oliveira, Lucas, Cassio Rocha, Luis Guilherme, Claudia Tucci, Renato Rachid, Celia Tucci, Anselmo Alencar, Daniel Alencar, Marco Dias, Renata Kaminski, Cristiano e Tais** pela ajuda, apoio e amizade.

Às amigadas que fiz durante a realização desse trabalho e que se tornaram pela força, pessoas muito especiais na minha vida, **Eloísa B. Manaia**, **Letícia Shiota** e **Juliana Fernandes Mendes**, agradeço o companheirismo e incentivo.

Agradeço também a **Flávia Carvalho Chiva**, pelos sábios ensinamentos e pela paciência.

Ao Instituto de Química da UNESP/Araraquara, em especial ao professor **Celso V. Santilli**, pelo espaço cedido no laboratório para a realização desse trabalho.

Aos professores **André Gonzaga dos Santos**, **Luis Vitor Silva do Sacramento**, **Patricia Mastroianni**, **Christiane Pienna Soares** e **Marlus Chorilli** pelos sábios ensinamentos e pela paciência e a professora **Rosemary Adriana Chierici Marcantonio**, por ter cedido um espaço no laboratório para a realização deste trabalho.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP), em especial aos técnicos de laboratório **Fátima Rodrigues** e **Mateus Scontri** pela amizade e pela ajuda dada na realização de meus experimentos.

Seção de Pós-graduação, em especial à **Cláudia**, **Joyce**, **Daniela**, **Márcia** e **Chico** pela atenção e apoio.

A CAPES, pela ajuda financeira na forma de bolsa de mestrado.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização desta dissertação, meu agradecimento.

“O mundo não é um mar de rosas;
é um lugar sujo, um lugar cruel,
que não quer saber o quanto você é durão.
Vai botar você de joelhos e você
vai ficar de joelhos para sempre se você deixar.
Você, eu, ninguém vai bater tão forte como a vida,
mas não se trata de bater forte.
Se trata de quanto você aguenta apanhar e seguir em
frente, o quanto você é capaz de
aguentar e continuar tentando.
É assim que se consegue vencer.
Agora se você sabe do teu valor,
então vá atrás do que você merece,
mas tem que estar preparado para apanhar.
E nada de apontar dedos,
dizer que você não consegue por causa dele ou dela,
ou de quem quer que seja.
Só covardes fazem isso e você não é covarde,
você é melhor que isso”.

Michael S. G. Stallone

RESUMO

Dentre as membranas utilizadas para regeneração óssea guiada as membranas reabsorvíveis se destacam por não necessitarem do segundo ato cirúrgico, fato esse que pode ocasionar lesões no tecido estabelecido além do desconforto que o segundo ato cirúrgico em si proporciona ao paciente. Entretanto, não existe no mercado uma membrana considerada adequada. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma membrana a partir de materiais híbridos ureasil-poliéter para regeneração óssea guiada, capaz de isolar o enxerto ósseo e simultaneamente liberar de forma controlada fármacos ou proteínas, resultando assim em uma membrana capaz de melhorar a resposta fisiológica do tecido ósseo diminuindo o tempo de neoformação óssea. Os materiais utilizados foram sintetizados a partir do método sol-gel utilizando os polímeros Poli Óxido de Etileno (POE) e Poli Óxido de Propileno (POP) de diferentes massas moleculares (400, 1900, 2000 g mol⁻¹). O fármaco utilizado como modelo foi o Acetato de Dexametasona. Os resultados de intumescimento na presença de saliva artificial revelaram que com o aumento na proporção de ureasil-POP2000 e ureasil-POE1900 na mistura ocorre um aumento no ganho de massa, contudo esse aumento é mais expressivo para as misturas com ureasil-POE1900. A evolução das curvas de SAXS durante os experimentos de liberação com saliva artificial revela que a mistura formada por ureasil-POP400/POE1900 leva ao deslocamento do pico de correlação para baixos valores de q e ao aumento na intensidade do pico, por outro lado devido à razão hidrofóbica na mistura ureasil-POP400/POP2000 esse deslocamento para baixos valores de q é invariável. O teste de liberação revelou que é possível controlar a velocidade de liberação do fármaco a partir da variação das misturas ureasil-POP400/POP2000 e ureasil-POP400/POE1900. Resultados da análise de microtomografia óssea revelaram que os defeitos ósseos contendo as membranas ureasil-poliéter apresentaram valores de crescimento ósseos estatisticamente iguais aos defeitos contendo a membrana comercial de colágeno (Bio-Gide, Geistlich Pharma).

ABSTRACT

Among the membranes used for guided bone regeneration the resorbable membranes stand out for do not need the second surgery, a fact that can cause tissue damage beyond uncomfortable that the second surgery itself provides the patient. However, there is no on the market a membrane considered appropriate. The objective of this study was to develop a membrane from hybrid materials ureasil polyether for guided bone regeneration, able to isolate the bone graft and simultaneously drug release controlled or protein, resulting in a membrane capable of improving the physiological response of the tissue bone decreasing the bone formation. The materials used were synthesized from sol-gel method using polymers poly ethylene oxide (POE) and poly propylene oxide (POP) of different molecular weights (400, 1900, 2000 g mol⁻¹). The drug used as model was dexamethasone acetate. The results of swelling in the presence of artificial saliva showed that with the increase in the proportion of ureasil-POP2000 and ureasil POE1900 in the mixture occurred an increasing mass, but this increase is more significant for mixture with the ureasil-POE1900. The evolution of SAXS curves during the release experiment with artificial saliva reveals that the mixture formed by ureasil-POP400/POE1900 leads to displacement of the correlation peak for low values of q and the increase in the intensity of the peak but the reason hydrophobic in the mix ureasil-POP400/POP2000 this displacement for low values of q is invariable. The release test showed that it is possible to control the release rate of the drug from the variation of the mixtures and ureasil-POP400/POP2000 ureasil-POP400/POE1900. Results of the microtomography showed that bone defects containing the ureasil-polyether membranes tested showed bone growth statistically similar to bone defects containing commercial collagen membrane (Bio-Gide, Geistlich Pharma).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Técnica de regeneração óssea guiada: a) Sem membrana b) Com membrana c) Membrana “ideal” com capacidade de liberação controlada de substâncias (Adaptada de HERCULANO, 009).....	17
Figura 2. Diferença do perfil de liberação de fármacos em sistema convencional e sistema de liberação controlada.....	18
Figura 3. Esquema estrutural proposto para um composto híbrido (REKONDO et al., 2006).....	20
Figura 4. Estrutura química do acetato de dexametasona.....	31
Figura 5 - Observa-se cápsula formada por delgados feixes de fibras de colágeno () dispostas de maneira desordenada entremeados por intenso infiltrado de células inflamatórias constituído principalmente por leucócitos mononucleares (macrófagos e linfócitos). Nesse caso também observa-se figuras vasculares de variados calibres ingurgitados de hemácias (estase vascular). Aumento original de 10x, HE (MORTARI, 2011).....	34
Figura 6. Observa-se cápsula fibrosa delgada formada por feixes de fibras de colágeno () dispostas horizontalmente e bem modulados, menor quantidade células fusiformes, variados leucócitos e pequenas figuras vasculares (). Aumento original de 20x, HE (MORTARI, 2011).....	35
Figura 7. Ganho de massa da matriz híbrida ureasil-POP400 durante o teste de intumescimento (Adaptada de MENDES, 2012).....	36
Figura 8. Ganho de massa da matriz híbrida ureasil-POE1900 durante o teste de intumescimento (Adaptada de MENDES, 2012).....	36
Figura 9. Comparação entre as curvas de liberação para amostras híbridas preparadas com diferentes cadeias poliméricas (POE e POP) e diferentes massas moleculares (MENDES, 2012).....	37
Figura 10. Perfil de liberação da dexametasona incorporada nas matrizes híbridas POE 500, POE 1900, POP 400 e POP 2000 sintetizadas em THF (MENDES, 2012).....	38
Figura 11. Esquema da formação do precursor ureasil-POP e ureasil-POE...	43

Figura 12. Esquema da formação das membranas ureasil-POP e ureasil-POE a partir do precursor submetido as reações de hidrólise e condensação.....	44
Figura 13. Confeção dos defeitos ósseos circulares com 5 mm diâmetro.....	49
Figura 14. Implante das membranas e sutura da incisão.....	49
Figura 15. Aspectos das membranas ureasil-POP400/POE1900 em diferentes proporções: a) 90:10; b) 80:20; c) 70:30; d) 60:40.....	53
Figura 16. Aspectos das membranas híbridas ureasil-POP400/POP2000 em diferentes proporções: a) 90:10; b) 80:20; c) 70:30 ; d) 60:40.....	53
Figura 17. Possíveis Sítios de ligações entre material ureasil-poliéter e o fármaco modelo.....	54
Figura 18. Aspectos das membranas híbridas contendo concentrações ideais do fármaco acetato de dexametasona; a) ureasil-POP400/POP2000 sem fármaco; b) ureasil-POP400/POP2000 contendo 3% de fármaco; c) ureasil-POP400/POE1900 sem fármaco; d) ureasil-POP400/POE1900 contendo 3% de fármaco.....	55
Figura 19. Aspectos das membranas híbridas contendo diferentes concentrações do fármaco acetato de dexametasona; a) ureasil-POE1900 contendo 5% de fármaco; b) ureasil-POE1900 contendo 6% de fármaco; c) ureasil-POP400 contendo 10% de fármaco; d) ureasil-POP400 contendo 15% de fármaco.....	56
Figura 20. Comparação do aumento de massa entre as misturas das membranas híbridas ureasil-POP400/POE1900 durante o teste de intumescimento.....	57
Figura 21. Comparação do aumento de massa entre as misturas das membranas híbridas ureasil-POP400/POP2000 durante o teste de intumescimento.....	57
Figura 22. Curvas de SAXS para as membranas ureasil-POE1900 com ou sem 3% de dexametasona, coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial.....	59
Figura 23. Curvas de SAXS para as membranas ureasil-POP400 com ou sem 3% de dexametasona, coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial.....	60

Figura 24. Curvas de SAXS para as membranas ureasil-POP2000 com ou sem 3% de dexametasona, coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial.....	61
Figura 25. Curvas de SAXS coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial para as misturas das membranas ureasil; (a) ureasil-POP400/POP2000 (70:30) contendo 3% dexametasona, (b) ureasil-POP400/POE1900 (70:30) contendo 3% dexametasona.....	62
Figura 26. Curva analítica do acetato de dexametasona em tampão fosfato pH 7.2.....	64
Figura 27. Perfil de liberação do acetato de dexametasona incorporada nas membranas ureasil-POP400/POE1900 em diferentes proporções.....	65
Figura 28. Perfil de liberação do acetato de dexametasona incorporada nas membranas ureasil-POP400/POP2000 em diferentes proporções.....	66
Figura 29. Fotomicrotomografia dos defeitos ósseos contendo a membrana de colágeno; (a) 7 dias (b) 15 dias (c) 30 dias; (d) 60 dias.....	71
Figura 30. Fotomicrotomografia dos defeitos ósseos contendo a membrana ureasil-POP400/POP2000; (a) 7 dias (b) 15 dias (c) 30 dias; (d) 60 dias.....	72
Figura 31. Fotomicrotomografia dos defeitos ósseos contendo a membrana ureasil-POP400/POE1900; (a) 7 dias (b) 15 dias (c) 30 dias; (d) 60 dias.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidades de reagentes utilizados na síntese das matrizes híbridas.....	44
Tabela 2. Número de materiais colocados por grupo, segundo período (dias).	51
Tabela 3. Posição dos picos no vetor de espalhamento ($q_{\text{máx}}$) e distância de correlação (d) entre os grupamentos ureasil e a região polimérica da membrana e a variação da do grau de intumescimento em % (Δd).....	64
Tabela 5. Porcentagem de Acetato de dexametasona liberada após 134h a partir das membranas Ureasil-POP400/POP2000.	68
Tabela 6. Expoentes da equação de Korsmeyer-Peppas para as diferentes membranas ureasil-POP400/POE1900.....	70
Tabela 7. Expoentes da equação de Korsmeyer-Peppas para as diferentes membranas ureasil-POP400/POE2000.....	71
Tabela 8. Percentual de volume ósseo para os defeitos na calota craniana nos seguintes períodos: 7, 15, 30 e 60 dias.....	74

LISTA DE ABREVIATÖES

POE 1900 – Poli óxido etileno de massa molecular 1900

POP 2000 – Poli óxido propileno de massa molecular 2000

POP 400 – Poli óxido propileno de massa molecular 400

THF – Tetrahidrofurano

HCl – Ácido clorídrico

SAXS – Espalhamento de raios-X a baixo ângulo

ROT – Regeneração óssea tecidual

ROG – Regeneração óssea guiada

BMP – Proteína morfogenética óssea

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 Membranas utilizadas na técnica de regeneração óssea guiada (ROG)	22
2.2 Substitutos ósseos (Biomaterial) de origem natural ou sintética.	23
2.3 Tecido ósseo.....	25
2.4 Polímeros	27
2.4.1 Polímeros Sintéticos: Híbridos Orgânico-Inorgânicos	28
2.5 Dexametasona.....	30
3. RESULTADOS ANTERIORES OBTIDOS PELO GRUPO DE PESQUISA ..	33
4. JUSTIFICATIVA.....	39
5. OBJETIVOS	40
5.1. Objetivo Geral.....	40
6. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
6.1. Materiais	41
6.2. Métodos	42
6.2.1 Preparação das membranas ureasil-POP400/POP2000 e ureasil-POP400/POE1900.....	42
6.2.2 Incorporação do fármaco nas membranas ureasil-polieter.....	45
6.2.3 Intumescimento das membranas ureasil-polieter.....	45
6.2.4 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS).....	45
6.2.5 Curva Analítica	46
6.2.6. Teste de liberação da dexametasona nas membranas	47
6.2.7. Teste “ <i>in vivo</i> ”.....	47
6.2.7.1. Comitê de ética	47
6.2.7.2. Amostra.....	47
6.2.7.3 Descrição da técnica cirúrgica	48

6.2.7.4. Obtenção das peças cirúrgicas.....	50
6.2.7.5 Avaliação radiográfica tridimensional (Micro-CT)	50
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
7.1 Preparação das membranas ureasil-POP400/POP200 e ureasil-POP400/POE1900.	52
7.2 Incorporação do fármaco nas membranas ureasil-polieter	54
7.3 Intumescimentos “ <i>in vitro</i> ”	56
7.4 Espalhamentos de raios-X a baixo ângulo (SAXS)	58
7.5 Ensaios de liberação “ <i>in vitro</i> ” do acetato de dexametasona	64
7.5.1 Curva analítica (Linearidade)	64
7.5.2 Teste de liberação da dexametasona a partir das membranas	64
7.6 Ensaios “ <i>in vivo</i> ”	71
8. CONCLUSÕES.....	75
9. REFERÊNCIAS	76
10. ANEXO 1	89

1. INTRODUÇÃO

Na implantodontia, cujo ramo de estudo se destina ao tratamento do edentulismo, técnicas de enxertia óssea são frequentemente utilizadas, quando, por exemplo, a qualidade e a quantidade de tecido ósseo disponível na região receptora dos implantes estão comprometidas, afetando o aspecto estético e funcional da reabilitação protética, uma vez que os implantes necessitam de uma quantidade mínima de osso para ter uma estabilidade aceitável (CARVALHO et al., 2004).

A qualidade e quantidade de tecido ósseo diminuem quando não existe a possibilidade de implantar a prótese logo após a retirada ou perda do dente, devido ao início do processo de reabsorção do tecido ósseo alveolar (CARVALHO et al., 2004). O processo de reabsorção alveolar ocorre principalmente nos seis primeiros meses diminuindo a parede do tecido ósseo alveolar em aproximadamente 40% em altura e 60% de largura (ATWOOD, 1963).

Nestas situações biomateriais (substitutos ósseos de origem natural ou sintética) devem ser utilizados para preenchimento do defeito ósseo e minimizar o colapso do tecido ósseo alveolar. Dentre esses materiais podemos citar: enxerto ósseo autólogo, homólogo, xenogênico e os substitutos ósseos cerâmicos e poliméricos (GEIGER et al., 2003; MOGHADAM et al., 2001; TAKEDA, KARSENTY, 2001). Os enxertos restabelecem a anatomia óssea, melhoram o posicionamento e anatomia do tecido gengival e possibilitam uma melhor posição do implante, favorecendo a estética. Esses enxertos são utilizados para o preenchimento ósseo juntamente com uma membrana de barreira física no processo cirúrgico que é denominado de Técnica de regeneração óssea guiada (ROG). Essa técnica é uma das mais utilizadas para restauração do tecido ósseo, tendo como princípio a seletividade celular, permitindo através do uso dessas membranas a melhora na neoformação óssea, devido a sua ação que permite excluir as células do tecido conjuntivo da área onde foi realizado o preenchimento do defeito ósseo com o enxerto (SERRA et al., 2005).

Entretanto, para que a membrana possa atuar como barreira, é necessária que possua características fundamentais como: biocompatibilidade, propriedades oclusivas, capacidade de criação de espaço, integração tecidual e ser clinicamente manuseável (HARDWICK et al., 1996). Além disso, as membranas devem promover regeneração óssea de forma previsível, sem a presença de efeitos colaterais. Estas membranas para atuarem como barreiras devem também ser de fácil manipulação, custo acessível e de sucesso previsível (TRIPLETT et al., 2001). Uma das grandes desvantagens das membranas reabsorvíveis são a sua instabilidade no sítio cirúrgico (não fixação), alguns pesquisadores buscam promover essa estabilidade no tecido ósseo por meio de um adesivo químico, com características de biocompatibilidade, viabilidade na execução da técnica, fácil aplicação e com baixo custo (CZAJA et al., 2007; FAION, 2009).

Uma membrana ideal seria aquela que conseguisse acelerar o processo de neoformação, através da liberação controlada de substâncias como fármacos ou proteínas morfogênicas ósseas, como a proteína morfogênica óssea (HERCULANO, 2009), facilitando a restauração e regeneração da estrutura e da função do tecido danificado. A figura 1 ilustra esse processo.

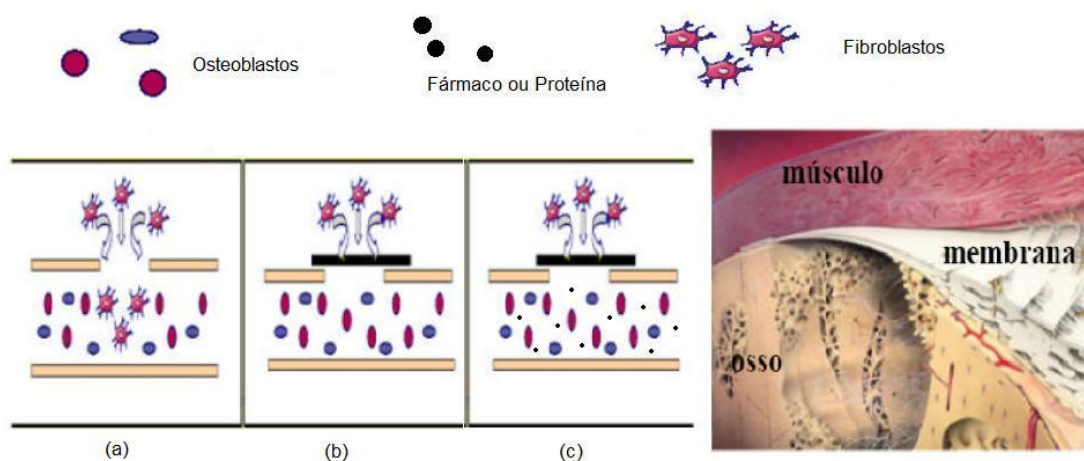


Figura 1. Técnica de regeneração óssea guiada: a) Sem membrana b) Com membrana c) Membrana “ideal” com capacidade de liberação controlada de substâncias (Adaptada de HERCULANO, 2009).

Pode-se observar na figura 1.a, um defeito ósseo sem membrana com migração de fibroblastos para dentro do tecido ósseo desfavorecendo a regeneração, enquanto que a figura 1.b, a membrana atua como barreira evitando com que as células do tecido conjuntivo invadam o tecido ósseo e a figura 1.c, temos uma membrana que além de evitar a migração de fibroblastos também atuam como um sistema de liberação controlada de fármaco ou proteínas morfogénéticas ósseas que auxiliam em uma melhor neoformação óssea.

Para essa finalidade, diversos tipos de materiais poliméricos vêm sendo estudados nas últimas décadas com o objetivo de obter sistemas híbridos com capacidade de liberação controlada de fármacos (REKONDO et al., 2006; MOLINA et al., 2005; SANTILLI et al., 2009).

Os sistemas de liberação controlada visam manter a concentração adequada do fármaco, durante um longo período de tempo (Figura 2) (PETITI, VANNI, BARRESI, 2008).

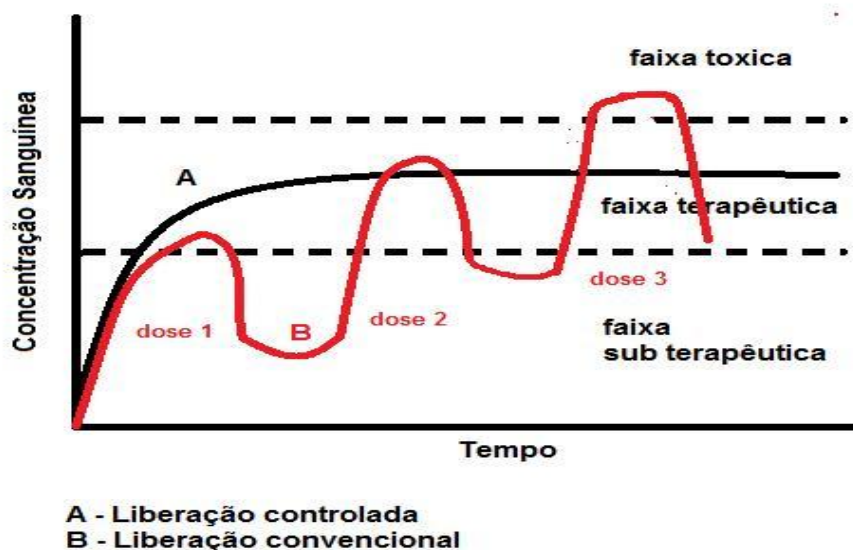


Figura 2. Diferença do perfil de liberação de fármacos em sistema convencional e sistema de liberação controlada.

A finalidade desses sistemas é modular o perfil de liberação de um princípio ativo, uma vez que todo fármaco possui a sua faixa de ação terapêutica na qual estando acima se torna tóxico e abaixo ineficaz.

Quando a liberação é controlada no sentido de manter a concentração do fármaco ou do princípio ativo dentro da faixa de ação terapêutica por um período estendido, aplicando-se de uma única dosagem, temos a liberação prolongada (FARRELL, HESKETH, 2002; DUMITRIU, 1994).

Esses dispositivos podem melhorar a biodisponibilidade dos fármacos que passam por metabolismo hepático pré-sistêmico quando administrados por via oral e consequentemente otimizar a farmacoterapia, uma vez que consegue-se manter a concentração adequada no plasma, não necessitando assim de várias administrações diárias (KUMAR et al., 2011).

A classificação mais fundamental desses dispositivos para liberação controlada baseia-se na sua estrutura, sendo classificado como sistemas reservatórios, sistemas matriciais ou monólitos e dispositivos mistos (TONGWEN, BINGLIN, 2000).

Nos sistemas matriciais, o fármaco encontra-se homogeneamente disperso ou solubilizado no interior da matriz; Sistema reservatório se pode encontrar um núcleo diferenciado, podendo ser de um princípio ativo sólido ou uma solução líquida (BARRAT, 2000; KAN et al., 1999).

Essas tecnologias recentes para sistemas poliméricos permitem substituir os sistemas poliméricos convencionais de liberação, uma vez que com mudanças na estrutura é possível aperfeiçoar características mecânicas, ópticas e estruturais (REKONDO et al., 2006; MOLINA et al., 2005; SANTILLI et al., 2009) tendo um impacto direto nas áreas da medicina, farmácia, odontologia, química e ciências dos materiais, uma vez que, a produção de novos sistemas e materiais podem vir a ser desenvolvido com diversas vantagens em relação aos usuais.

Sendo assim, materiais nanoestruturados híbridos orgânico-inorgânicos podem ser uma alternativa para a produção de novos dispositivos multifuncionais (JOSE, PRADO, 2005), através do processo sol-gel, materiais híbridos orgânico-inorgânicos da família ureasil-poliéter são particularmente interessantes por serem biocompatíveis e possuírem propriedades ópticas e mecânicas superiores aos poliéters puros (JUDEINSTEIN et al., 1994; CHAKER et al., 2005; CHIAVACCI et al., 2004).

Nestes materiais, as nanopartículas de siloxanos servem de pontos de reticulação entre cadeias poliméricas resultando em uma rede tridimensional (Figura 3) (REKONDO et al., 2006).

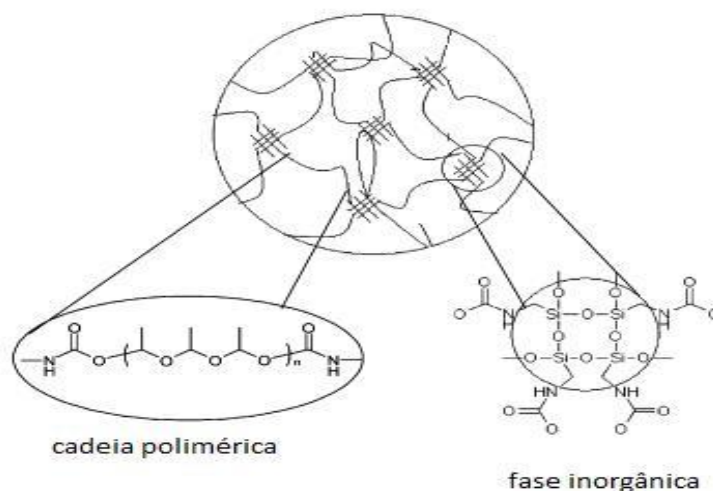


Figura 3. Esquema estrutural proposto para um composto híbrido (REKONDO et al., 2006).

A associação das características dos compostos orgânicos (poliéters) com aquelas inerentes aos inorgânicos (siloxano) permite a obtenção de materiais com propriedades únicas, uma vez que as moléculas orgânicas melhoraram as características da matriz e podem conferir propriedades ao material como: óptica, elétrica, reatividade química ou bioquímica. A parte inorgânica do material nanoestruturado melhora a estabilidade térmica e mecânica, permite a modulação do índice de refração e confere também aumento da resistência mecânica e térmica (ZOPPI, NUNES, 1997). Além disso, as propriedades reológicas favorecem o processamento do material final com diferentes formas e tamanhos. Por utilizar a rota do processamento original de polímeros esses novos materiais se tornam mais fáceis de serem produzidos industrialmente (WANG, HONG, 2011).

Por outro lado, o processo sol gel usado na fabricação desses híbridos permite preparar com facilidade corpos e filmes transparentes de formato e espessuras variadas, sem alterar a biocompatibilidade inerente aos poliéters.

Diante de todas essas vantagens, o objetivo deste trabalho foi desenvolver membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter para serem utilizadas

como barreira física na técnica de regeneração óssea guiada com liberação controlada de fármacos, promovendo uma melhor neoformação óssea.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Membranas utilizadas na técnica de regeneração óssea guiada (ROG)

Na prática clínica, a regeneração de um tecido precisa ser orientada para resultar em uma fisiologia nova e funcional, em implantodontia a ROG auxilia a restauração do tecido ósseo pelo princípio de impedir a concorrência entre células de regeneração óssea com as células dos tecidos moles (WESCLER et al., 2007).

Essa técnica se baseia no conceito da regeneração óssea tecidual (ROT) onde proponha que o sucesso e a rapidez na cura de uma área lesada dependem da população celular presente naquela região lesionada (MELCHER, 1969).

A partir desse princípio pesquisadores introduziram a ROG a mais de duas décadas e essa técnica ficou definida como aquela que visa à regeneração do tecido ósseo a partir da exclusão de células com o auxílio de uma barreira física (membranas) (DAHLIN et al., 1988). Essas membranas podem ser de dois tipos: reabsorvíveis e não-reabsorvíveis.

Inicialmente as primeiras membranas eram constituídas de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e) classificadas como não-reabsorvíveis, contudo elas requerem um segundo ato cirúrgico para retirá-la, comprometendo assim o sucesso do procedimento uma vez que o segundo ato cirúrgico pode perturbar os tecidos neoformados (PEREIRA et al., 2011). As membranas reabsorvíveis, no entanto tem a vantagem de eliminar essa segunda fase cirúrgica, assim como o trauma para os tecidos neoformados (QUINONES, CAFESSE, 1995).

Em grande maioria essas membranas são de copolímeros de glicose e lactose, de ácido polilático e poliuretano (LINDHE, 2005). Uma das grandes desvantagens das membranas reabsorvíveis são a sua instabilidade no sítio cirúrgico (não fixação), alguns pesquisadores buscam promover essa estabilidade no tecido ósseo por meio de um adesivo químico, com características de biocompatibilidade, viabilidade na execução da técnica, fácil aplicação e com baixo custo. O etilcianocrilato (Superbonder®) é um dos

adesivos que veem sendo utilizado para essa finalidade (CZAJA et al., 2007; FAION, 2009). Uma vez que a instabilidade citada sendo reparada por fixação de adesivos químicos é uma desvantagem, contudo não há um estudo avaliando histologicamente a cicatrização óssea após o uso do adesivo nas membranas reabsorvíveis (PERREIRA ET al., 2011).

A membrana reabsorvível precisa ser composta de material que possa sofrer reabsorção através do processo de hidrólise e degradação macromolecular através de enzimas como fosfatase ácida e a collagenase que serão posteriormente metabolizados em água e dióxido de carbono sendo excretados pelo corpo sem ocasionar nenhum efeito colateral (BRADY et al., 1973; TRIPLET et al., 2001). Apesar das diferenças citadas entre as membranas absorvíveis e não-absorvíveis, alguns estudos não demonstraram diferenças significativas entre ambas em relação a neoformação óssea. (CAFESSE et al., 1997; SANDBERG et al., 1993; PIATELLI et al., 1996; LUNDGREN et al., 1997). Mesmo assim as membranas não-reabsorvíveis continuam como referência nos procedimentos de ROG, devido aos seus riscos e benefícios estarem bem estudados e por apresentarem vantagens como biocompatibilidade e previsibilidade clínica por mais de 20 anos de uso, desvantagens como custo elevado e necessidade de um segundo ato cirúrgico ficam em segundo plano (TRIPLETT et al., 2001).

A membrana para ROG deve também ter capacidade de resistir a pressões exercidas pelo tecido sobrejacente e as forças externas como a mastigação, e o seu modo de colocação na lesão em geral consiste em cortar a membrana e deve ser manuseada com facilidade sem esfiapar-se ou fragmentar-se (HARDWICK et al., 2001).

2.2 Substitutos ósseos (Biomaterial) de origem natural ou sintética.

Substitutos ósseos podem ser classificados quanto a sua origem: natural ou sintético. Os substitutos ósseos de origem natural podem ainda ser classificados como: Autógenos, Homógenos e Xenógenos.

O enxerto ósseo autólogo é o método reconstrutivo considerado o “padrão ouro”, e o tecido enxertado é removido do próprio paciente, o que o torna vantajoso, pois evita complicações de rejeição regenerativa (GEIGER et

al., 2003; DE CARVALHO et al., 1997). Entretanto, existem situações em que o enxerto ósseo autólogo não é recomendado, pois não há quantidade de tecido ósseo intra oral suficiente pra preenchimento ou para correção dos defeitos (GEIGER et al., 2003; MOGHADAM et al., 2001; TAKEDA, KARSENTY, 2001; LANE et al., 1999). Outros fatores desfavoráveis como morbidade do sítio doador, necessidade de dois sítios cirúrgicos (receptor e doador), presença de dor crônica, lesões vasculares, entre outros, inviabilizam a utilização do tecido autólogo, estimulando a busca de novas técnicas de enxertia (MISCH, 2002; SUMMERS, EISENTEIN, 1989).

Na tentativa de substituir o tecido autólogo, novos substitutos ósseos vêm sendo desenvolvidos. Contudo, esses substitutos ósseos possuem limitantes se comparados com o tecido autólogo, tais como maior suscetibilidade a infecções e ausência de estudos que comprovem a sua total integração com o paciente (GROSS, 1997; DEMPSTER et al., 1999).

A alternativa mais utilizada ao enxerto autólogo é o enxerto Homólogo, onde o material é obtido de espécie semelhante, mas geneticamente diferente. Neste método, o tecido usado é retirado de osso humano estocado sob vários tamanhos e formas. Outra opção é o enxerto Xenólogo, no qual o tecido é obtido de uma espécie animal diferente, como por exemplo, de bovinos, suínos e caprinos. Ambos possuem desvantagens como possível reação de corpo estranho pelo hospedeiro, alta reabsorção do material e grande potencial de transmissão de doenças (BONFIGLIO, JETER, 1972; HOLLINGER et al., 1998; KENLEY et al., 1993). Para que esses substitutos ósseos executem com sucesso a sua finalidade, características como biocompatibilidade, aplicabilidade clínica, ausência de riscos transoperatórios e sequelas pós-operatórias mínimas são necessárias (SERVICE, 2000).

Os biomateriais de origem sintética podem ser de cerâmicas a base de cálcio, metais, silicone, polimetilmetacrilato, polietileno, vidro bioativo e polímeros sintéticos. Os metálicos são aqueles que apresentam, quando na forma sólida, ligações metálicas em sua composição. Já os cerâmicos são aqueles obtidos pelo cozimento ou queima de minerais não metálicos, enquanto que os poliméricos seriam compostos formados pela combinação de unidade menor, unida por ligações covalentes, formando macromoléculas (WILLIAMS et al., 1987).

No quesito formação de osso, estes biomateriais ainda estão em déficit, principalmente no crescimento ósseo em altura; muitos deles não conseguem formar grandes quantidades ósseas necessárias.

2.3 Tecido ósseo

O tecido ósseo possui aproximadamente 20% do peso corporal, formando assim o esqueleto, sendo este composto por mais de duzentos ossos. Desempenha funções fundamentais para promover a sustentação do corpo, suporte para tecidos moles, compõe o músculo esquelético, proteção para as vísceras, armazena cálcio e fósforo e serve como reservatório de fatores de crescimento e citocinas e aloja células-tronco hematopoiéticas (SALTER, 1985; MOTA et al., 2008. CLARKE, 2008).

Uma característica do comportamento ósseo é sua capacidade autoadaptativa, que consiste em alterar sua estrutura dependendo do ambiente mecânico e fisiológico. Os ossos podem crescer na infância, podem cicatrizar durante um processo de reparação de fratura e sofrer uma remodelação interna que ocorre durante toda a vida. Esses processos são geridos por fatores mecânicos, hormonais e fisiológicos (DOBLARE et al., 2004).

A matriz óssea é constituída de matriz orgânica sendo esta formada por colágeno tipo I, pouca quantidade de proteoglicanas e glicoproteínas adesivas, tendo como função ser responsável por fornecer resistência à tração, enquanto que a matriz inorgânica é formada por íons fosfato, cálcio, bicarbonato, potássio, sódio e citrato. A união de componentes como o fosfato e o cálcio dá origem a estruturas cristalinas de hidroxapatita que juntamente com o colágeno confere resistência à compressão e rigidez a matriz óssea (DOBLARE et al., 2004; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004).

Todos os ossos estão revestidos por uma membrana transpassada por vasos sanguíneos chamada de perióstio, enquanto que o endóstio reveste as cavidades dos ossos. O perióstio e o endóstio no processo de reparação respondem aos estímulos de maneira intensa, formando assim um tecido rico em células osteoprogenitoras, iniciando então o processo de reparação, resultando no tecido ósseo primário.

O tecido ósseo pode ser trabecular (esponjoso) ou cortical (compacto), a diferença entre os dois está no grau de porosidade sendo que o trabecular possui de 50 a 95% de porosidade, enquanto que no cortical é de 5 a 10%. Os poros estão conectados e são preenchidos por medula óssea que realiza a produção de células básicas do sangue. O tecido ósseo pode ser considerado um tecido conjuntivo onde a matriz extracelular é mineralizada, sendo assim esse material possui uma combinação de flexibilidade e rigidez (GOULD, 1993; DEMPSTER, 1999).

O equilíbrio do sistema esquelético está diretamente relacionada com a remodelação óssea equilibrada, sendo assim, precisa-se que a atividade da célula de formação óssea (osteoblasto) e da célula de reabsorção óssea (osteoclastos) esteja em uma dinâmica balanceada pelos sistemas regulatórios como o sistema imune, para que não ocorram reabsorções patológicas (ANDIA et al., 2006; TAKAYANAGI, 2005). O remodelamento ósseo é caracterizado quando o tecido ósseo precisa modificar sua forma ou estrutura, como por exemplo, quando um osso esponjoso precisa tornar-se compacto para se adaptar a situações patológicas ou fisiológicas. Portanto, para tal fim, ocorre uma contínua remoção óssea por reabsorção da matriz pelas células osteoclastos, seguida de um processo de reposição do tecido reabsorvido através de uma nova síntese da matriz óssea que é realizada por células denominadas osteoblastos (KAPLAN, 1987). As células que compõem o tecido ósseo no processo de remodelação óssea são: Osteoblastos, Osteoclastos e Osteócitos.

Osteoblastos são responsáveis pela síntese da matriz orgânica, tem como características serem mononucleadas, possuem núcleo esférico, apresentarem citoplasma basófilo de origem mesenquimal, ter aspecto cubóide e formar uma camada sobre a superfície óssea que está sendo regenerada (ANDIA et al., 2006).

Os osteoblastos são produzidos na medula óssea ou na camada do periosteio. Após a síntese da matriz óssea os osteoblastos podem permanecer sobre a superfície do tecido, contudo não tem atividade e são agora denominados de células de revestimentos podendo voltar a serem osteoblastos com a estimulação química ou mecânica (DOBLARE et al., 2004).

Os osteoclastos são os responsáveis pela reabsorção da massa óssea através da produção de ácido que dissolve as estruturas em enzimas formando as lacunas de Howship, que são formadas por células gigantes e multinucleadas formadas pela fusão de células mononucleadas da linhagem hematopoiética (SODEK, MCKEE, 2000).

Os osteócitos são osteoblastos que após secretarem a matriz ficam aprisionados nas lacunas (interior do tecido formado). Possuem características diferentes como diminuição de organelas de síntese e secreção, retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi. Dessa forma apresentam baixa atividade metabólica, mas são fundamentais para a manutenção do tecido ósseo (SODEK, MCKEE, 2000).

2.4 Polímeros

Os polímeros são macromoléculas constituídas pela repetição de unidades químicas denominadas monômeros (ANDRADE et al., 1990). Polímeros são de grande importância para a essência da vida, já que são os mais importantes componentes de uma célula (proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos) (GALAEV, MATTIASON, 1999). Os polímeros constituem uma das classes de materiais mais versáteis conhecidas até hoje, uma vez que graças às suas propriedades diferenciadas conseguem substituir diversos materiais permitindo delinear novas peças com menor massa e de maior complexidade, minimizando os custos e aperfeiçoando a aparência dos produtos finais (ALMEIDA, MAGALHAES, 2004).

Nos últimos anos, a descoberta de novas substâncias, assim como de novas formas de administração de fármacos já conhecidos possibilitou a obtenção de uma ação farmacológica mais eficaz acompanhada de redução de efeitos colaterais. Essa grande variedade de polímeros descobertos foi testada em dispositivos de liberação controlada de fármacos em diversas áreas tecnológicas como: agricultura, engenharia, área médica envolvendo órgãos artificiais, implantes, próteses, odontologia, reparo ósseo e outros (CHANDRA, RUSTGI, 1998; TANAKA et al., 2005).

Os polímeros podem ser agrupados em três grandes classes (ALMEIDA, MAGALHAES, 2004).

Polímeros naturais: São encontrados na natureza e também chamados de biopolímeros. São sempre biodegradáveis, exemplo desses polímeros é a celulose, borracha natural o amido o colágeno os ácidos nucléicos. São amplamente utilizados em matrizes em liberação de fármacos (ALMEIDA, MAGALHAES, 2004; NASCIMENTO et al., 2001).

Polímeros naturais modificados: Um problema encontrado em polímeros naturais é a demora no tempo de que levam para se degradar, isto pode ser resolvido adicionando-se grupos polares às cadeias, que por serem mais lábeis podem diminuir o tempo de degradação (NASCIMENTO et al., 2001).

Os polímeros naturais que sofreram modificações em sua estrutura química são considerados polímeros modificados, a alteração em sua macromolécula confere a esse polímero características únicas dependendo da sua aplicação, como exemplos podem citar as resinas amínicas, resinas fenólicas e derivados de celulose como metil-celulose e nitrato de celulose (CARVALHO, 2012).

Polímeros sintéticos: São compostos produzidos pelo homem, através de uma reação de polimerização de moléculas simples são também largamente utilizados, como, por exemplo, poli (etileno), poli (álcool vinílico), poli (ácido acrílico), poli (acrilamidas), poli (etilenoglicol), poliésteres. Na prática, copolímeros de glicolide com l-lactide e dl-lactide são os mais utilizados em sistemas de liberação controlada, com vantagens, uma delas é o menor tempo de degradação (NASCIMENTO et al., 2001).

2.4.1 Polímeros Sintéticos: Híbridos Orgânico-Inorgânicos

O processo de desenvolvimento tecnológico requer cada vez mais materiais que agreguem diversas propriedades. Nessa tarefa encontramos uma nova classe de polímeros sintéticos, denominada polímeros nanoestruturados. Dentre eles destacam-se os materiais híbridos orgânico-inorgânicos que constituem uma nova alternativa de pesquisa para materiais multifuncionais. Sua síntese ocorre pela combinação de compostos orgânicos e inorgânicos com propriedades complementares. Esse sinergismo de propriedades forma

um produto de alto desempenho (ZOPPI, NUNES, 1997; JOSE, PRADO, 2005). O composto orgânico confere flexibilidade, aumento da resistência de impacto, processabilidade, propriedades elétricas e reatividade bioquímica; enquanto a porção inorgânica proporciona uma alta força mecânica, boa resistência química, estabilidade térmica, e permite modular o índice de refração (GALAEV, MATTIASON, 1999; LOFTSSON, ÓLAFSSON, 1998).

A maioria dos polímeros híbridos orgânico-inorgânicos é obtida pelo processo sol-gel (JOSE, PRADO, 2005; PHILIP, SCHMIDT, 1984; CHING-LUNG, CHEN-CHI, 2002). Esse processo pode ser definido como rota onde em um determinado momento o material sofre uma transição de um sistema *sol* para um sistema *gel*. O termo *sol* é usado para definir uma dispersão de partículas coloidais (dimensão entre 1 e 100nm) estável em um fluido, enquanto o termo *gel* pode ser visto como sendo um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios (BRINKER, SCHERER, 1990).

Esse processo consiste na obtenção de um material partindo de um precursor molecular, e é muito utilizado, pois permite total controle de todas as etapas possibilitando a obtenção de materiais com características e propriedades pré-estabelecidas, com isso a quantidade de sítios de coordenação aumenta pela presença de carbonilas e silanois remanescentes das reações da hidrólise. Esse processo também é muito utilizado na obtenção de híbridos orgânico-inorgânicos porque permite que a síntese ocorra em condições ambientes ou em temperaturas e pressão próximas a ambiente (SCHUBERT et al., 1995). Uma das vantagens do processo sol-gel é que os derivados da reação (subprodutos) de formação do polímero e do solvente são facilmente removidos após a conclusão da transformação do sol num gel por secagem do material obtido (SUVOROVA et al., 2010).

A química do processo sol-gel consiste em reações de hidrólise e condensação dos precursores com as seguintes etapas: (a) polimerização dos grupos metacrilatos (b) reações de hidrólise (c) reações de condensação (BRINKER, SCHERER, 1990).

Basicamente as reações do processo sol-gel ocorrem a partir de precursores inorgânicos do tipo $ROM(OR)_3$ onde M é Silício (Si) ou Titânio (Ti) e R é uma cadeia orgânica, quando essas moléculas são submetidas as reações de hidrólise pela adição de água, em meio ácido ou básico, os grupamentos OR são substituídos por grupamentos OH originando os grupos silanol ($SiOH$), este grupos silanol podem reagir entre si ou com os grupos OR formando assim as ligações de siloxano originando uma rede tridimensional de sílica esse processo é o que se chama de condensação. Conforme a condensação se torna mais intensa o solvente fica retido no interior da estrutura com isso se obtém um gel progressivamente mais denso (ESTEVES et al., 2004).

O componente orgânico do híbrido garante o ajuste do balanço hidrofóbico/hidrofílico, já a parte inorgânica é responsável por manter o equilíbrio térmico e mecânico (ZOPPI, NUNES, 1997; CHING-LUNG, CHEN-CHI, 2002).

Os materiais híbridos cuja parte inorgânica é baseada em redes de Si-O-Si são atraentes para aplicações em óptica e optoeletrônica, devido à relativa alta estabilidade da ligação Si-C (GARCI A et al., 2008). Além disso, a qualidade da rede de ligações Si-O-Si é excelente em termos de transparência, estabilidade térmica, resistência mecânica (GARCI A et al., 2008, SUN, LIU 2011).

2.5 Dexametasona

Acetato de dexametasona pertence a classe dos corticosteróides que foi introduzida com a cortisona em 1948 e depois com a hidrocortisona em 1951 (URBAN et al, 2009).

Essa classe de medicamentos antiinflamatórios esteroidais são muito utilizados, uma vez que são fármacos de escolha em diversas doenças (AVERY, WOOLFREY, 1997), devido as suas ações analgésicas, anti-inflamatória, imunossupressora, antialérgica, entre outros. Por outro lado, seu uso prolongado provoca diversas reações adversas tais como osteoporose, cataratas, efeitos ulcerogênicos, hipertensão e psicose (KOROKOLVAS,

BURCKHALTER, 1982; SCHIMMER, PARKER, 2007). Além disso, existe a necessidade de várias doses durante tratamentos crônicos (HICKEY et al., 2002).

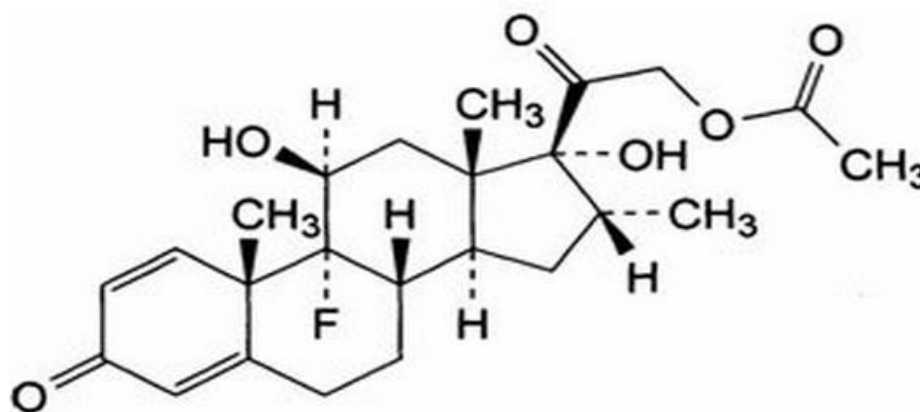


Figura 4. Estrutura química do acetato de dexametasona.

A dexametasona pode ser apresentada sob a forma de Acetato de Dexametasona ou Fosfato de Dexametasona. Suas formas farmacêuticas dependem do tipo de indicação (COSTA et al., 2008). Podem ser encontrados na forma de pomadas, cremes, loções, aerossóis e microemulsões (URBAN et al, 2009).

A Dexametasona e seus combinados são fabricados por vários laboratórios como Merck, BioLab, Cifarma, Teuto Brasileiro, Green Pharma, Eurofarma, Vitapan, Ducto, União Química, Medley, Cristália, Marjan, Allegran, Medic, Legrand, Leofarma, Neovita e outros.

O acetato de dexametasona pó branco, inodoro, pó cristalino e é praticamente insolúvel em água (10mg/100ml, a 25°C), solúvel em acetona e metanol, livremente solúvel em etanol (1g em 42ml), solúvel em clorofórmio (1g em 165ml), ligeiramente solúvel em cloreto de metileno. (O'NEIL et al., 2007; BRITISH PHARMACOPEIA, 2010). O ponto de fusão é em torno de 250°C com alguma decomposição (GENARO, 2005).

Devido as suas ações analgésicas, antiinflamatória e imunossupressora este fármaco foi escolhido como modelo neste trabalho.

3. RESULTADOS ANTERIORES OBTIDOS PELO GRUPO DE PESQUISA

Experimentos com três tipos de membrana foram conduzido pelo nosso grupo de pesquisa em implantes subcutâneos em ratos (MORTARI, 2011). As membranas foram implantadas cirurgicamente no tecido subcutâneo do dorso do rato, via incisão na região mediana do dorso. O tecido foi divulsionado e os materiais randomicamente distribuídos. Os materiais utilizados foram membrana de colágeno (Bio-Gide); membrana ureasil-POP400 e membrana ureasil-POE1900. Com a análise histológica notaram-se vários níveis de inflamação referentes aos três tipos de materiais testados. A membrana de colágeno (Bio-Gide) apresentou uma leve inflamação aos 3 e 7 dias, já que o organismo a reconhece como um corpo estranho no início. Com o decorrer do tempo, aos 15 e 30 dias, esta inflamação diminui simultaneamente ao processo de absorção do material pelo organismo, uma vez que ele é denominado biocompatível (MORTARI. 2011).

A membrana de ureasil-POP400 apresentou aos 3 e 7 dias um nível de inflamação significativa, entretanto, após 30 dias houve uma diminuição significativa da resposta inflamatória e pode-se notar que o material não sofreu absorção, quando comparados com à membrana de colágeno. Para a membrana ureasil-POE1900 os níveis de inflamação foram altos em todos os períodos, inclusive aos 15 e 30 dias, e não ocorreu uma absorção do material pelo organismo (MORTARI, 2011). A figura 5 apresenta essas características.

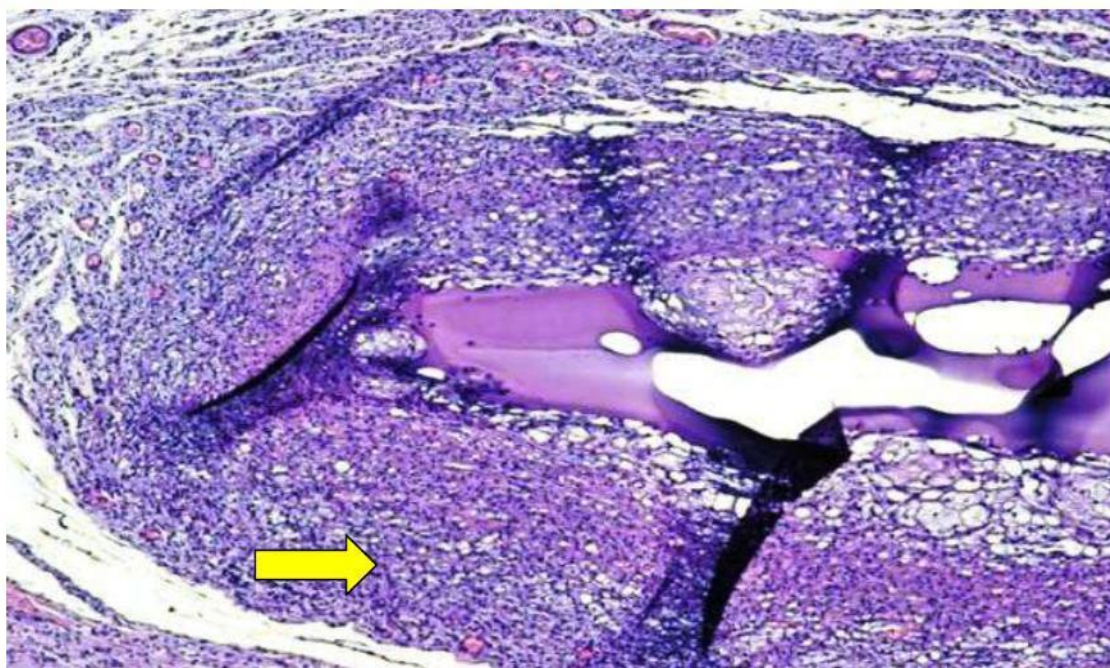


Figura 5 - Observa-se cápsula formada por delgados feixes de fibras de colágeno (→) dispostas de maneira desordenada entremeados por intenso infiltrado de células inflamatórias constituído principalmente por leucócitos mononucleares (macrófagos e linfócitos). Nesse caso também observa-se figuras vasculares de variados calibres ingurgitados de hemácias (estase vascular). Aumento original de 10x, HE (MORTARI, 2011).

A microscopia utilizada para avaliar a resposta histológica após 30 dias para a membrana ureasil-POP400 é apresentada pela Figura 6, onde se pode observar microscopicamente que a epiderme apresentou aspectos de normalidade.

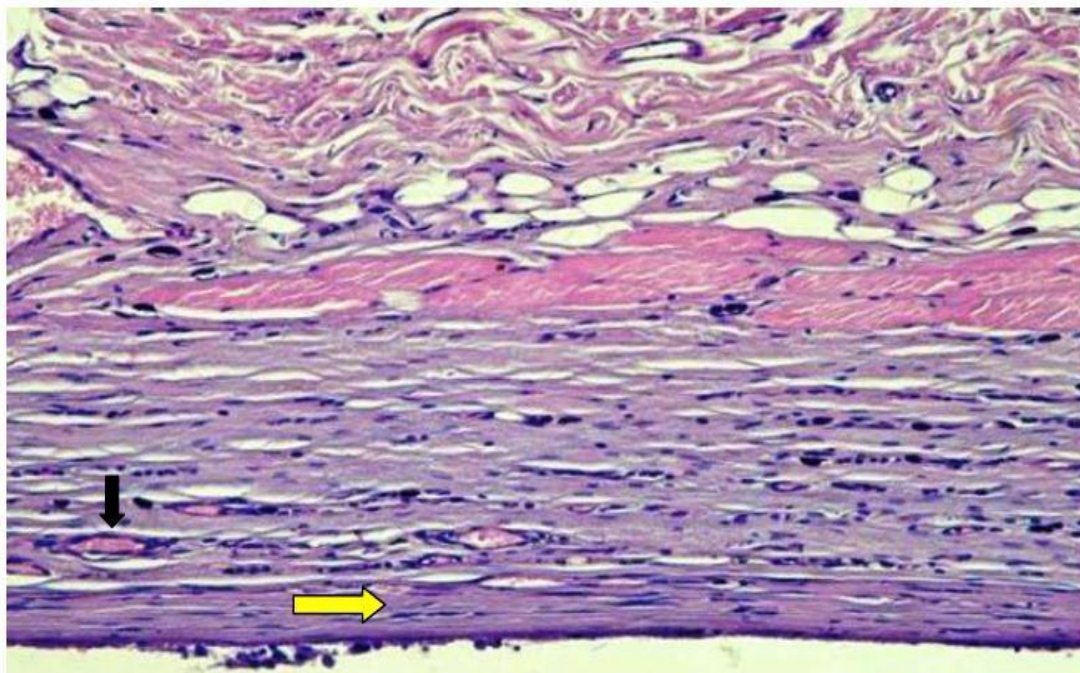


Figura 6. Observa-se cápsula fibrosa delgada formada por feixes de fibras de colágeno () dispostas horizontalmente e bem modulados, menor quantidade células fusiformes, variados leucócitos e pequenas figuras vasculares (). Aumento original de 20x, HE (MORTARI,2011).

Dentre as membranas híbridas analisadas até o momento, a membrana ureasil-POP400 apresentou maior biocompatibilidade quando comparada com a membrana ureasil-POE1900. Acredita-se que essa diferença se dá em função do alto grau de intumescimento apresentado pela membrana ureasil-POE1900, o que pode causar traumas no animal levando a uma resposta inflamatória acentuada (MORTARI, 2011).

Esses diferentes perfis de intumescimento dos materiais ureasil-poliéter foram estudados pelo grupo na dissertação de MENDES 2012, pelo teste de intumescimento “*in vitro*”. A figura 7 e 8 demonstra esses resultados.

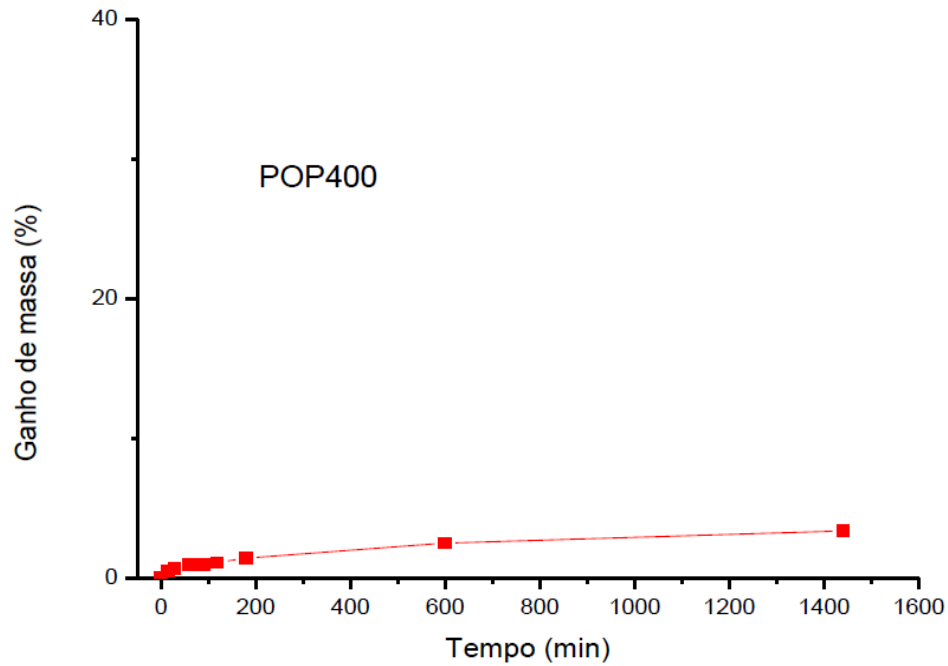


Figura 7. Ganho de massa da matriz híbrida ureasil-POP400 durante o teste de intumescimento (Adaptada de MENDES, 2012).

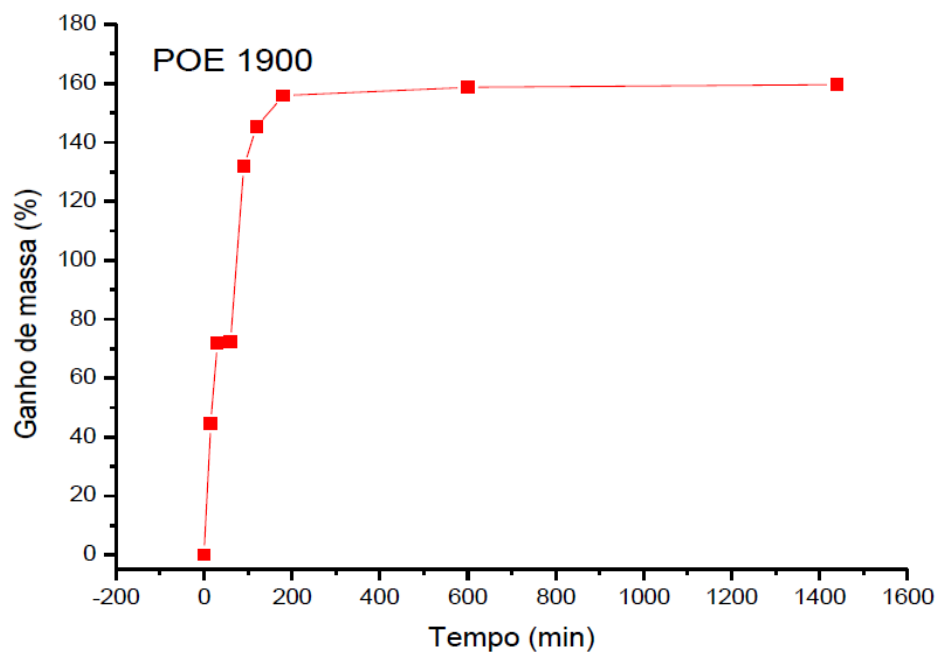


Figura 8. Ganho de massa da matriz híbrida ureasil-POE1900 durante o teste de intumescimento (Adaptada de MENDES, 2012).

Observa-se pelas figuras 7 e 8 que a capacidade de intumescimento expressa pelo ganho de massa do híbrido ureasil-POP400 é bem menor em relação à observada para os híbridos ureasil-POE1900. Essa diferença ocorre pelo fato do híbrido ureasil-POP400 apresentar um caráter mais hidrofóbico devido à proteção exercida pelos grupos CH_3 no oxigênio do tipo éter, o que não ocorre no híbrido ureasil-POE1900. O caráter hidrofóbico do híbrido ureasil-POP400 faz com que o material apresente menor afinidade pela água e consequentemente menor capacidade de intumescer (MENDES, 2012).

Neste mesmo trabalho, a versatilidade desses materiais ureasil-poliéter é demonstrada pela incorporação de fármacos com diferentes solubilidades tais como o cloridrato de pramoxina e o acetato de dexametasona. Os resultados revelaram que a escolha dos componentes da fase orgânica desses materiais permite modular o perfil de liberação do fármaco. Os resultados de liberação dos fármacos modelos nas membranas ureasil-POP400, ureasil-POP2000, ureasil-POE500 e ureasil-POE1900 mostraram que é possível obter sistemas capazes de liberar o fármaco em algumas horas ou em alguns dias, respectivamente, como mostra a Figura 9 e 10.

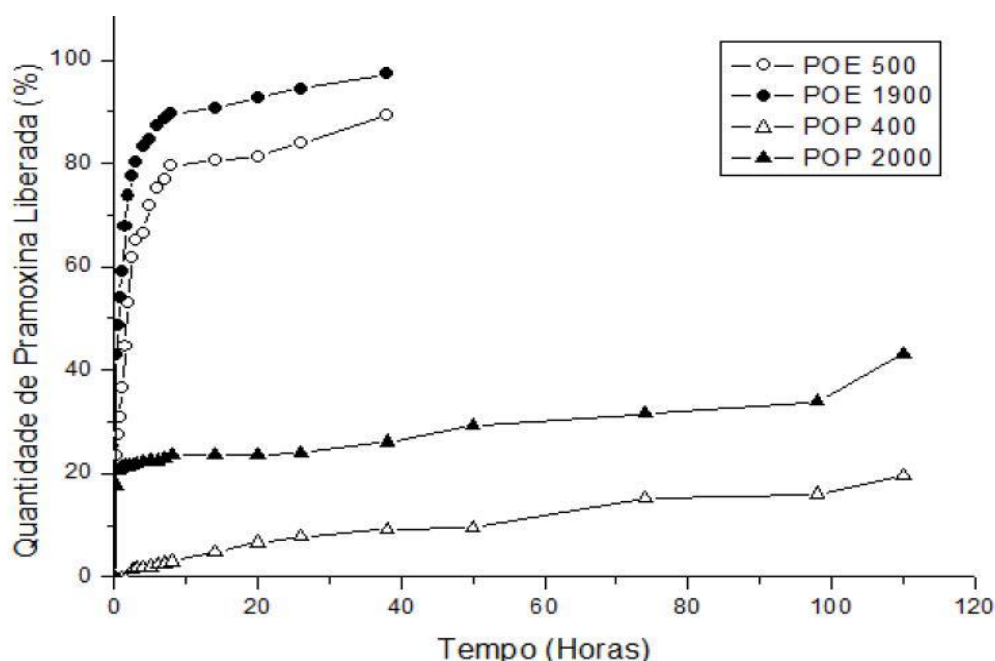


Figura 9. Comparação entre as curvas de liberação para amostras híbridas preparadas com diferentes cadeias poliméricas (POE e POP) e diferentes massas moleculares (MENDES, 2012).

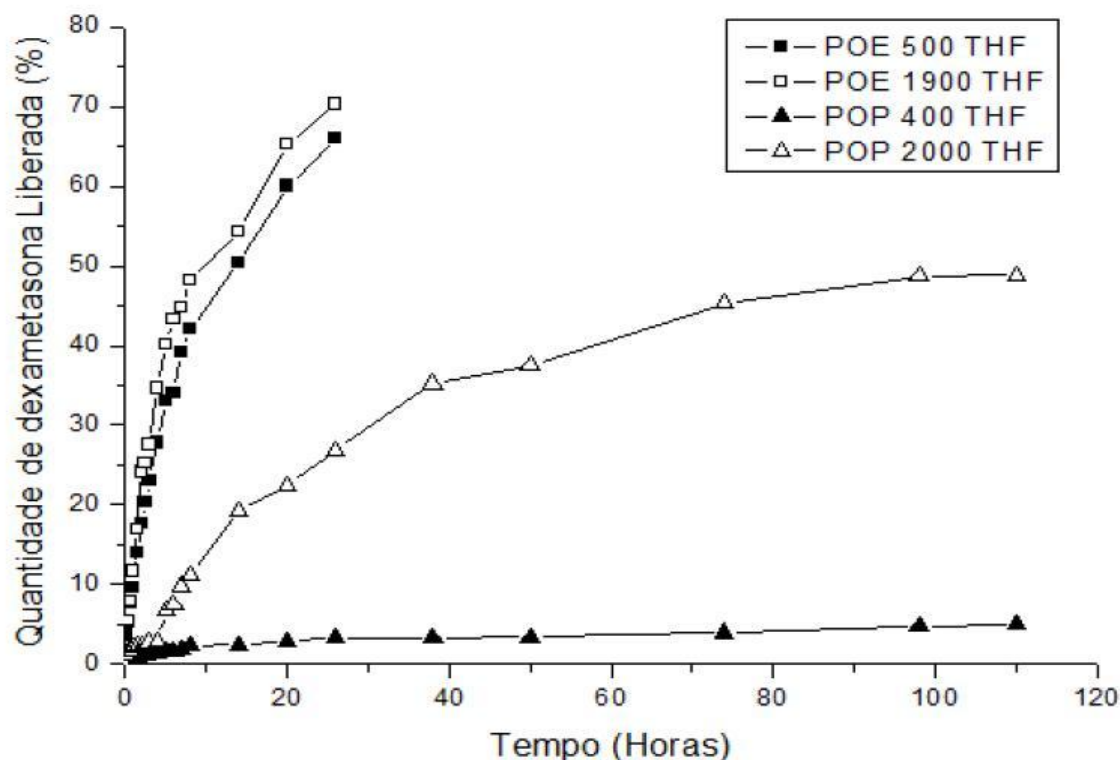


Figura 10. Perfil de liberação da dexametasona incorporada nas matrizes híbridas POE 500, POE 1900, POP 400 e POP 2000 sintetizadas em THF (MENDES, 2012).

Como as matrizes não são solúveis em água as mudanças nos perfis devem-se à diferença de comportamento hidrofílico/hidrofóbico existente entre os dois tipos de cadeia polimérica, que determina o processo de transporte da água e do fármaco pela matriz. No caso dos híbridos ureasil-poliéter cuja fase orgânica é constituída com o Poli Oxido Etileno (POE), o transporte é controlado pelo rápido intumescimento da matriz seguido de difusão. Por outro lado, o processo de difusão controla o perfil de liberação nos híbridos ureasil-poliéter onde a fase orgânica é constituída pelo Poli Oxido de Propileno (POP) (MENDES, 2012).

4. JUSTIFICATIVA

Baseado em estudos prévios de Mortari (2011) e Mendes (2012) constatou-se que a membrana ureasil-poliéter POP400 possui uma boa biocompatibilidade, mas não é a melhor escolha para o desenvolvimento de membrana para técnica de regeneração óssea guiada, uma vez que possui um alto número de grupamentos do tipo ureasil em sua estrutura e cadeias poliméricas curtas, tornando a membrana muito rígida, o que dificulta o seu manuseio. Além disso, os perfis de liberação dos revelaram que essa membrana libera de forma muito lenta, independente do seu grau de solubilidade em água do fármaco estudado. Enquanto que para membrana ureasil-POE1900 ocorreu o contrário, a presença de uma cadeia longa reticulada por grupos ureasil tornou a membrana muito flexível e a natureza hidrofílica da cadeia polimérica levou a um alto grau de intumescimento, causando uma intensa resposta inflamatória. A liberação dos fármacos modelos a partir dessa membrana foi muito rápida. Sendo assim, propusemos desenvolver membranas híbridas contendo misturas dos materiais ureasil-POE1900 e ureasil-POP400 e também misturas dos materiais ureasil-POP400 e ureasil-POP2000, para modular o perfil de liberação do fármaco, o grau de intumescimento, a facilidade de manuseio e a resposta inflamatória do material.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi desenvolver membranas a partir de misturas dos materiais nanoestruturados híbridos orgânico-inorgânicos do tipo ureasil-POP400, ureasil-POP2000 e ureasil-POE1900 obtendo diferentes balanços hidrofílico/hidrofóbico e assim modular o perfil de liberação dos fármacos, o perfil de intumescimento, a facilidade de manuseio das membranas, além de avaliar a resposta de neoformação óssea dessas membranas quando comparada com membrana comercial (Bio-Gide) em defeito ósseo na calota craniana de ratos.

Para alcançar os objetivos as seguintes ações foram realizadas:

- Determinação das condições de síntese dos precursores híbridos;
- Incorporação do fármaco acetato de dexametasona;
- Análise do perfil de intumescimento nanoscópico e macroscópico das membranas ureasil-POP400/POE1900 e ureasil-POP400/POP2000
- Análise dos perfis de liberação “*in vitro*” do fármaco acetato de dexametasona incorporado nas membranas;
- Análise “*in vivo*” da resposta de neoformação óssea das membranas;
- Análise do volume ósseo “*in vivo*” através da Micro-CT.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. Materiais

Matérias-primas

- Síntese dos precursores híbridos;
- O,O'-Bis(2-aminopropyl)polypropyleneglycol-*block*-polyethyleneglycol-*block*-polypropyleneglycol 1900 (POE 1900), Sigma-Aldrich.
- Poly(propylene glycol)bis(2-aminopropyl ether) 400 (POP 400), Sigma Aldrich.
- Poly(propylene glycol)bis(2-aminopropyl ether) 2000 (POP 2000), Sigma Aldrich.
- Álcool etílico absoluto PA, Qhemis.
- Tetrahidrofurano (THF) PA ACS, Synth.
- 3-(Trithoxysilyl) Propylisocyanate, 95%, Sigma-Aldrich.
- Acetato de Dexametasona 100%, USP, DastechInternational, Inc.
- Solução de HCl 2.0 M.
- Tampão Fosfato pH 7.2 com 0.5% de procetyl.
- Álcool isopropílico absoluto.

Equipamentos

- Texturômetro TA.TXPlus Texture Analyser, Stable Micro Systems.
- Agitador magnético IKA.
- Dissolutor Agilent 708-DS.
- Espectrofotômetro ultravioleta Agilent CARY 60.
- Rotaevaporador IKA RV 10 digital.
- Balança analítica Mettler H51.
- Balança semi-analítica Denver Instrument.
- Cubetas de quartzo para espectrofotometria, capacidade 5mL.
- Pipetas graduadas 0,1 a 1 mL; 1 a 10mL e 100 a 1000mL.
- Estufa de secagem modelo 515 com controlador termostático, Fanem.

- Filtros ALLCROM tamanho do poro 0,45 μ l.
- Canula com borda 7,75 Agilent.
- PHmetro digital PG1800 Gehaka.
- Estufa de secagem modelo 515 com controlador termostático, Fanem.

6.2 Métodos

6.2.1 Preparação das membranas ureasil-POP400/POP2000 e ureasil POP400/POE1900

Os materiais híbridos ureasil-poliéter foram sintetizados e processados a partir da rota química denominada sol-gel. Na síntese do precursor utilizou-se um poliéter funcionalizado a base de polióxido de etileno (NH₂-POE-NH₂) com massa molar de 1900 g mol⁻¹ ou a base polióxido de propileno (NH₂-POP-NH₂) com massas molares de 400 e 2000 g mol⁻¹ dissolvidos em Tetrahidrofurano (THF). A essa solução foi adicionado um alcóxido modificado, o 3-isocianato propiltriétoxisilano (IsoTrEOS) na razão molar polímero/alcóxido de 1:2. Essa mistura permaneceu sob refluxo a uma temperatura de 60°C por 24 horas (DALMOUCHE et al.,1999), para promover a formação do precursor híbrido (EtO)₃Si(CH₂)₃NHC(dO)NHCHCH₃CH₂(polyether)CH₂CH₃CHNH(Od)NHC(CH₂)₃Si(OEt)₃ (SANTILI et al.,2009). A figura 11 apresenta as reações dessa síntese.

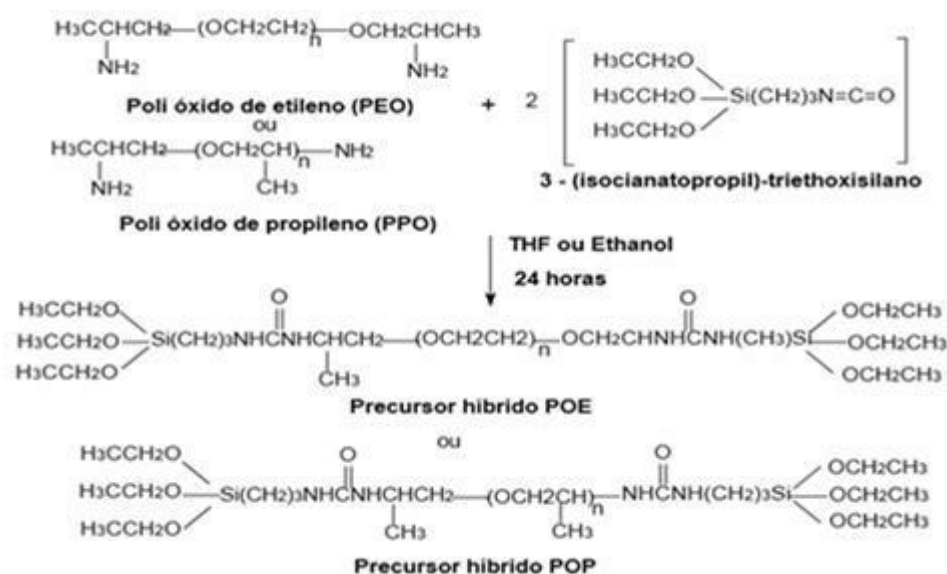


Figura 11. Esquema da formação do precursor ureasil-POP e ureasil-POE

Posteriormente, o solvente foi eliminado sob aquecimento e pressão reduzida (rota-evaporador), obtendo-se assim o precursor híbrido. As quantidades de reagente utilizadas estão descritas na Tabela 1.

Matrizes Híbridas	THF	NH ₂ -POP-NH ₂ ou NH ₂ -POE-NH ₂	IsoTreos
Ureasil-POP 400	60mL	25g	34,3 mL
Ureasil-POP 2000	40mL	25g	6,0mL
Ureasil-POE 1900	80mL	25g	6,3mL

Tabela 1. Quantidades de reagentes utilizados na síntese das matrizes híbridas.

Em seguida, esses precursores foram submetidos as reações de hidrólise e condensação promovidos pela adição de 500µL de álcool, 50µL de água e de um agente catalisador ácido (HCl) com concentração de 2M. Com o avanço dessas reações os grupos OH foram progressivamente eliminados, levando a formação de um *gel*, nos quais as redes inorgânicas e orgânicas são unidas por ligações covalentes (BERMUDEZ et al., 1998).As membranas são

obtidas pela secagem desse gel à temperatura ambiente em dessecador por 10 dias. A figura 12 apresenta as reações para formação da membrana.

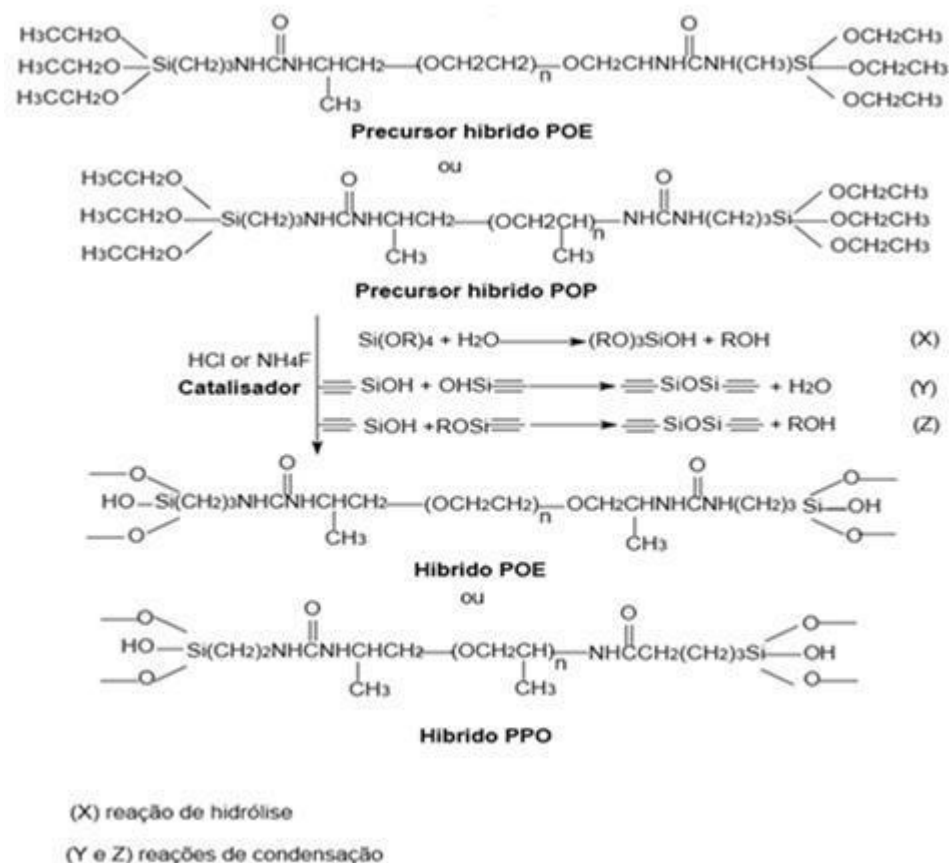


Figura 12. Esquema da formação das membranas ureasil-POP e ureasil-POE a partir do precursor submetido às reações de hidrólise e condensação.

Na etapa de hidrólise e condensação foi adicionado diferentes proporções massa/massa dos precursores obtidos, resultando em membranas com misturas de ureasil-POP400 e ureasil-POE1900 e membranas com misturas de ureasil-POP400 e ureasil-POP2000, essas misturas tiveram como objetivo de modular o grau de intumescimento a fim de controlar de forma fina o perfil de liberação da dexametasona e também, evitar a ocorrência de traumas nos animais o que poderia levar a uma resposta inflamatória intensa.

6.2.2 Incorporação do fármaco nas membranas ureasil-poliéter

Na etapa de hidrólise e condensação foi adicionado diferentes porcentagens do fármaco em relação à massa de 0,075g do precursor híbrido ureasil-poliéter, com o intuito de avaliar a concentração máxima de fármaco solubilizado nas membranas. As porcentagens de massa do acetato de dexametasona foram as seguintes: 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10% e 15%.

6.2.3 Intumescimento das membranas ureasil-poliéter

A capacidade de intumescimento das membranas com diferentes razões de ureasil-PPO400/POE1900 e ureasil-PPO400/PPO2000 foram avaliadas, uma vez que a capacidade de intumescimento das mesmas pode colaborar com o entendimento do mecanismo de liberação.

As membranas foram colocadas em banho contendo saliva artificial utilizaram-se as mesmas condições do ensaio de avaliação do perfil de dissolução do fármaco (37°C ($\pm$ 0,5°C), agitação de 50rpm). Em intervalos de tempo correspondentes a 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 600 e 1440 minutos, as membranas foram retiradas e medidas de massa foram efetuadas com o auxílio de uma balança de precisão.

6.2.4 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

A técnica de SAXS é adequada para caracterização desses materiais híbridos, uma vez que existe uma grande diferença de densidade eletrônica entre os grupos inorgânicos (Si-O-Si) e a cadeia orgânica, resumindo a estrutura desses materiais podem ser descritas pelo modelo de duas densidades eletrônica. Os resultados desses materiais se dão através de curvas de SAXS apresentando um pico de correlação a baixos valores de q , onde quando menor o valor de q maior são as distancias entres os grupos orgânicos e inorgânicos.

Medidas “*in situ*” utilizando SAXS foram efetuadas, antes e durante o processo de passagem do meio de liberação (Saliva artificial), posteriormente estudou-se a evolução nanoestrutural das membranas contendo ou não 3% de acetato de dexametasona (m/m).

As amostras secas foram realizadas na linha de SAXS, do Laboratório Nacional de Luz Sincrotron (LNLS), Campinas, SP. A linha de SAXS é equipada com um conjunto de fendas assimétricas e um monocromador de silício, permitindo a obtenção de um feixe monocromático de $\lambda = 1,608 \text{ \AA}$ e seção transversal de aproximadamente $1,6 \text{ mm}^2$. Um detector de Raios X sensível à posição e um analisador multicanal foram usados para monitorar a intensidade do feixe espalhado, $I(q)$, em função do módulo do vetor de espalhamento. A intensidade espalhada foi normalizada pela espessura e pela atenuação da amostra. As medidas foram realizadas sob temperatura e pressão ambiente. Após a análise das amostras secas foram realizadas adaptações na Linha do SAXS para avaliar o efeito do intumescimento da nanoestruturados materiais. Para isso as medidas *in situ* foram realizadas em um porta amostra fechado com duas janelas de mica e uma bomba peristáltica foi usada para controlar o fluxo do meio (Saliva artificial) mantido a 37°C .

6.2.5 Curva Analítica

Linearidade de uma metodologia analítica é quando os resultados obtidos podem ser proporcionais à concentração do analito na amostra, em um intervalo específico. Através da curva analítica foi demonstrada a linearidade do método (BRASIL, 2003; ICH, 1996; USP, 2002).

A partir de uma solução etanólica de acetato de dexametasona as soluções estoque foram feitas, contendo $100 \mu\text{g/mL}$. A partir dessa solução foram preparadas diluições com concentrações que variavam de $1 \mu\text{g/mL}$; $5,0 \mu\text{g/mL}$; $10 \mu\text{g/mL}$; $20 \mu\text{g/mL}$; $30 \mu\text{g/mL}$; $40 \mu\text{g/mL}$; $45 \mu\text{g/mL}$; $50 \mu\text{g/mL}$, em triplicata.

A leitura das amostras foi realizada no espectrofotômetro ultravioleta AGILENT CARY 60 em um comprimento de onda de 241 nm , a partir do valor da absorbância das diluições de dexametasona, foi gerada a curva analítica.

6.2.6. Teste de liberação da dexametasona nas membranas

As membranas ureasil-POP400/POP2000 e ureasil-POP400/POE1900 nas diferentes proporções contendo 3% de acetato de dexametasona em relação a massa de 0,075g dos materiais, foram submetidas a testes *„in vitro“* de dissolução em solução tampão fosfato pH 7,2. Contudo para garantir a condição sink foram adicionados 0,5% de procetyl. O teste foi realizado no equipamento de dissolução AGILENT 108-DS. O teste foi realizado nas seguintes condições, 500 mL de tampão fosfato pH 7.2 com 0,5% de procetyl em temperatura de 37°, sob agitação constante de 50 rpm. Para coletar cada uma das alíquotas foi utilizada uma seringa com uma Cânula com Borda 7.75 AGILENT e foram filtradas com Filtros ALLCROM com tamanho de poro 0,45 µm, o volume coletado das alíquotas foi de 5 mL sendo repostado logo em seguida. Os espectros foram analisados no espectrofômetro ultravioleta AGILENT CARY 60 em um comprimento de onda de 241 nm. O teste foi realizado em triplicata.

6.2.7. Teste *“in vivo”*

6.2.7.1. Comitê de ética

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Anexo 1), respeitando-se os regulamentos exigidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

6.2.7.2. Amostra

Neste estudo foram utilizados 36 ratos da espécie *Rattus Norvegicus*, variação albinus, Holtzman, adultos, com peso variando entre 250 – 300g, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr) – UNESP. Os animais foram mantidos no Biotério da FOAr em gaiolas individuais e tratados com água e ração ad libitum antes e durante todo o período experimental, mantidos em ambiente com luz (12 horas de ciclo) e temperatura

controlada (22°C). Essas mesmas condições foram mantidas durante todo o período em que os animais permaneceram vivos.

Os materiais foram divididos nos grupos:

Grupo I (GI) – membrana de colágeno (Bio-Gide, da empresa Geistlich Pharma Ag – Biomaterials).

Grupo II (G II) – membrana de ureasil-POP400/POP2000, concentração de 70%/30%.

Grupo III (G III) – membrana de ureasil-POP400/POE1900, concentração de 70%/30%.

6.2.7.3 Descrição da técnica cirúrgica

No pré-operatório, os animais foram anestesiados por associação de Quetamina com Xilazina, na proporção de 0,08 ml/100g de massa corporal (Cloridrato de Quetamina – Francotar – Virbac do Brasil Ind. Com. Ltda.) e 0,04 ml/100g de massa corporal (Cloridrato de Xilazina - Virbaxyl 2% - Virbac do Brasil Ind. E Com. Ltda.), respectivamente.

Depois de anestesiados, foram submetidos à tricotomia na região da calota craniana e foi realizada antissepsia do campo cirúrgico com gaze estéril, embebida em solução de povidine, com o animal posicionado em decúbito dorsal sobre a mesa cirúrgica. O acesso cirúrgico à calota craniana foi obtido com uma incisão ântero-posterior cutânea e muscular, permitindo a exposição do periósteo, utilizando-se cabo para bisturi com lâmina intercambiável nº 15. Em seguida, os tecidos foram divulsionados com o auxílio de uma tesoura pequena com a extremidade romba e uma pinça de dissecação, até a exposição do periósteo, sendo este incisado e removido com o mesmo tipo de lâmina até a exposição do tecido ósseo.

A seguir foram confeccionados defeitos ósseos circulares críticos, na porção mediana da calvária com 5 mm de diâmetro e aproximadamente 1,5 mm de espessura, dada pela remoção total do tecido ósseo, utilizando uma fresa trefina (Dentoflex, São Paulo, Brasil) com 5 mm de diâmetro externo, montada em contra-ângulo (Anthogyr – Injecta – Diadema, Brasil) com redução de 16:1, acoplado em motor para implante (BML 600 Plus Driller -CK Driller –

Brasil), com 1500 rpm, sob irrigação constante com solução salina, conforme demonstra a Figura 13

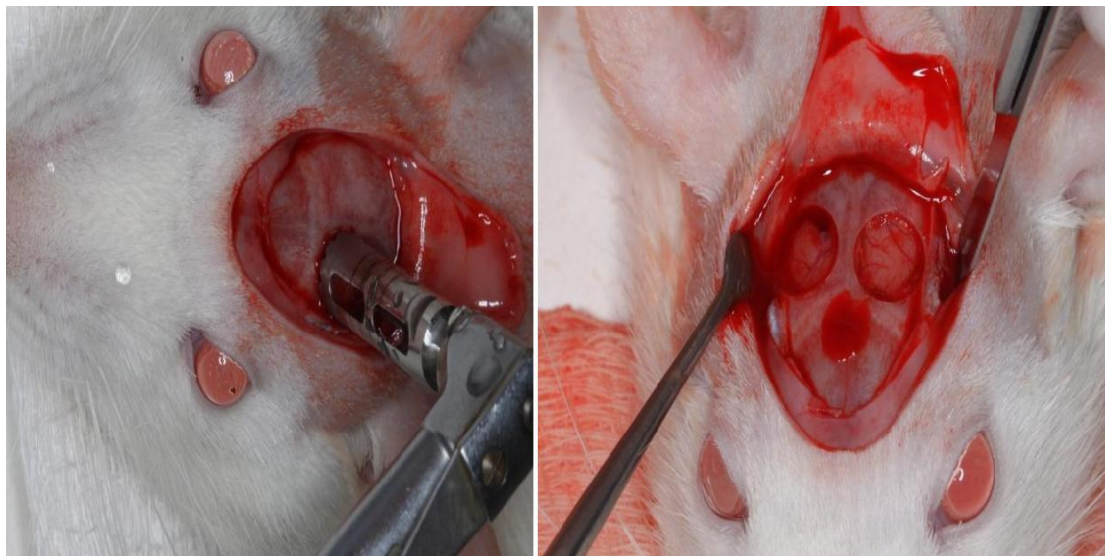


Figura 13. Confeção dos defeitos ósseos circulares com 5 mm diâmetro.

As membranas foram colocadas sobre o defeito ósseo de tal maneira a ultrapassar 1mm a borda do defeito. As incisões foram suturadas com fio de seda Johnson 4-0. Foi ministrado analgésico logo após a intervenção cirúrgica na concentração de 50 mg para cada 100g de peso corpóreo de paracetamol, por via de gavagem.



Figura 14. Implante das membranas e sutura da incisão.

Os grupos foram aleatoriamente distribuídos e divididos em 4 períodos experimentais de 7, 15, 30 e 60 dias, com 9 animais em cada grupo/período, sendo que cada animal foi confeccionado 2 defeitos ósseo, totalizando assim um total de 6 amostra por grupo/período e um total de 36 animais (Tabela 2).

Período (Dias) Grupos	7	15	30	60	Total amostra
G I	6	6	6	6	24
G II	6	6	6	6	24
GIII	6	6	6	6	24

Tabela 2. Número de materiais colocados por grupo, segundo período (dias).

6.2.7.4. Obtenção das peças cirúrgicas

Após os períodos correspondentes de 7, 15, 30 e 60 dias de pós-operatório, os animais foram sacrificados com sobre dose dos anestésicos utilizados (Quetamina e Xilazina). Foi então realizada uma incisão circular na calota do animal, removendo tecidos moles e duros, utilizando tesouras e alicate de corte. Esses blocos foram fixados em formol tamponado a 10%, por aproximadamente 10 dias, para processamento laboratorial.

6.2.7.5 Avaliação radiográfica tridimensional (Micro-CT)

As calotas armazenadas em álcool 70%, foram primeiramente submetidas a análise por varredura de feixe de raios-X em um sistema de microtomografia digital computadorizada. As peças foram escaneadas pelo microtomógrafo (SkyScan 1176 BrukerMicroCT, Aatselaar, Bélgica, 2003) utilizando cortes de 35 µm de espessura (50Kv e 500µ), com filtro de Cobre e

alumínio e passo de rotação de 0.3 mm. As imagens obtidas pela projeção dos raios-X nas amostras foram armazenadas e reconstituídas determinando a área de interesse, pelo software NRecon (SkyScan, 2011; Versão 1.6.6.0). No software Data Viewer (SkyScan, Versão 1.4.4 64-bit) as imagens foram reconstruídas para adequação do posicionamento padrão para todas as amostras, podendo ser observada em três planos (transversal, longitudinal e sagital). Em seguida, por meio do software CTAnalyser – CTAn (2003-11SkyScan, 2012 BrukerMicroCT Versão 1.12.4.0), com a peça escaneada em imagens reconstruídas e reorientadas, foi definido uma área ao redor do defeito (ROI) delimitada por 5 mm, sendo a área correspondente ao defeito criado. O software CTAn analisa e mede a imagem de acordo com a escalas de cinza (threshold). O threshold utilizado na análise foi de 25-90, que possibilitou obter o volume de osso formado dentro do defeito. O software CTAn, a partir da delimitação da região de interesse em 2D, promove a análise em 3D da mesma pela soma coletiva de todos os “ROI”s de um conjunto contíguo de fatias de imagens transversais. Deste modo foi obtido o percentual de volume do tecido ósseo presente nas áreas de interesse previamente delimitadas (ROIs).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Preparação das membranas ureasil-POP400/POP200 e ureasil-POP400/POE1900.

A etapa de preparação do material é a mais importante de todo o trabalho, tendo em vista que materiais poliméricos podem sofrer degradação em diversos ambientes, principalmente quando reações envolvem altas temperaturas e presença de atmosfera oxidante, podendo resultar em quebras das cadeias dos polímeros ocasionando alterações das propriedades esperadas do material final. Em materiais híbridos pode ocorrer uma quebra das redes reticuladas (“cross-link”) (WHITE, TURNBULL, 1994) pela ação de fatores ambientais.

Para controlar esses fatores ambientais e assim assegurar um material com propriedades adequadas, após a realização da síntese do precursor híbrido reações de hidrólise e condensação são promovidas. Esse processo é chamado de sol-gel e é um método muito utilizado para preparação desses materiais híbridos, uma vez que permite controle de todas as etapas da preparação das membranas ureasil-POP400/POE1900 e membranas ureasil-POP400/POP2000 (condições ambientais, temperaturas e pressão) formando assim no final um material com características e propriedades pré-estabelecidas como uniformidade estrutural e elevada pureza. O maior problema do processo sol-gel é que o processo em si conduz a uma contração rápida e abrupta gerando um enorme stress interno, fato esse ocasionado pela saída do solvente, podendo resultar em materiais quebradiços e com trincas.

O aspecto visual das membranas preparadas a partir das misturas dos precursores híbridos ureasil-POE e ureasil-POP estão apresentados nas figuras 15 e 16.

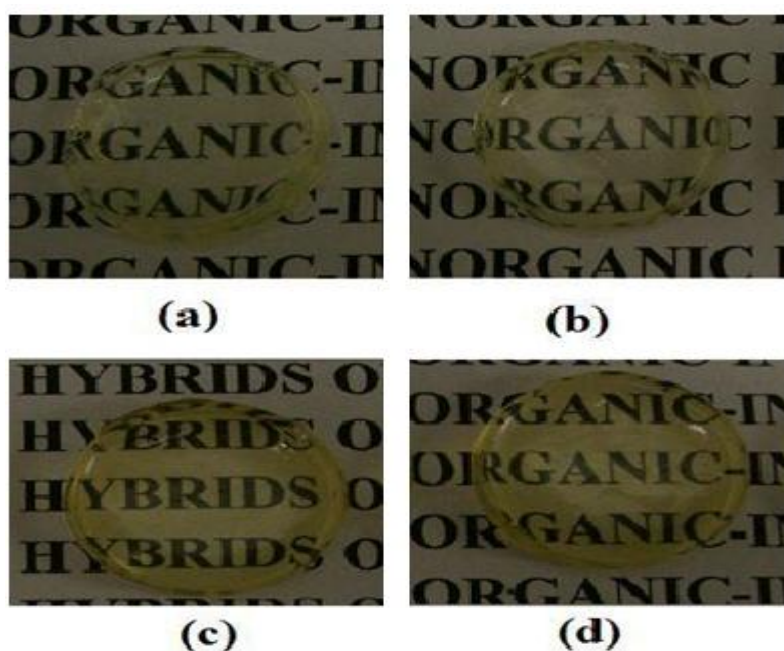


Figura15. Aspectos das membranas ureasil-POP400/POE1900 em diferentes proporções: a) 90:10; b) 80:20; c) 70:30; d) 60:40.

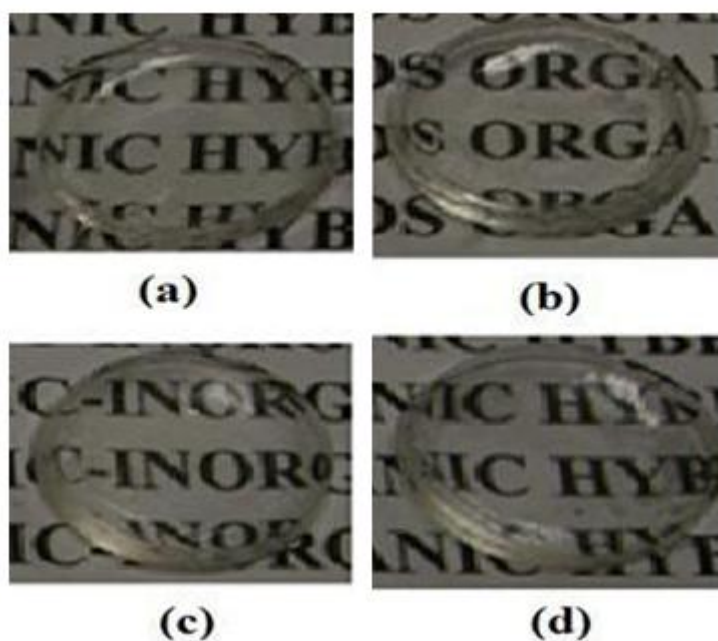


Figura 16. Aspectos das membranas híbridas ureasil-POP400/POP2000 em diferentes proporções: a) 90:10; b) 80:20; c) 70:30 ; d) 60:40.

Observa-se que as membranas não possuem trincas ou rachaduras, assim, esse material após a etapa do processo sol-gel adquiriu uniformidade

estrutural, além de combinar as características de biocompatibilidade do material ureasil-POP400 com a flexibilidade do material ureasil-POE1900.

As membranas que possuem uma quantidade maior de precursor ureasil-POE1900 adquiriram uma flexibilidade maior em relação às demais.

7.2 Incorporação do fármaco nas membranas ureasil-polieter

A incorporação do fármaco nas membranas foi realizada concomitantemente com a etapa do processo sol-gel, precisamente junto com a adição do etanol e a água. Esse método faz com que o fármaco fique retido e disperso na matriz polimérica ou em um dos possíveis sítios de coordenação da membrana ureasil-polieter (Figura 17).

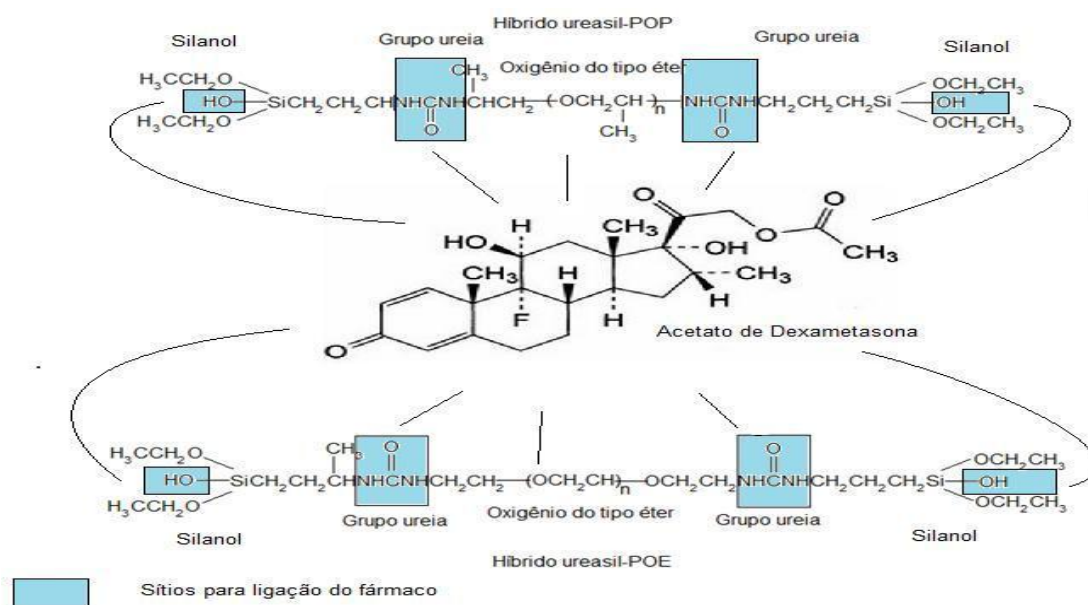


Figura 17. Possíveis Sítios de ligações entre material ureasil-poliéter e o fármaco modelo.

Este material por apresentar grupamentos polares em poliésteres tem a característica de agir como um solvente capaz de solubilizar os sais dos fármacos e formar um complexo estável (LOPES, 2010). Sendo assim, foi incorporado diferentes porcentagens de fármaco em relação a massa do precursor conforme demonstrada no item 6.2.2., para determinar qual a

concentração máxima possível de dexametasona que poderia ser incorporada nas membranas sem ocasionar perda da homogeneidade das membranas. A figura 18 apresenta as membranas sem fármaco e membranas contendo uma concentração de 3% do fármaco acetato de dexametasona. Observa-se que tanto a membrana com fármaco como a membrana sem fármaco mantém os mesmos aspectos como homogeneidade e transparência.

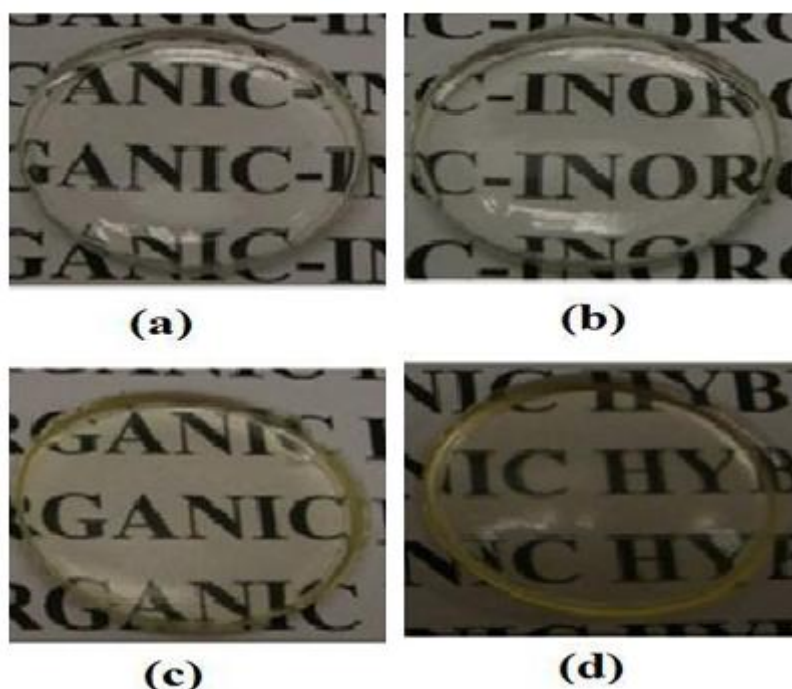


Figura 18. Aspectos das membranas híbridas contendo concentrações ideais do fármaco acetato de dexametasona; a) ureasil-POP400/POP2000 sem fármaco; b) ureasil-POP400/POP2000 contendo 3% de fármaco; c) ureasil-POP400/POE1900 sem fármaco; d) ureasil-POP400/POE1900 contendo 3% de fármaco.

Entretanto quando aumentamos a concentração de fármaco observa-se que o fármaco não se encontra totalmente disperso ou solubilizado na membrana, portanto, optamos trabalhar com a concentração de 3% do fármaco. A figura 19 mostra o aspecto visual das membranas com concentrações de acetato de dexametasona acima de 3%.

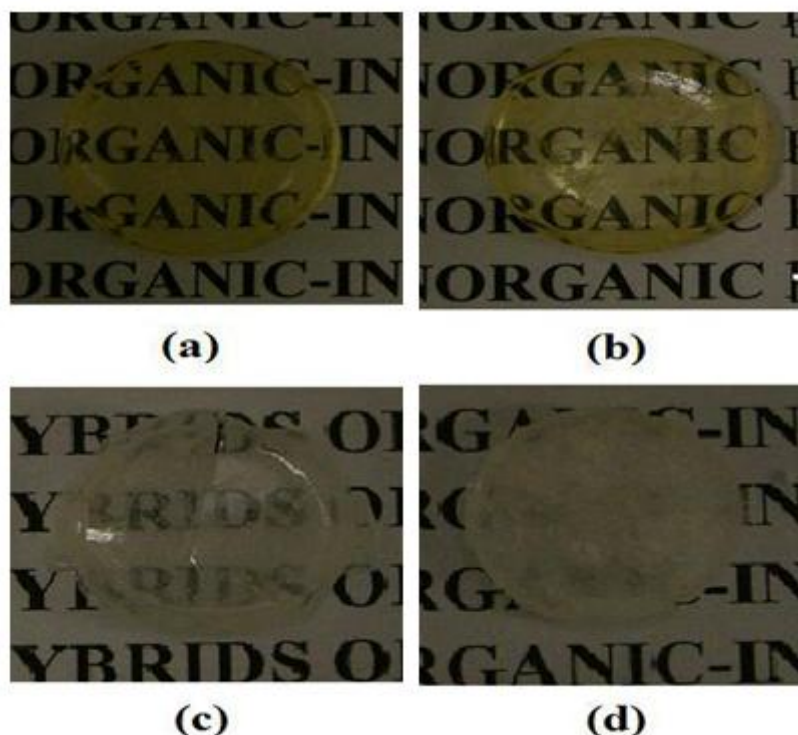


Figura 19. Aspectos das membranas híbridas contendo diferentes concentrações do fármaco acetato de dexametasona; a) ureasil-POE1900 contendo 5% de fármaco; b) ureasil-POE1900 contendo 6% de fármaco; c) ureasil-POP400 contendo 10% de fármaco; d) ureasil-POP400 contendo 15% de fármaco.

7.3 Intumescimentos “*in vitro*”

Conforme mostrado no item 3, nosso grupo de pesquisa tem realizado teste de intumescimento para explicar o comportamento do perfil de liberação do fármaco a partir das membranas ureasil-poliéter (MENDES, 2012). Pode-se observar uma grande diferença entre os perfis de intumescimento apresentados pelas amostras ureasil-POP400 e ureasil-POE1900, este fato sugeriu que neste trabalho fossem realizadas misturas dessas membranas a fim de controlar o intumescimento e modular de forma mais fina o perfil de liberação. As figuras 20 e 21 demonstram o perfil de intumescimento para as membranas obtidas a partir das misturas preparadas com diferentes proporções de ureasil-POP400/POE1900 e ureasil-POP400/POP2000, respectivamente.

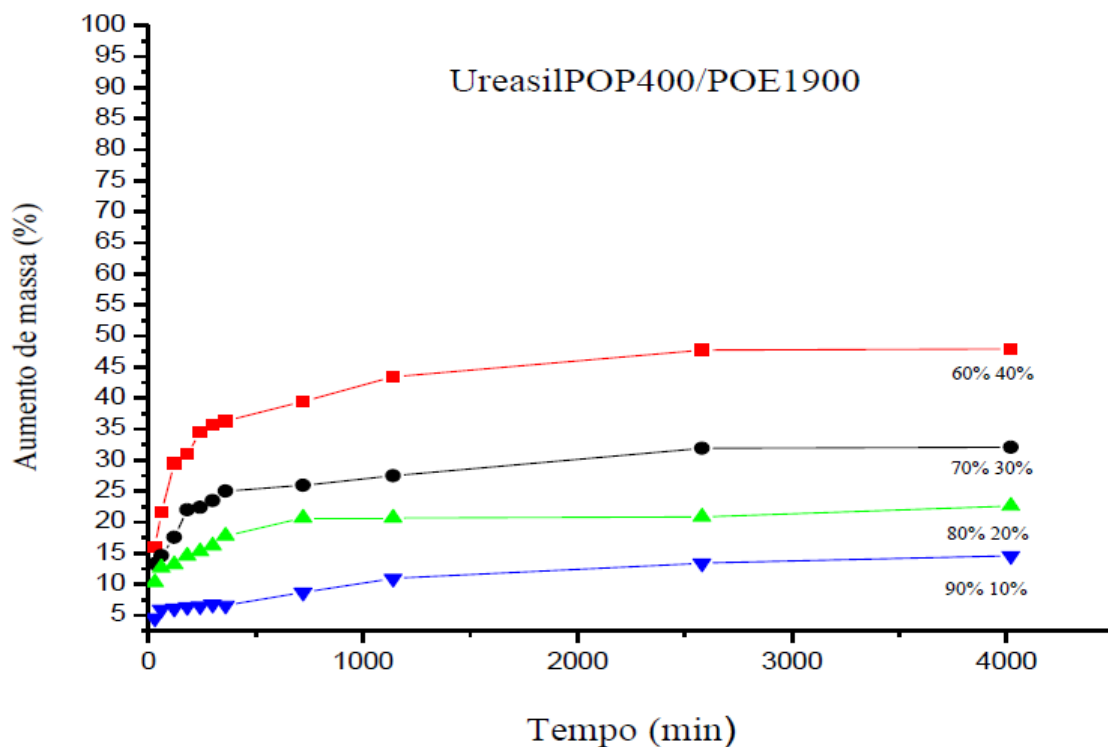


Figura 20. Comparação do aumento de massa entre as misturas das membranas híbridas ureasil-POP400/POE1900 durante o teste de intumescimento.

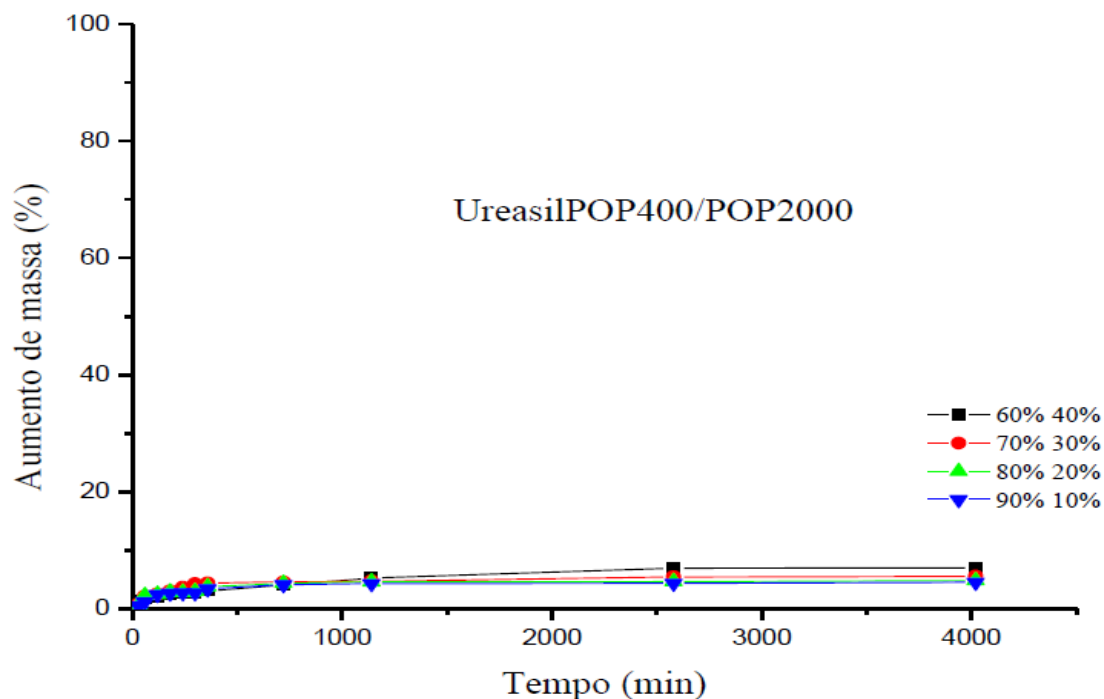


Figura 21. Comparação do aumento de massa entre as misturas das membranas híbridas ureasil-POP400/POP2000 durante o teste de intumescimento.

O aumento de massa apresentado pelas figuras 20 e 21 demonstra que quanto maior a concentração do ureasil-POE1900 ou ureasil-POP2000 nas misturas, maior é o aumento da massa. Esse fato indica que quanto maior o tamanho da cadeia polimérica maior a capacidade de intumescimento da membrana. Contudo, o intumescimento observado na figura 17 referente a mistura ureasil-POP400/POP2000 apesar de seguir esse padrão, revela valores de intumescimento pouco significativos em torno de 7,5%, para a amostra com a maior concentração de ureasil-POP2000. No caso da mistura com maior concentração de ureasil-POE1900 (Figura 20), entretanto, o intumescimento atingiu 47%. Essa diferença deve ocorrer pelo fato do híbrido ureasil-POP2000 apresentar um caráter mais hidrofóbico devido à proteção exercida pelos grupos CH_3 no oxigênio do tipo éter, o que não ocorre no híbrido ureasil-POE1900. O caráter hidrofóbico do híbrido ureasil-POP2000 faz com que a membrana apresente menor afinidade pela saliva e consequentemente menor capacidade de intumescer.

7.4 Espalhamentos de raios-X a baixo ângulo (SAXS)

A técnica de espalhamento de raios-X a baixo ângulo permite obter informação da estrutura da membrana a nível nanométrico, ou seja, sobre os efeitos causados pela adição do fármaco na membrana ou no comportamento dos grupamentos ureasil-polieter no processo de liberação.

A figura 21 mostra algumas curvas de SAXS correspondentes as membranas secas sem fármaco e curvas de membranas secas contendo 3% de fármaco.

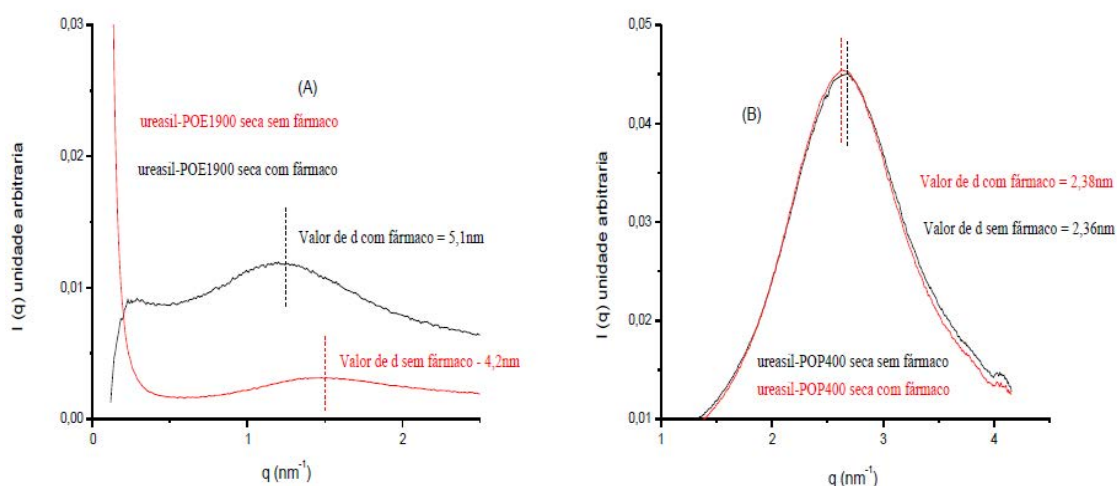


Figura 21. Curvas de SAXS para as membranas secas contendo ou não 3 % de dexametasona; (A) ureasil-POE1900; (B) ureasil-POP400.

Pelas curvas de SAXS das membranas ureasil-POP400 e ureasil-POE1900 pode-se observar a presença de apenas um único pico largo, o que evidencia a existência de correlação espacial entre os nós de silício da rede polimérica e a homogeneidade estrutural da matriz (DAHMOUCHE et al., 1999).

A partir do valor máximo do pico do vetor de espalhamento ($q_{\max}$) foi possível calcular a distancia correlação, utilizando a relação $d = 2\pi/q_{\max}$ tanto para as membranas secas contendo fármaco como as membranas secas sem fármaco.

No caso da membrana ureasil-POE1900 observa um deslocamento da distancia de correlação de 4,2nm para 5,1nm, enquanto que para a membrana ureasil-POP400 o deslocamento é de 2,36nm para 2,38nm sendo este não significativo. O deslocamento para do pico para membrana ureasil-POE1900 nos permite sugerir que as moléculas do fármaco estão incorporadas na região mais flexível da membrana híbrida, por isso ocorre esse deslocamento (LOPES, 2010).

Também foi possível avaliar a evolução temporal das membranas através das curvas de SAXS durante a liberação do fármaco, essa avaliação é produzida pelo inchamento das membranas que desloca a posição dos picos para valores mais baixos de q . A evolução temporal das curvas selecionadas

de SAXS para as membranas ureasil-POE1900 (Figura 22), ureasil-POP2000 (Figura 23) e ureasil-POP400 (Figura 24) durante as experiências de liberação do fármaco e intumescimento da matriz estão apresentadas abaixo.

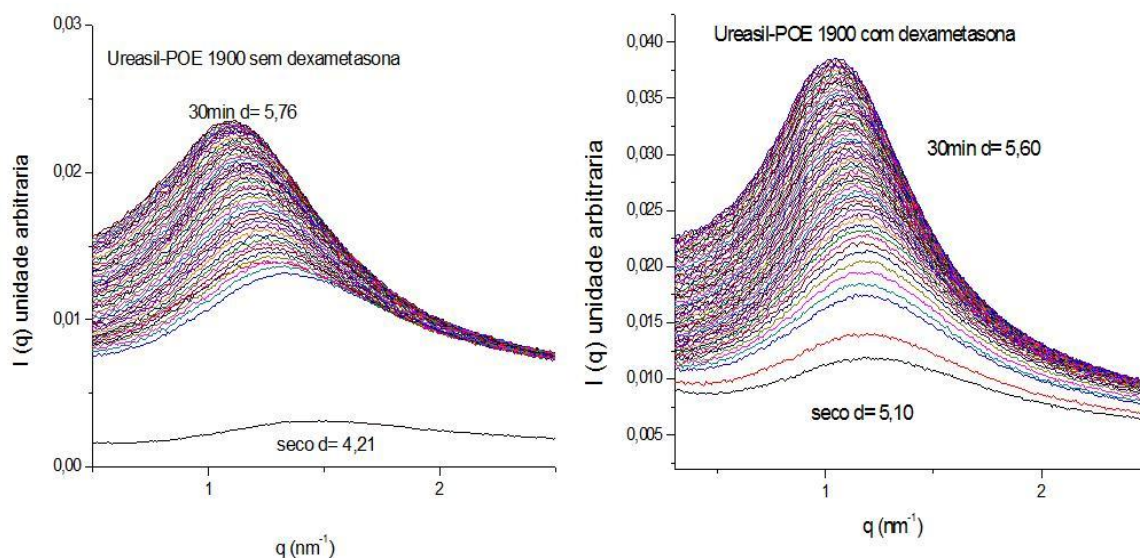


Figura 22. Curvas de SAXS para as membranas ureasil-POE1900 com ou sem 3% de dexametasona, coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial.

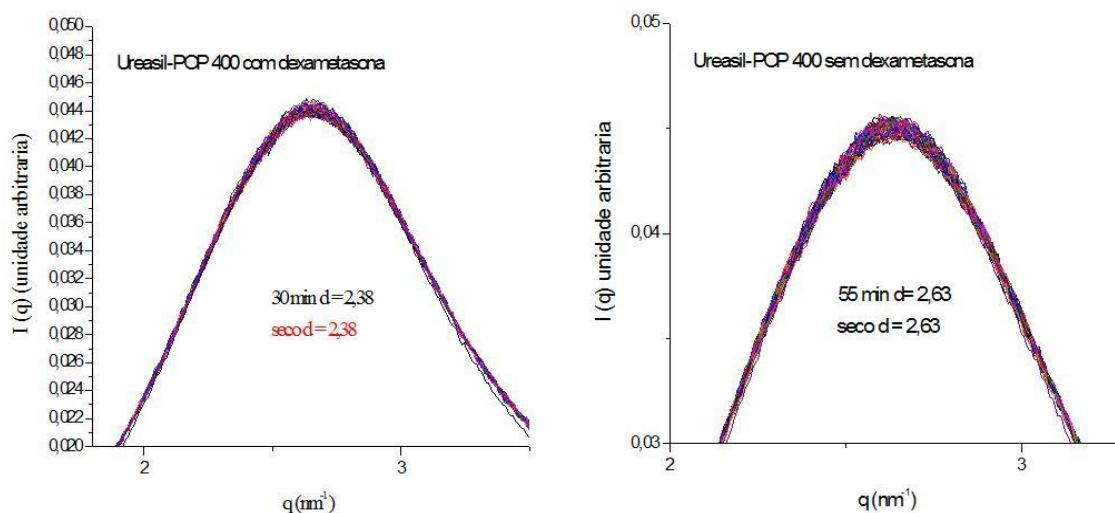


Figura 23. Curvas de SAXS para as membranas ureasil-POP400 com ou sem 3% de dexametasona, coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial.

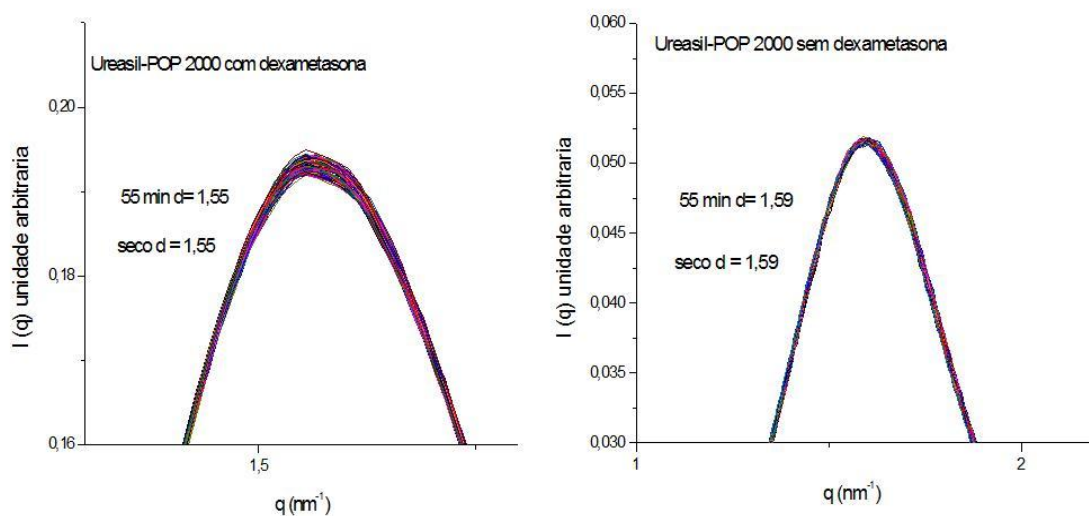


Figura 24. Curvas de SAXS para as membranas ureasil-POP2000 com ou sem 3% de dexametasona, coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial

Observa-se na figura 19 a evolução temporal das curvas de SAXS para a membrana ureasil-POE1900, podemos verificara expansão da distancia de correlação entre os “nós” de silício da membrana de 5,10nm no inicio do processo para 5,92nm após 30 minutos. Esses dados corroboram com os resultados observados pelo intumescimento “*in vitro*”, que revela um alto grau de intumescimento para essa membrana. A membrana ureasil-POP400 assim como a membrana ureasil-POP2000 não apresentaram deslocamento na distancia de correlação entre os “nós” de silício, seus valores se mantiveram em 2,38nm para membrana ureasil-POP400 e 3,95nm para a membrana ureasil-POP2000.

Os resultados da evolução temporal das membranas com misturas de ureasil-POP400/POE1900 e ureasil-POP400/POP2000 podem ser observados na figura 25a e 25b.

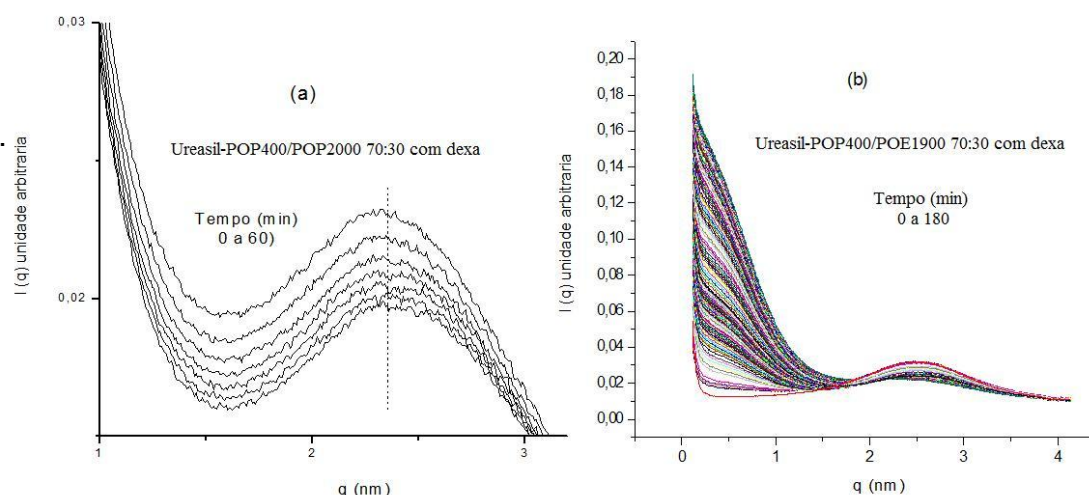


Figura 25. Curvas de SAXS coletadas durante o experimento de liberação do fármaco e intumescimento em saliva artificial para as misturas das membranas ureasil; (a) ureasil-POP400/POP2000 (70:30) contendo 3% dexametasona, (b) ureasil-POP400/POE1900 (70:30) contendo 3% dexametasona.

Podemos observar pela figura 25a que a mistura contendo ureasil-POP400/POP2000 mantém o mesmo comportamento observado para as amostras ureasil-POP400 ou ureasil-POP2000, ou seja, não ocorre deslocamento na distância de correlação entre os nós de silício, seus valores se mantiveram em 2,60nm durante todo o experimento.

Na figura 25b, é possível observar que para a mistura ureasil-POP400/POE1900 verifica-se a presença de dois picos e podemos correlaciona-los com os picos das membranas ureasil-POP400 e da membrana ureasil-POE1900, separadamente. O primeiro pico nos fornece um valor de distância de correlação sem deslocamento durante o experimento de 2,51nm, atribuído ao material ureasil-POP400. O segundo pico desloca-se nos primeiros 15 minutos iniciais de 0,6nm para 0,38nm, esse pico pode ser atribuído à presença da membrana ureasil-POE1900 na mistura e confirma que ocorre a expansão dos “nós” de silício a nível nanométrico.

A partir do valor da distância de correlação (d) calculada, podemos analisar o grau de intumescimento em função do tempo durante a cinética de liberação, através da relação: $\Delta d = d_t - d_s / d_t$, onde d_t é o valor da distância de correlação em um tempo t de contato com o meio de liberação e

d_s é o valor da distância de correlação calculado para a amostra seca (antes do contato com o meio de liberação).

A Tabela 3 mostra os valores da posição dos picos nas curvas de SAXS ($q_{\max}$) e a distância de correlação (d) entre os grupamentos silício e a região polimérica da membrana e a variação do grau de intumescimento (Δd).

Tempo (min)	Ureasil-POP 400 com fármaco			Ureasil-POP 2000 com fármaco			Ureasil-POE 1900 com fármaco			UreasilPOP/POP 400/2000 (70:30) sem fármaco			Ureasil-POP/POE 400/1900 (70:30) semfármaco		
	$q_{\max}$	d	Δd	$q_{\max}$	d	Δd	$q_{\max}$	d	Δd	$q_{\max}$	d	Δd	$q_{\max}$	d	Δd
0	2,65	2,38	0	1,56	2,38	0	1,23	5,1	0	2,36	2,66	0	0,6	10,4	0
5	2,65	2,38	0	1,56	2,38	0	1,19	5,27	4,4	2,36	2,66	0	0,45	13,6	24
10	2,65	2,38	0	1,56	2,38	0	1,16	5,41	5,7	2,36	2,66	0	0,39	16,1	35
15	2,65	2,38	0	1,56	2,38	0	1,15	5,46	6,5	2,36	2,66	0	0,38	16,8	36
30	2,65	2,38	0	1,56	2,38	0	1,11	5,65	10	2,36	2,66	0	-	-	-

Tabela 3. Posição dos picos no vetor de espalhamento ($q_{\max}$) e distância de correlação (d) entre os grupamentos ureasil e a região polimérica da membrana e a variação da do grau de intumescimento em % (Δd).

Diferente dos dados macroscópicos é possível observar que as membranas ureasil-POP400 e ureasil-POP2000 não apresentam intumescimento, este fato pode ser devido a água remanescente na membrana durante o processo macroscópico que altera o valor real do peso alterando assim o valor da porcentagem do intumescimento. Enquanto que as membranas contendo o material ureasil-POE1900 apresentam intumescimento considerável. Entretanto, podemos observar que a membrana ureasil-POE1900 contendo fármaco apresenta um valor de intumescimento de 10% após 30 minutos esse valor de intumescimento é menor em relação à membrana ureasil-POE1900 sem a adição do fármaco que apresenta 36% após 15min. Esse fato deve estar relacionado com a ligação do fármaco nas cadeias poliméricas das membranas dificultando a expansão da mesma.

7.5 Ensaios de liberação “in vitro” do acetato de dexametasona

7.5.1 Curva analítica (Linearidade)

A linearidade do método de quantificação do acetato de dexametasona por espectroscopia na região do UV foi determinada através da construção da curva analítica em meio tampão fosfato pH 7.2 utilizando diferentes concentrações de dexametasona, sendo a curva linear entre 5 e 50 µg/mL (Figura 26).

Na análise realizada em tampão fosfato pH 7.2, o fármaco apresentou absorção máxima em 241 nm. A regressão linear forneceu a equação de reta: $y = 0,0381x + 0,0917$ e o coeficiente de correlação $r^2 = 0,9985$.

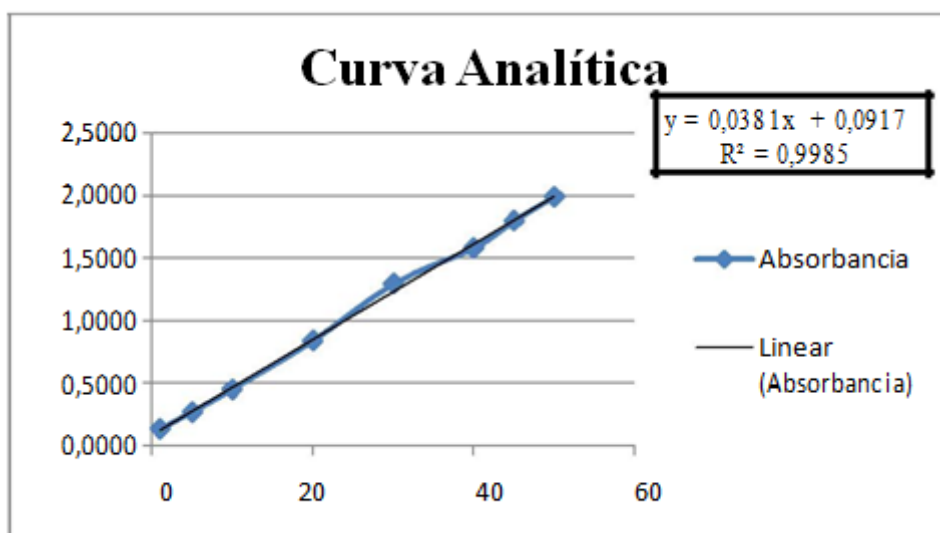


Figura 26. Curva analítica do acetato de dexametasona em tampão fosfato pH 7.2

7.5.2 Teste de liberação da dexametasona a partir das membranas

Para que ocorra a liberação do fármaco em sistemas matriciais ou monólitos processos físicos e químicos estão envolvidos, tais como penetração do líquido na matriz, difusão do fármaco pela matriz, erosão do sistema polimérico e por fim uma combinação desses mecanismos (LYRA et AL., 2007). A ocorrência de um ou de outro mecanismo será dependente da natureza química e estrutural das matrizes utilizadas como sistemas de

liberação. Para ser considerado como um bom sistema de liberação controlada é importante que a matriz seja capaz de controlar e manter a liberação do fármaco em níveis adequados dentro da faixa terapêutica para o tecido-alvo, independentemente do mecanismo de liberação. Os perfis de liberação do acetato de dexametasona a partir das membranas formadas pelas misturas ureasil-POP400/POE1900 estão apresentados na Figura 27. Pode-se observar que quanto maior a proporção do ureasil-POP400 na mistura menor é a quantidade de acetato de dexametasona liberado. Esse comportamento está de acordo com o observado para o intumescimento dessa matriz, discutido nos itens 7.3 e 7.4, revelando uma forte relação entre o perfil de intumescimento e de liberação do fármaco.

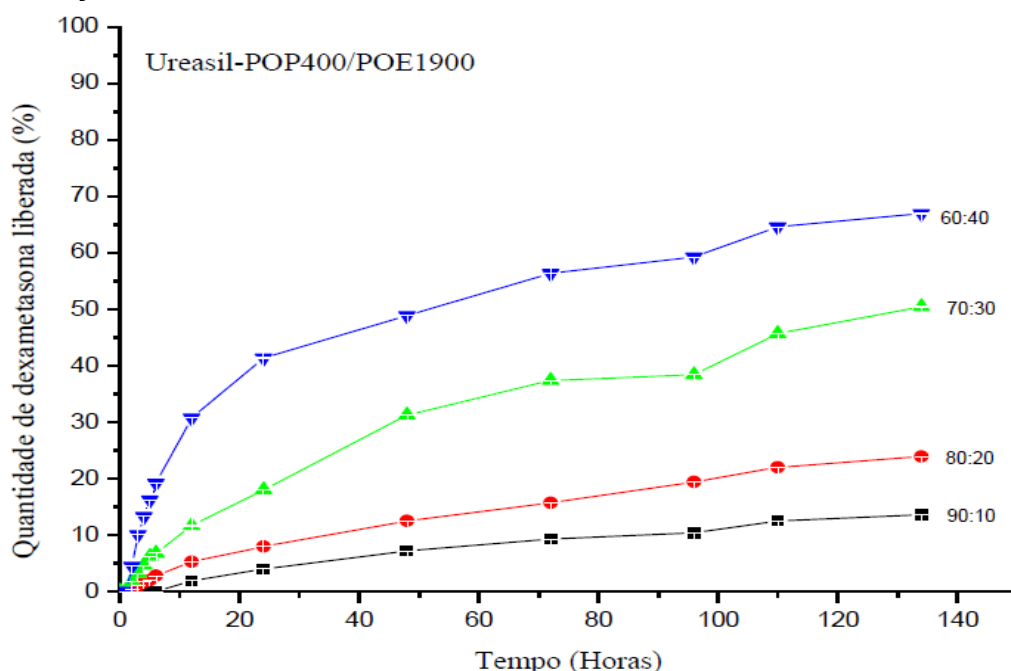


Figura 27. Perfil de liberação do acetato de dexametasona incorporada nas membranas ureasil-POP400/POE1900 em diferentes proporções.

A Figura 28 apresenta os perfis de liberação do acetato de dexametasona a partir das membranas ureasil-POP400/POP2000 com diferentes proporções. Pode se observar o mesmo comportamento apresentado para as membranas ureasil-POP400/POE1900, ou seja, quanto maior a proporção da fase ureasil-POP400 menor a taxa de liberação, corroborando com os dados de perfil de intumescimento desta membrana.

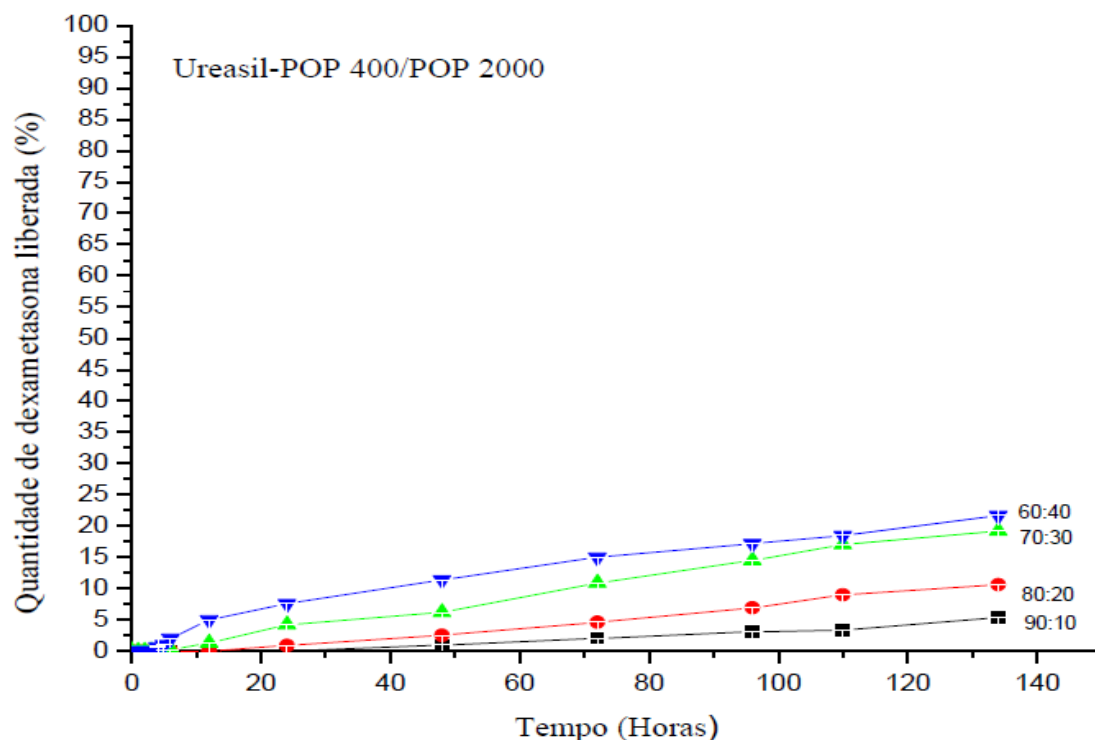


Figura 28. Perfil de liberação do acetato de dexametasona incorporada nas membranas ureasil-POP400/POP2000 em diferentes proporções.

A Tabela 4 relaciona os valores da porcentagem de acetato de dexametasona liberada após 134 h a partir das membranas Ureasil-POP400/POE1900. A Tabela 5 relaciona os valores da porcentagem de acetato de dexametasona liberada após 134 h a partir das membranas Ureasil-POP400/POP2000. De acordo com os resultados apresentados (Tabela 4 e 5) a liberação do fármaco não atinge 100% de liberação em nenhuma membrana testada, no período de 134 horas (5 dias e 12 horas). Esse fato indica que existe a possibilidade do controle da liberação por dias e até meses.

Amostras Ureasil-POP400/POE1900	Taxa (%) de liberação das membranas (134 h)
60:40	67 ($\pm 0,20$)
70:30	50 ($\pm 0,04$)
80:20	24 ($\pm 0,27$)
90:10	14 ($\pm 0,40$)

Tabela 4. Porcentagem de acetato de dexametasona liberada após 134h a partir das membranas Ureasil-POP400/POE1900.

Amostras Ureasil-POP400/POP2000	Taxa (%) de liberação das membranas (134 h)
60:40	22 ($\pm 0,28$)
70:30	19 ($\pm 0,02$)
80:20	11 ($\pm 0,48$)
90:10	6 ($\pm 0,52$)

Tabela 5. Porcentagem de Acetato de dexametasona liberada após 134h a partir das membranas Ureasil-POP400/POP2000.

Os resultados de liberação apresentados nas tabelas 4 e 5 podem ser explicados por dois fatores, o primeiro e mais importante fator, esta relacionado com as características hidrofílicas/hidrofóbicas dos polímeros híbridos conforme demonstrado nos teste de intumescimento e SAXS. O segundo fator está relacionado com a baixa massa molecular do híbrido ureasil-POP que faz com que a membrana possua muitos grupamentos ureasil-poliéter, conferindo

a membrana uma maior rigidez e essa rigidez interfere no processo de difusão do fármaco, o que resulta em uma menor taxa de liberação (CARBINATO, 2010). Sendo assim, as membranas com as maiores concentrações de ureasil-POP precisam de um tempo maior para o início do processo de liberação, este fato é relacionado ao caráter hidrofóbico desses materiais. A hidrofobicidade da cadeia diminui a afinidade do ureasil-POP com o meio de dissolução resultando em um menor relaxamento das cadeias poliméricas e redução no grau de intumescimento da matriz. O perfil de intumescimento das membranas híbridas está intimamente relacionado com o perfil de dissolução e difusão do fármaco para fora da matriz (SANTILI et al., 2009; MOLINA., et al 2010). Para a membrana com maior concentração de ureasil-POE material altamente hidrofílico, um alto grau de intumescimento nos primeiros minutos ocorre, o que facilita a difusão e a dissolução do fármaco (SANTILI et al., 2009; MOLINA., et al 2010) no início do processo, acarretando em uma maior taxa de liberação do fármaco. No entanto, a mesma tendência de comportamento não foi observada material ureasil-POP2000 que apesar da cadeia molecular possuir o mesmo tamanho do ureasil-POE1900 a taxa de liberação é menor, isso é resultado do grupamento CH_3 presente em sua cadeia polimérica, resultando em um material hidrofóbico assim como o material ureasil-POP400. No caso da membrana ureasil-POP2000 a maior flexibilidade da cadeia polimérica é o que ocasiona o aumento das taxas de liberação conforme ocorre o aumento da sua proporção nessas misturas. O acetato de dexametasona por possuir um caráter pouco solúvel também acaba apresentando uma alta afinidade pelas cadeias dos materiais ureasil-POP400 e ureasil-POP2000, isso também contribui para que ocorra uma menor taxa de liberação nessas membranas.

Para descrever o mecanismo de transporte envolvido na cinética de liberação, vários modelos matemáticos podem ser utilizados (KORSMEYER, 1983; LOPES, 2005). Diferentes modelos matemáticos foram aplicados aos dados de liberação referente às figuras 27 e 28. Os modelos utilizados foram: Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Hixson-Crowell, Baker-Lonsdale, Zero ordem e Primeira Ordem.

O modelo matemático que melhor se ajustou às curvas experimentais de liberação do acetato de dexametasona a partir das membranas ureasil-

POP400/POP2000 e ureasil-POP400/POE1900 foi o descrito por Korsmeyer pela seguinte equação

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K \cdot t^n$$

Sendo que M_t é a quantidade de fármaco liberada por área em um tempo t , M_∞ é a quantidade total do fármaco liberado em um tempo infinito, k é a constante de liberação que considera características estruturais e geométricas do sistemas e o valor do expoente n é o que define o mecanismo de liberação.

Para membranas (cilíndricas) os valores de n são: $n \leq 0,45$ caracterizam mecanismo de liberação por difusão Fickiana, valores de $0,45 < n \leq 0,89$ caracterizam mecanismo de liberação por transporte anômalo (intumescimento considerável e difusão) e valores de $n > 0,89$ caracterizam mecanismo de transporte caso II que leva em conta um processo de difusão do fármaco superior ao intumescimento (KORSMEYER, 1983). A tabela 6 apresenta os valores do expoente n calculado para os perfis de liberação do acetato de dexametasona a partir das membranas ureasil-POP400/POE1900.

MEMBRANAS Ureasil-POP 400 +Ureasil POE 1900	r^2 ajustado	Parâmetros da equação		Mecanismo de liberação
		K	n	
Proporção (90:10)	0,9914	0,2592	0,8184	Anômalo
Proporção (80:20)	0,9953	0,8154	0,6952	Anômalo
Proporção (70:30)	0,9943	2,4561	0,6198	Anômalo
Proporção (60:40)	0,9830	8,4626	0,4542	Anômalo

Tabela 6. Expoentes da equação de Korsmeyer-Peppas para as diferentes membranas ureasil-POP400/POE1900.

Observa-se pelos valores de n apresentado na tabela 6, que o mecanismo de transporte predominante é o transporte anômalo, onde o fenômeno de relaxamento das cadeias poliméricas durante o processo de intumescimento e a difusão do solvente são os principais mecanismos responsáveis pela liberação do fármaco contribuindo de forma igualitária para a liberação (SUJJA-AREEVATH et al., 1998).

A tabela 7 apresenta os valores do expoente n calculado para os perfis de liberação do acetato de dexametasona a partir das membranas ureasil-POP400/POP2000.

MEMBRANAS Ureasil-POP 400 +Ureasil POE 2000	r^2 ajustado	Parâmetros da equação		Mecanismo de liberação
		K	n	
Proporção (90:10)	0,9953	0,0011	1,72	Caso II
Proporção (80:20)	0,9978	0,0117	1,39	Caso II
Proporção (70:30)	0,9941	0,1259	1,034	Caso II
Proporção (60:40)	0,9936	0,6836	0,8888	Caso II

Tabela 7. Expoentes da equação de Korsmeyer-Peppas para as diferentes membranas ureasil-POP400/POE2000.

Observa-se pelos valores de n apresentado na tabela 7, que o mecanismo de transporte predominante é o transporte caso II, a diferença em relação ao transporte anômalo é ocasionada pela ordem de velocidade dos processos de liberação em relação ao transporte anômalo. Neste caso a velocidade de difusão do fármaco é muito maior que o relaxamento das cadeias do material (intumescimento) (SUJJA-AREEVATH et al., 1998).

7.6 Ensaios “*in vivo*”

Para a realização dos ensaios “*in vivo*” foram escolhidas três membranas. A membrana chamada de grupo I é a membrana comercial de colágeno da empresa Geistlich Pharma Ag, a chamada de Grupo II corresponde a membrana ureasil-POP400/POP2000 com proporção de 70:30 e a chamada de Grupo III corresponde a membrana ureasil-POP400-POE1900 com proporção de 70:30. Para a escolha das proporções acima foram levados em consideração os resultados demonstrados pelos testes de intumescimento, SAXS e liberação do fármaco, apresentados anteriormente.

As figuras 29, 30 e 31 apresentam as fotomicrotomografias dos defeitos ósseos na calota craniana com 7 (a), 15 (b), 30(c) e 60(d) dias para os defeitos ósseos com membrana de colágeno, membrana ureasil-POP400/POE1900 e membrana ureasil-POP400/POP2000, respectivamente.

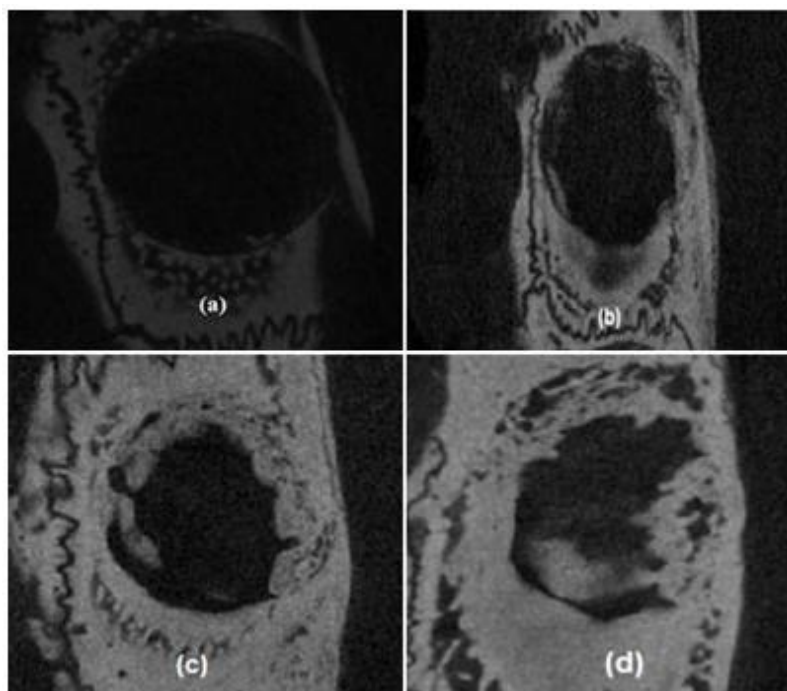


Figura 29. Fotomicrotomografia dos defeitos ósseos contendo a membrana de colágeno; (a) 7 dias (b) 15 dias (c) 30 dias; (d) 60 dias.

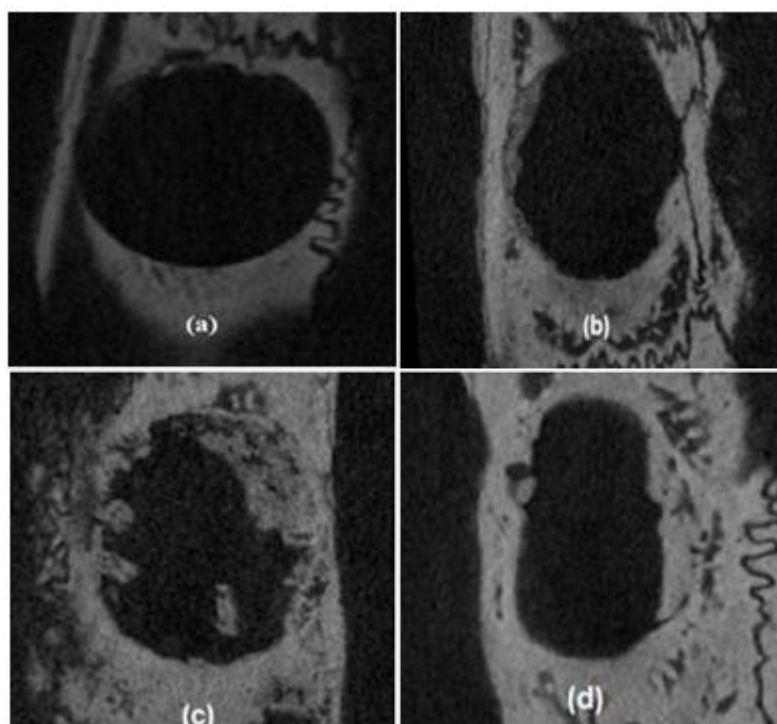


Figura 30. Fotomicrotomografia dos defeitos ósseos contendo a membrana ureasil-POP400/POP2000; (a) 7 dias (b) 15 dias (c) 30 dias; (d) 60 dias.

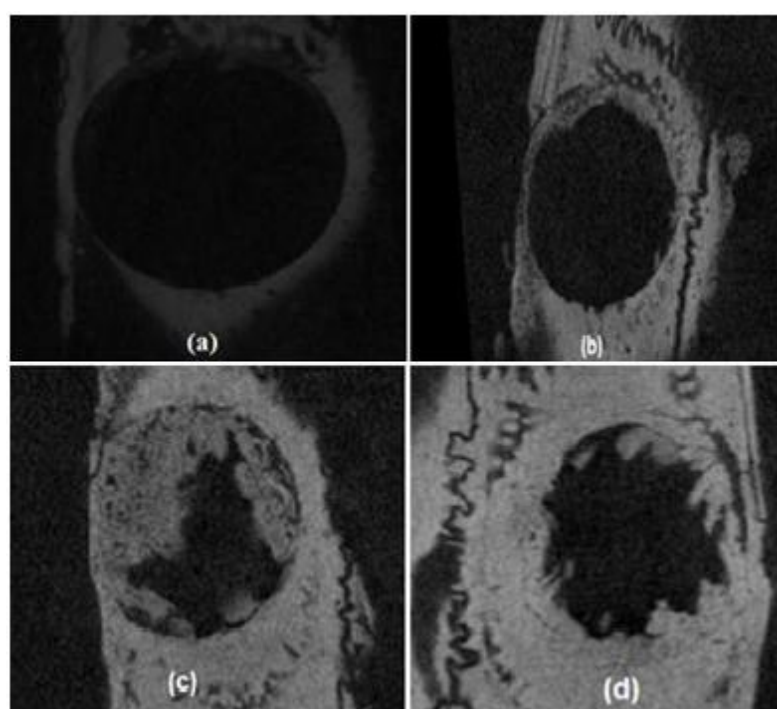


Figura 31. Fotomicrotomografia dos defeitos ósseos contendo a membrana ureasil-POP400/POE1900; (a) 7 dias (b) 15 dias (c) 30 dias; (d) 60 dias.

Pelas características visuais apresentadas nas figuras 29, 30 e 31, podemos sugerir que conforme aumenta o tempo ocorre um aumento do percentual formado de tecido ósseo, fato que ocorre para todas as membranas. Para obter o volume do osso formado dentro do defeito ósseo foi utilizado o software CTAn analisa e mede a imagem de acordo com a escalas de cinza (thershould). O software CTAn analisou e mediu as imagens de acordo com a escalas de cinza (thershould). O software CTAn, a partir da delimitação da região de interesse em 2D, promove a análise em 3D da mesma pela soma coletiva de todos os "ROI"s de um conjunto contíguo de fatias de imagens transversais. Deste modo foi obtido o percentual de volume do tecido ósseo presente nas áreas de interesse previamente delimitadas (ROIs). A tabela 8 apresenta os valores de percentual de volume do tecido ósseo.

Tipos de Membranas	7 dias	15 dias	30 dias	60 dias
Colágeno	7%(±0.73)	12,66% (±0.63)	19,66% (±1.43)	21.9 (±0.28)
Ureasil- POP400/POP2000	4%(±0.63)	12,18% (±1.2)	20,28 (± 0.30)	21.1 (±0.08)
Ureasil- POP400/POE1900	7% (±0.75)	12,06% (±0,38)	21,55 (±0.22)	22,7 (±0.42)

Tabela 8. Percentual de volume ósseo para os defeitos na calota craniana nos seguintes períodos: 7, 15, 30 e 60 dias.

Observando os valores apresentados na tabela 8 é possível afirmar que todos os defeitos ósseos apresentaram o mesmo percentual de volume ósseo formado, em todos os períodos de tempos analisados, exceto para o período de 7 dias. Esses valores indicam que as membranas desenvolvidas a partir dos materiais híbridos ureasil-poliéster possuem a mesma eficiência das membranas de colágeno comercial. Na tabela 8 podemos verificar que a porcentagem de volume ósseo formado nos períodos de 30 e 60 dias são semelhantes, ou seja,

não ocorre um grande crescimento no volume ósseo dentro deste intervalo. Este fato pode ser relacionado aos defeitos críticos criados na calota craniana, ou seja, foi criado uma ferida intra-óssea onde não existe capacidade total de regeneração durante a vida do animal sem a utilização de algum material que possa vir auxiliar nos processos de osteogênese. O diferencial das membranas formadas pelos materiais híbridos ureasil-poliéster em relação à membrana comercial está no fato de que existe a possibilidade futura de incorporação de substâncias osteoindutoras.

8. CONCLUSÕES

Foram desenvolvidas membranas a partir de diferentes misturas de materiais híbridos orgânico-inorgânicos ureasil-POP400, ureasil-POP2000 e ureasil-POE1900. A partir dessas misturas membranas com diferentes proporções foram obtidas resultados de diferentes balanços hidrofílico-hidrofóbicos, o que permitiu controlar tanto o perfil de intumescimento quanto de liberação do fármaco acetato de dexametasona.

Os estudos da cinética de liberação revelam que as membranas do tipo ureasil-POP400/POP2000 tem como mecanismo de transporte o transporte caso II, onde, a velocidade de difusão do fármaco é muito maior que o relaxamento das cadeias do material (intumescimento); enquanto que as membranas do tipo ureasil-POP400/POP1900 tem como mecanismo de transporte o transporte anômalo, onde o fenômeno de relaxamento das cadeias poliméricas durante o processo de intumescimento e a difusão do solvente são os principais mecanismos responsáveis pela liberação do fármaco contribuindo de forma igualitária para a liberação.

Resultados de neoformação óssea possibilitou comparar a formação óssea entre membranas comercial de colágeno (Bio-Gide) e as membranas desenvolvidas do tipo ureasil-poliéter sem fármaco, os resultados revelaram que estatisticamente o volume ósseo formado foi igual.

Portanto, concluímos que as membranas tipo ureasil-poliéter tem grande potencial para ser utilizada como uma membrana de barreira física, principalmente devido as suas propriedades de incorporar e liberar de forma controlada fármacos ou proteínas visando estimular o crescimento ósseo. Essas características podem tornar as membranas ureasil-poliéter uma membrana de barreira física única no mercado.

9. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P.M.M.C.; MAGALHÃES, V.H.S. Polímeros. Porto: Universidade Fernando Pessoa (UFP), Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2004. Disponível em:

<http://www2.ufp.pt/~madinis/Trabalhos/CMAT/2003_2004/Pedro%20e%20Victor.pdf>. Acesso em: 18 Mar. 2012.

ANDIA, D. C; CERRI, P. S; SPOLIDORIO, L. C. Bone tissue: morphological and histophysiological aspects. **Ver. Odontol.UNESP**.,v. 35, p. 191-198, 2006.

ANDRADE, C.; COUTINHO, F.; DIAS, M.; LUCAS, E.; OLIVEIRA, C.; TABAK, D. **Compêndio de nomenclatura macromolecular**. Rio de Janeiro: E Papers, 2002.

ATWOOD, D. A. Post extraction changes in the adult mandible as illustrated by microradiographs of midsagittal sections and serial cephalometric roentgenograms. **J. Prosthet.Dent.**,v.13, p.810-824, 1963.

AVERY, M.A.; WOOLFREY, J.R. Antiinflammatory steroids.In: **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**, v. 5, p. 281–376, 1997.

BARRATT, G. M. Therapeutic applications of colloidal drug carriers. **Pharm. Sci. Technol.**,v. 3, p. 163-171, 2000.

BERMUDEZ, Z. V; ALACÁCER, L; ACOSTA, J. L; MORALES, E..Synthesis and characterization of novel urethane cross-linked ormolytes for solid-state lithium batteries. **Solid.State.Ionics**.,v. 116, p. 197-209, 1999.

BONFIGLIO, M; JETER, W.S. Immunological responses to bone.**Clin.Orthop.Relat.Res.**,v. 87, p. 19-27, 1972.

BRADY, J. Resorption rate, route of elimination, and ultrastructure of the implants of polylactic acid in the abdominal wall of rat. **J. Biomed. Mater. Res.**, v.7, p.155-166, 1973.

BRASIL. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 jun. 2003. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br>. Acesso em Julho de 2012.

BRINKER, C. J; SCHERER, G. W. The physics and chemistry of Sol-Gel processing. **Academic Press, INC**. San diego: Elsevier. 1990.

BRITISH PHARMACOPEIA 2010. 1. ed. London: The Stationery Office, 2009. 5300 p.

CAFFESSE, R. G; QUINONES, C. R. Guided tissue regeneration: biologic rationale, surgical technique, and clinical results. **Compendium**, v. 13, p. 166-170, 1992.

CAFFESSE, R.G., GUINARD, EA Treatment of localized gingival recessions. Part II. Coronally repositioned flap with a free gingival graft. **J, Periodont.**, v. 49, p.357-361, 1978.

CARBINATO, F. M. **Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos**. 2010. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp, Araraquara, 2010.

CARVALHO, A.J.F. Perspectivas no desenvolvimento de novas aplicações de materiais de fontes renováveis. Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://maintec.snappages.com/conference-contents.htm>. Acesso em: 18 Mar. 2012.

CARVALHO, P. S.; MARIANO, R.C.; OKAMOTO, T Treatment of fibrinolytic alveoliis with rifamycin B diethylamide associated with gel foam: a histological study. **Braz.Dent. J.**,v. 8, p. 3-8, 1997.

CARVALHO, P.S.P.; BASSIA, A.P.F.; VIOLIN, L.A. "Revisão e proposta de nomenclatura para os biomateriais". **Implant. News.**,v. 1, p. 256-261, 2004.

CHAKER, J. A. **Correlações entre estrutura e propriedades de condução iônica em materiais híbridos siloxano-poli(propileno óxido), dopados com sais de sódio e potássio.** 2005. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Unesp, Araraquara, 2005.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. **Prog.Polym.Sci.**, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHIAVACCI, L. A.; DAHMOUCHE, K.; SILVA, N.J.O.; CARLOS, L.D.; AMARAL, V.S.; DE ZEA BERMUDEZ, V.; PULCINELLI, S.H.; SANTILLI, C.V.; BRIOIS, V.; CRAIEVICH, A.F. Effect of presence of an acid catalyst on structure and properties of iron-doped siloxane-polyoxyethylene nanocomposites prepared by sol-gel. **J. Non-Cryst. Solids.**, v. 345/346, p. 585-590, 2004.

CLARKE, B. Normal Bone Anatomy and Physiology. **Clin.J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 3, p. 131-139, 2008.

CHIN-LUNG, C.; CHEN-CHI, M.; Syntheses, characterization and thermal properties of novel epoxy containing silicon and phosphorus nannocomposites by the sol-gel method. **J. Eur. Polym.**, v. 38, p. 2219-2224, 2002.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modelling and comparison of dissolution profiles. **Eur. J. PHarm. Sci.**, v.13, p.123-133, 2001.

COSTA, M. V. S. M; LOUZADA, E. S; SILVA, A. M; FERREIRA, T. S. Validação de metodologia analítica para doseamento da matéria-prima de acetato de dexametasona. **Fragmentos**, v. 18, p. 895-909, 2008.

CZAJA, W. K., YOUNG, D. J., KAWECKI, M. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. **Biomacromol.**, v. 8, p. 1-12, 2007.

DAHLIN, C; LINDE, A; GOTTLÖW, J; NYMAN, S. Healing of bone defects by guided tissue regeneration. **Plast.Reconstr.Surg.**, v. 81, p. 672-676, 1988.

DALMOUCHE, K; SANTILLI. C.V.; PULCINELLI, S. H.; CRAIEVICH, A. F. Small-angle x-ray scattering study of sol-gel derived siloxane-PEG and siloxane-PPG hybrid materials. **J.Phys.Chem.B.**, v. 103, p. 4937-4942, 1999.

DEMPSTER, D. W; PARISIEN; SILVERBERG, S. J; LIANG, X. G; SCHNITZER, M. SHEN, V. On the mechanism of cancellous bone preservation in postmenopausal women with mild primary hyperparathyroidism. **J.Clin. Endocrinol.Metabol.**, v. 84, p. 1562-1566, 1999.

DIMITRIOU, R; GIONNOUDIS, P. V. Discovery and development of BMPs. **Int. J. Care.Injured.**, v. 36, p 28-33, 2005.

DOBLARÉ, M; GARCIA, J. M; GÓMEZ, M. J. Modeling bone tissue fracture and healing: a review. **Eng.Fract.Mech.**, v. 71, p. 1809-1840, 2004.

DUMITRIU, S. **Polymeric biomaterials**. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 2001.

ESTEVEZ, A. C. C; BARROS-TIMMONS, A; TRINDADE, T. Nanocompósitos de matriz polimérica: Estratégias de síntese de materiais híbridos. **Quim. Nova**, v. 27, p. 798-806, 2004.

FAION, A. G. O. Etil-2-cianocrilato como selante em coto cecal de *Rattus norvegicus albicans* submetidos a ressecção parcial. Dissertação. Uberlândia: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, 2009. 104 f. Mestrado em Medicina.

FARREL, S.; HESKETH, P. R. An introduction to drug delivery for chemical engineers. **Chem.Eng.Educ.**, p. 198-203, 2002.

GALAEV, I.Y.; MATTIASSON, B. "Smart" polymers and what they could do in biotechnology and medicine. **Trends.Biotechnol.**, v. 17, p. 335-340, 1999.

GARCIA, O; GARRIDO, L; SASTRE, R; COSTELA, A; GÁRCIA-MORENO, I. Synthesis strategies for hybrid materials to improve properties for ptoelectronic applications. **Adv. Funct. Mater.**, v. 18, p.2017-2025, 2008.

GEIGER, M.; LI, R.H.; FRIESS, W. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. **Adv. Drug.Delive.Rev.**, v. 55, p. 1613-1629, 2003.

GENARO, A.R. (Ed) Remington: the science and practice of pharmacy. 21st. ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, p. 2005. 2393.

GOULD, J.A., Fisioterapia em Ortopedia e Medicina do Esporte, 2 ed., São Paulo: Ed.Manole, 1993

GROSS, J. S. Bone grafting materials for dental applications: a practical guide. **Compend.Contin.Educ. Dent.** 'v. 18, p 1013-1024, 1997.

HARDWICK, R.; HAYES, B.K.; FLYNN, C. Devices for dento alveolar regeneration: an up-to-date literature review. **J.Periodontol.**, v. 66, p.495-505, 1995.

HERCULANO, R.D. **Desenvolvimento de membrana de látex natural para aplicações médicas.** 2009. 4 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, USP, Ribeirão Preto, 2009.

HICKEY, T.; KREUTZER,D.; BURGESS D.J.; MOUSSY., F. Dexamethasone /PLGA microspheres for continuous delivery of an anti-inflammatory drug for implantable medical devices. **Biomaterials.**,v. 23 p. 1649-1656, 2002.

HOLLINGER, J. O; ULUDAG, H; WINN, S. R. Sustained release emphasizing recombinant human bone morphogenetic protein-2. **Adv. Drug.Deliv.Rev.**,v. 31, p. 303-318, 1998.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH) Harmonised Tripartite Guide line: **Validation of analytical procedures: methodology**. p.1-8, 1996.

JOSÉ, N. M.; PRADO, L. A. S. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. **Quim.Nova.**, v. 28, n. 2, p. 281-288, 2005.

JUDEINSTEIN, P. ; BRIK, M.E. ; BAYLE, J.P. ; COURTINEU, J. ; RAULT, J. Mobility range in hybrid materials. **Mater. Res. Soc. Symp. Proc.**, v. 346, p. 937-942, 1994.

KAN, P; CHEN, Z.B; KUNG, R.Y; LEE, C. J; CHU-I, M.Study on the formulation of O/W emulsion as carriers for lipophilic drugs. **Colloids.Surf., B.**, v. 15, p. 117-125, 1999.

KAPLAN, F. S. OSTEOPOROSIS: Pathology and prevention clinical. *Symposia, Pharmaceutical Division, CIBA GEIGY Corporation Summit, New Jersey*, 39/1, 1987.

KENLEY, R. A; YIM, K; ABRAMS, J; RON, E; TUREK, T; MARDEN, L. J. Hollinger JO Biotechnology and bone graft substitutes. **Pharm. Res.**,v. 10, p. 1393-401, 1993.

KOROLKOVAS, A; BURCKHALTE, J. H. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 684-91, 1982.

KORSMEYER, R. W; GURNY, R; DOELKER, E; BURI, P; PEPPAS, N. A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. **Int. J. Pharm.**,v. **15**, p. 25-35, 1983.

KUMAR, A.; GAURAV; MALIK, A.K.; TEWARYB, D.K.; SINGHA, B.A review on development of solid phase microextraction fibers by sol–gel methods and their applications. **Anal. Chim. Acta.**, v. 610, n. 1, p. 1- 14, 2008.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J. Tecido ósseo. In: Junqueira LC, Carneiro J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2004. p. 111-128.

LANE, J.M.; YASKO, A.W.; TOMIN, E. COLE, B.J.; WALL, S.; BROWNE, M.; TUREK, T.; GROSS, J. Bone marrow and recombinant human bone morphogenetic protein-2 in osseous repair. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, v. 361, p. 216-227, 1999.

LINDHE. J.; KARRING, T.; LANG, N.P. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 2005, 4.Edição, São Paulo, Guanabara Koogan.

LOFTSSON, T.; ÓLAFSSON, J.H. Cyclodextrins: new drug delivery systems in dermatology. **Int. J.Dermatol.**, Philadelphia, v. 37, p. 241-246, 1998

LOPES, C. M; LOBO, J. M. S; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LOPES, L. **Utilização de uma Matriz Híbrida Orgânica na dinâmica de liberação controlada de fármacos**. 2010. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Unesp, Araraquara, 2010.

LUNDGREN, A.K.; SENNERBY, L.; LUNDGREN, D.; TAYLOR, A.;GOTTLOW, J.; NYMAN, S. Bone augmentation a titanium implants using autologous bone grafts and a bioresorbable barrier. An experimental study in the rabbit tibia. **Clin.Oral.Implants.Res.**, v.8, n.2, p.82-89, 1997.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO M. T.; LA ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J.; Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin Am. J. Pharm.**, v.26, p.784-793, 2007.

MELCHER, A. H. Role of the periosteum in repair of wounds of the parietal bone of the rat. **Archs.Oral. Biol.**, v.14, p. 1101-1109, 1969.

MENDES, J. F. **Formadores de filmes híbridos orgânicos inorgânicos do tipo ureasil-poliéter para liberação controlada de fármacos.** 2012. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp, Araraquara, 2012.

MISCH, C.E. Implant dentistry. **Dent Today**. 2002, 21:62.

MOGHADAM, H. G; URIST, M. R; SANDOR, G. K, CLOKIE, C. M. Successful mandibular reconstruction using a BMP bioimplant. **J.Carniofac. Surg.**, v. 12, p. 119-127, 2001;.

MOLINA, C.; DAHMOUCHE, K.; HAMMER, P.; DE ZEA BERMUDEZ, V.; CARLOS, L.A.D.; FERRARI, M.; MONTAGNA, M.; GONÇALVES, R.R.; OLIVEIRA, L.F.C.; EDWARDS, H.G.M.; MESSADDEQ., Y.; RIBEIRO, S.J.L. Structure and Properties of Ti⁴⁺-Ureasil Organic-Inorganic Hybrids. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n. 3, p. 443-452, 2006.

MOLINA, C.; MOREIRA, P.J.; GONÇALVES, R.R.; SÁ FERREIRA, R.A.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S.J.L.; SOPPERA, O.; LEITE, A.P.; MARQUES, P.V. S.; DE ZEA BERMUDEZ, V.; CARLOS, L.A.D. Planar and UV written channel optical waveguides prepared with siloxane–poly(oxyethylene)–zirconia organic–inorganic hybrids. Structure and optical properties. **J. Mater. Chem.**, v. 15, n. 35-36 ,p. 3937-3945, 2005.

MOLINA, E.F.; PULCINELLI, S.H.; SANTILLI, C.V.; BLANCHANDIN, S.; BRIOIS, V. Controlled Cisplatin Delivery from Ureasil-PEO1900 Hybrid Matrix. **J. PhisChem. B.**, v. 114, p. 3461-3466, 2010.

MORTARI, G. R. **Estudo histológico da biocompatibilidade de um polímero híbrido orgânico-inorgânico (polioxietileno e polioxipropileno). Avaliação em subcutâneos de ratos.** 2011. Monografia – Faculdade de Odontologia de Araraquara, 2011.

MOTA, N. L.; CASTRO JÚNIOR, A. F.; CASTRO, B. K.; SILVEIRA NETO, L. L.; AARESTRUP, B. J. V. Embriologia e histofisiologia do tecido ósseo: revisão de literatura e bases histofisiológicas das principais doenças ósseas metabólicas.

Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 27-32, 2008.

NASCIMENTO, A.; LARANJEIRA, M.C.; FAVERE, V.T.; JOSUE, A. Impregnation and release of aspirin from chitosan/poly (acrylic acid) graft copolymer microspheres. **JMicroencapsul.**, v. 3, n. 5, p. 679-684, 2001.

O'NEIL, M.; HECKELMAN, P.; KOCH, C.; ROMAN, K.; KENNY, C. The Merck Index -An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 14th ed. New Jersey: Merck Sharp & Dohme Corp, 2007. 11947 p.

PEREIRA, N. S; SOUZA, L. R. B; SOARES, L. C; SANTOS, I. M. S. P; ARAUJO, K. S. Regeneração óssea guiada utilizando membrana reabsorvível fixada com etilcianocrilato. **Rer.Bras.Odontol.**, v.68, n. 2, p. 233-237, 2012.

PETITTI, M.; VANNI, M.; BARRESI, A. A. Controlled release of drug encapsulated as a solid core: Theoretical model and sensitivity analysis. **Chem. Eng. Res. Des.** v. 86, p. 1294-1300, 2008.

PHILIP, G.; SCHMIDT, H.; New materials for contact lenses prepared from Si- and Ti-alkoxides by the sol-gel process. **J. non-crystsolids**, v.63, p.283-292, 1984.

PIATTELLI, A .; SCARANO, A .; RUSSO, P.; MARATASSO, S. Evaluation of guided bone regeneration in rabbit tibia using bioresorbable and non-resorbable membranes. **Biomaterials**, v.17, n.8, p.791-796, 1996.

QUINONES, C.R. CAFFESSE, RG.Current status of guided periodontal tissue regeneration.**Periodontol.** **2000**, Copenhagen, v. 9, p.55-68, 1995.

REKONDO, A.; FERNANDEZ-BERRIDI, M.; IRUSTA, L. Photooxidation and stabilization of silanised poly (ether-urethane) hybrid systems.**J. Eur. Pol.**, v. 42, n. 9, p. 2069-2080, 2006.

SALTER, R.R.B., **Distúrbios e lesões do sistema músculo esquelético**, 2. ed.Rio de Janeiro: Ed. Médica e Científica, 1985.

SANDBERG, E.; DAHLIN, C.; LINDE, A. Bone regeneration by the osteopromotion technique using bioabsorbable membranes: an experimental study in rats. **J. Oral.Maxillo.Fac. Surg.**, v.51, p.1106-114, 1993.

SANTILLI, C. V.; CHIAVACCI, L. A.; LOPES, L.; PULCINELLI, S. H.; OLIVEIRA, A. G. Controlled drug release from ureasil-polyether hybrid materials. **Chem. Mater.**, v. 21, p. 463-467, 2009.

SCHIMMER, B. P; PARKER, K. L. Adrenocorticotropic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In:Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editores. Goodman & Gilman's –The Pharmacological basis of therapeutics 11th ed. New York: McGraw-Hill; 2007. p. 1587-612.

SCHUBERT, U.; HUSING, N.; LORENZ, A. Hybrid inorganic-organic materials by sol-gel processing of organofunctional metal alkoxides. **Chem. Mater.**, v. 7, p. 2010-2027, 1995.

SERRA SILVA, F. M; GERMANO, A. D; MOREIRA, R. W. F; MORAIS, M. Membranas absorvíveis x não absorvíveis na implantodontia. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxi-Fac.**, v. 5, p. 19-24, 2005.

SERVICE, R. F. Tissue engineers build new bone. **Science**.,v. 289, p. 1498-500, 2000.

SODEK, J; MCKEE, M. E. Molecular and cellular biology of alveolar bone.**Periodontology**.,v. 24, p. 99-126, 2000.

SUJJA-AREEVATH, J.; MUNDAY, D. L.; COX, P. J.; KHAN, K. A. Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations. **Eur. J. PHarm. Sci.**, v. 6, p. 207-217, 1998.

SUMMERS, B. N.; EISENSTEIN, S. M. Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion.**J. Bone.Joint.surg.**, v. 71, p. 677-680, 1989.

SUN, Y; LIU, W. Preparation and properties of an organic-inorganic hybrid materials based on fluorinated block copolymer.**J. Mater. Sci.**, v.47, n. 4, p. 1803-1810, 2011.

SUVOROVA, A.I; TYUKOVA, I. S; SUVOROV, A. L. Polymer-organic-inorganic materials for membrane technology their characteristics and properties.**Glass Phys. Chem.**,v. 37, p. 629-639, 2011.

SUZANA, A. F; CARVALHO, H. W. P; PULCINELLI, S. H; SANTILLI, C. V. Híbrido nanocompósito PMMA-PMPTS/MMT: aumento na estabilidade térmica. **XV Internacional Sol-Gel conference**, 2009, p. 281-281.

TAKAYANAGI, H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. **J. Periodontal.Res.**,v. 40, p. 287-293, 2005.

TAKEDA, S; KARSENTY, G. Central control of bone formation. **J. Bone.Miner.Metab.**v.19, p. 195-198, 2001.

TANAKA, N.; IMAI, K.; OKIMOTO, K.; UEDA, S.; TOKUNAGA, Y.; IBUKI, R.; HIGAKI, K.; KIMURA, T. Development of novel sustained-release system, disintegration-controlled matrix tablet (DCMT) with solid dispersion granules of nilvadipine. **J. Control.Release.**, v. 108, p. 386-395, 2005.

TONGWEN, X.; BINGLIN, H. A mechanism on the drug release into a perfect sink from a coated planar matrix with a super-saturation loading in the core., **Int. J. Pharm.**, v.197, p. 23-24, 2000.

TRIPPLET, R.G.; SCHOW, S.R. Autologous bone grafts and endosseous implants: complementary techniques. **J. Oral.Maxillofac.Surg.**, v. 54, n. 4, p. 486-494, 1996.

UNITED STATES PHARMACOPEA, 25th ed. Rockville: **United State Pharmacopeial Convention**, 2002.

URBAN, M. C. C.; MAINARDES, R. M.; GREMIÃO, M. P. D. Development and validation of HPLC method for analysis of dexamethasone acetate in microemulsions. **Braz. J. PHarm.Sci.**, v. 45, n. 1, p. 87-92, 2009.

WANG, L. S; HONG, R. Y. Synthesis, characterization and industrial applications.**Adv. Nanocom.**, v.13 p. 289-322, 2011.

WECHSLER, S; FEHR, D; MOLENBERG, A; RAEBER, G; SCHENSE, J. C; WEBER, F. E. A novel tissue occlusive poly(ethylene glycol) hydrogel material. **J. biomed.mater. res.**.. p. 286-292, 2007.

WHITE, J.R.; TURNBULL, A. Review-weathering of polymers: mechanisms of degradation and stabilization, testing strategies and modeling. **J. Mater. Sci.**, v.29, p.584-613, 1994.

WILLIAMS, K. R; BLAYNEY, A. W. Tissue response of several polymeric materials implanted in the rat middle ear. **Biomaterials.**,v. 8, p. 254-258, 1987.

ZOPPI, R.A.; NUNES, S.P. Uso do Processo Sol-Gel na Obtenção de Materiais Híbridos Organo-Inorgânicos: Preparação, Caracterização e Aplicação em Eletrólitos de Estado Sólido. **Polímeros: Cienc. Tecnol.**, p. 27-36. Out/Dez – 1997.

10. ANEXO 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Araraquara



FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Proc. CEUA nº 17/2012

Araraquara, 14 de Setembro de 2012

Senhores Pesquisadores:

A Comissão de Ética no Uso de Animal - CEUA desta Faculdade reunida em 14/09/2012, após a avaliação do projeto de sua responsabilidade intitulado "Estudo histológico do comportamento biológico de um polímero híbrido orgânico-inorgânico (polioxietileno e polioxipropileno) em diferentes proporções" (Proc. CEUA nº 17/2012) AUTORIZA a realização da pesquisa, ficando a apresentação do RELATÓRIO FINAL para DEZEMBRO/2014.

Atenciosamente,


Prof. Dr. PAULO SÉRGIO CERRI
Coordenador da CEUA

À

Profª. Drª. ROSEMARY ADRIANA CHIÉRICI MARCANTONIO
DD. Pesquisadora Responsável
a/c João Augusto O. Junior e Luiz Guilherme F. de Paula
Departamento de Diagnóstico e Cirurgia

Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA
Rua Homênia nº 1.680 - Centro - CEP 14891-903 - Caixa Postal nº 331 - ARARAQUARA - SP
S. andar - fone (16) 3301-6431/6432 / fax (16) 3301-6433 / e-mail: director@foc.unesp.br - home page: <http://www.foc.unesp.br>

João Augusto Oshiro Junior