

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Câmpus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

**Membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter
contendo glicose para futura aplicação em
regeneração óssea**

Camila Garcia da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Leila Ap. Chiavacci Favorin.

Coorientador: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Jr.

Araraquara - SP

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Câmpus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

**Membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter
contendo glicose para futura aplicação em
regeneração óssea**

Camila Garcia da Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Leila Ap. Chiavacci Favorin.

Coorientador: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Jr.

Araraquara - SP

2022

S586m Silva, Camila Garcia da.
Membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter contendo glicose para futura aplicação em regeneração óssea / Camila Garcia da Silva. – Araraquara: [S.n.], 2022.
106 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

Orientadora: Leila Aparecida Chiavacci Favorin.
Coorientador: João Augusto Oshiro Jr.

1. Híbridos orgânico-inorgânicos. 2. Processo sol-gel. 3. Liberação de glicose. 4. Regeneração óssea. I. Favorin, Leila Aparecida Chiavacci, orient. II. Oshiro Jr., João Augusto, coorient. III. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6
Esta ficha não pode ser modificada



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter contendo glicose para futura aplicação em regeneração óssea

AUTORA: CAMILA GARCIA DA SILVA

ORIENTADORA: LEILA APARECIDA CHIAVACCI FAVORIN

COORIENTADOR: JOÃO AUGUSTO OSHIRO JUNIOR

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LEILA APARECIDA CHIAVACCI FAVORIN (Participação Virtual)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Araraquara

Prof. Dr. EDUARDO FERREIRA MOLINA (Participação Virtual)
Labquim-Laboratório de Pesquisa em Química / Universidade de Franca - UNIFRAN - Franca

Profa.Dra. SANDRA HELENA PULCINELLI (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica FísicoQuímica e Inorgânica / Instituto de Química UNESP Araraquara

Araraquara, 18 de janeiro de 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser meu porto seguro, sempre me guiar e estar presente nos momentos de dificuldades e felicidades.

A minha família e amigos, meus pais, Fabiana e Paulo, meu marido Fernando, minha irmã Tamiris e meu cunhado Denis, pelo incentivo, paciência, apoio, amor e força de todos os dias.

A minha orientadora Prof. Dra. Leila Aparecida Chiavacci Favorin pelo conhecimento compartilhado, paciência, amizade e confiança durante o período desse trabalho.

Ao meu coorientador Prof. Dr. João Augusto Oshiro Jr., pelo apoio desde o início, em todos os momentos de dúvidas e inseguranças, pela amizade, paciência, dedicação, e por todo conhecimento transmitido.

Aos amigos do laboratório Ciências dos Materiais Aplicados a Farmácia (CMAF), por toda força, companheirismo e incentivo dentro e fora do laboratório, Marina Abuçafy, Bruna Lallo, Valesca Pizone, Mariana Marin, Thulio Lemos, e todos os alunos de Iniciação Científica.

Ao Instituto de Química da UNESP/Araraquara, em especial aos Professores Dr. Celso V. Santilli e Dra. Sandra Helena Pulcinelli, pelo espaço cedido no laboratório para a realização deste trabalho e permissão da utilização de equipamentos para caracterização dos materiais. E também ao LMA-IQ pelas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti do Departamento de Análises Clínicas FCFAR/UNESP, pelo espaço cedido no laboratório para a realização do experimento de quantificação da glicose liberada e permissão da utilização de equipamentos para este fim.

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP) e a Seção de Pós-graduação.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste mestrado, meus sinceros agradecimentos.

“Há duas formas para viver sua vida: uma é acreditar que não existem milagres, e a outra é acreditar que todas as coisas são milagres”.

Albert Einstein

RESUMO

Células-tronco mesenquimais (MSC - Mesenchymal stem cell) apresentam capacidade de diferenciar-se em diversas linhagens celulares, e desta maneira auxiliam no processo de regeneração de tecidos, incluindo o tecido ósseo. Porém, a aplicação das MSC apresenta resultados imprevisíveis devido à baixa sobrevivência das células frente ao processo de isquemia, uma vez que a escassez de oxigênio e nutrientes promove estresse metabólico, diminuindo a sobrevivência destas células. Sendo assim, neste trabalho foram desenvolvidas membranas poliméricas formadas por materiais híbridos orgânico-inorgânicos chamados ureasil-poliéter para liberação controlada de glicose com o objetivo do futuro uso em processos de regeneração óssea que necessitem da presença deste nutriente. Desta forma, a partir do método sol-gel, foram desenvolvidas membranas formadas pela mistura de polímeros, óxido de polipropileno (PPO4000) e óxido de polietileno (PEO500) com incorporação de 6% de glicose. Técnicas de caracterização físico-química foram realizadas, assim como a avaliação das propriedades térmicas, bioatividade, ensaio de intumescimento e de liberação do ativo em solução SBF, além da cinética de liberação a partir do modelo Korsmeyer-Peppas. Os resultados do teste de intumescimento mostraram que o aumento de massa das membranas ocorre com o acréscimo da concentração de ureasil-PEO500 na mistura. A análise mecânica dinâmica (DMA) mostrou que as membranas não sofreram ruptura, quando submetida à aplicação de uma elevada força de compressão (15 N). Os difratogramas de raios X (DRX) apresentaram picos alargados característicos das regiões amorfas do material híbrido e a ausência de picos de difração relacionados à glicose. As curvas de DSC também não apresentaram picos característicos da glicose, e a ausência de pico de fusão em todas as amostras corrobora com a característica amorfa do material, além de evidenciar a alta estabilidade térmica. O ângulo de contato menor para a membrana ureasil-PEO500 revelou o caráter mais hidrofílico do material em relação às outras membranas, atribuído ao caráter hidrofílico do precursor PEO500. As membranas apresentaram bioatividade *in vitro* e os resultados de pH da solução permaneceram dentro da faixa adequada para que não cause danos às células. O teste de liberação *in vitro* revelou que é possível modular o perfil e controlar a velocidade de liberação do ativo nas membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000. A análise cinética revelou mecanismo de liberação característico de cinética de transporte anômalo. Dessa forma, podemos concluir que as membranas ureasil-poliéter apresentam grande potencial para serem utilizadas como sistema de liberação de glicose, e futura aplicação no auxílio de regeneração óssea.

Palavras-chave: Híbridos orgânico-inorgânicos; Processo sol-gel; Liberação de glicose; Regeneração óssea.

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (MSC) have the ability to differentiate into different cell lines, and in this way to assist in tissue regeneration process, including the bone tissue. However, the application of MSC has unpredictable results due to the low survival of cells against the ischemic process, since the lack of oxygen and nutrients promotes metabolic stress, decreasing the survival of these cells. Therefore, in this work polymeric membranes formed by organic-inorganic hybrid materials called ureasil-polyether for controlled release of glucose with the aim of future use in bone regeneration processes that need the presence of this nutrient were developed. From the sol-gel method, membranes formed by mixing polymers, polypropylene oxide (PPO4000) and polyethylene oxide (PEO500) with incorporation of 6% of glucose were developed. Physical-chemical characterization techniques were performed, as well as the evaluation of thermal properties, bioactivity, swelling and active release test in SBF solution, in addition to the release kinetics from the Korsmeyer-Peppas model. The results of the swelling test showed that the increase in membrane mass occurs with the increase in the concentration of ureasil-PEO500 in the mixture. Dynamic mechanical analysis (DMA) showed that the membranes did not rupture when subjected to the application of a high compression force (15 N). X-ray diffractograms (XRD) showed broad peaks characteristics of the amorphous regions of the hybrid material and the absence of glucose-related diffraction peaks. The DSC curves did not show glucose peaks and the absence of melting peaks in all samples, also revealed the amorphous characteristic of the material, in addition to evidencing its high thermal stability. The smaller contact angle for the ureasil-PEO500 membrane revealed the more hydrophilic character of the material in relation to the other membranes, attributed to the hydrophilic character of the PEO500 precursor. The membranes showed *in vitro* bioactivity and the solution pH results remained within the proper range so that it does not cause damage to the cells. The *in vitro* release test revealed that it is possible to modulate the profile and control the release rate of the active in membranes prepared from the mixture of precursor's ureasil-PEO500/PPO4000. Kinetic analysis revealed a release mechanism characteristic of anomalous transport kinetics. Thus, we can conclude that ureasil-polyether membranes have great useful potential as a glucose release system, and future application to aid bone regeneration.

Keywords: Organic-inorganic hybrids; Sol-gel process; Glucose release; Bone regeneration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação ilustrativa da variação de concentração plasmática do fármaco administrado por sistema tradicional com múltiplas administrações (a) e administrado por sistema de liberação controlada (b).....	28
Figura 2. Esquema estrutural de um material híbrido.....	30
Figura 3. Representação das classes dos materiais híbridos.....	31
Figura 4. Estruturas dos precursores híbridos de ureasil (a) PEO e (b) PPO, respectivamente.	32
Figura 5. Estrutura da molécula de glicose.....	34
Figura 6. Condensador de Refluxo (a); Rotaevaporador IKA RV 10 digital (b).	39
Figura 7. Preparação das membranas híbridas ureasil-poliéter.	39
Figura 8. DMA 2980 da TA-Instruments (a); Corpo de prova no formato cilíndrico (b).....	43
Figura 9. Avaliação da bioatividade <i>in vitro</i> das membranas híbridas ureasil-poliéter.	44
Figura 10. Fotografias do aspecto visual das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores híbridos ureasil-PEO500/PPO4000: 10/90; 50/50; 90/10 sem glicose e contendo 1%; 3%; 6%; 10%; 15% ou 30% de massa de glicose, respectivamente.	47
Figura 11. Estruturas das moléculas dos materiais híbridos ureasil-PEO e ureasil-PPO e os possíveis locais de interação (destacado nos círculos azuis), silanol, átomos de oxigênio do tipo éter e uréia.	49
Figura 12. Fotografias do aspecto visual das membranas preparadas a partir dos precursores puros ureasil-PEO500 e ureasil-PPO4000 não contendo glicose e contendo 6% de glicose.	50
Figura 13. Fotografias do aspecto visual das membranas preparadas a partir da mistura com diferentes proporções dos precursores híbridos ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose.	51
Figura 14. Comparação do aumento de massa (%) entre membranas preparadas a partir dos precursores puros e a partir da mistura em diferentes	

proporções dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose durante o teste de intumescimento das membranas imersas em SBF.	52
Figura 15. Curvas de deformação em razão da força aplicada para membrana ureasil-PPO4000 sem glicose; membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose; membrana ureasil-PEO500 sem glicose; membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose.	54
Figura 16. Curvas de deformação em razão da pressão para membrana ureasil-PPO4000 e membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose; e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 60/40; 50/50; 40/60; 30/70 e 20/80, respectivamente, contendo 6% de glicose.	56
Figura 17. Comparação dos difratogramas de raios X obtidos da glicose experimental incorporada nas membranas e o encontrado na literatura (CIF 1518432).	59
Figura 18. Difratogramas de raios X da membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (a); membrana ureasil-PEO500 sem glicose (b); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (c); e membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (d).	60
Figura 19. Difratogramas de raios X da membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (a); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (b); e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000: 20/80 (c); 30/70 (d); 40/60 (e); 50/50 (f); 60/40 (g), respectivamente, contendo 6% de glicose.	61
Figura 20. Curvas de DSC da membrana ureasil-PEO500 sem glicose (a); membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (b); membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (c); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (d); membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000: 20/80 sem glicose (e); 20/80 contendo 6% de glicose (f); 40/60 sem glicose (g); 40/60 contendo 6% de glicose (h); glicose experimental (i).	63
Figura 21. Ampliação das curvas de DSC da região da temperatura de transição vítrea (T _g) da membrana ureasil-PEO500 sem glicose (a); membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (b); membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (c); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (d); membranas	

preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000: 20/80 sem glicose (e); 20/80 contendo 6% de glicose (f); 40/60 sem glicose (g); 40/60 contendo 6% de glicose (h). 64

Figura 22. Imagens e valores do ângulo de contato ($^{\circ}$) da membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (a) e contendo 6% de glicose (b); membrana ureasil-PEO500 sem glicose (c) e contendo 6% de glicose (d); e membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 na proporção 50/50 sem glicose (e) e contendo 6% de glicose (f). Os resultados estão expressos com a média $\pm$ EP da triplicata ($n = 3$). 68

Figura 23. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e Espectros de EDS da superfície da membrana ureasil-PEO500 sem glicose (a) e (c), e com glicose (b) e (d), sem imersão em solução SBF. 71

Figura 24. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e Espectros de EDS da superfície da membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (a) e (c), e com glicose (b) e (d), sem imersão em solução SBF. 72

Figura 25. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (a) e Espectro de EDS (b) da superfície da membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 sem glicose, sem imersão em solução SBF. 73

Figura 26. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e Espectros de EDS das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 (a) e (c); 40/60 (b) e (d), contendo 6% de glicose, antes da imersão em solução SBF. 74

Figura 27. Imagens de microscopia eletrônica de varredura das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e). 75

Figura 28. Espectros de EDS das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e). 76

Figura 29. Imagens de microscopia eletrônica de varredura das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-

PEO500/PPO4000 - 40/60 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e). 77

Figura 30. Espectros de EDS das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 40/60 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e). 78

Figura 31. Medidas de pH da solução SBF em função do tempo de imersão das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose por 12 horas, 24 horas, 72 horas (3 dias), 168 horas (7 dias) e 336 horas (14 dias). 80

Figura 32. Liberação da glicose (%) a partir das membranas preparadas com a mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose em função do tempo de imersão em SBF, por 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas (1 dia), 48 horas (2 dias), 72 horas (3 dias), 96 horas (4 dias), 168 horas (7 dias), 264 horas (11 dias) e 336 horas (14 dias) (a); Ampliação da escala dos resultados em até 24 horas de liberação da glicose (b). 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidades de reagentes utilizados na síntese dos precursores. ...	38
Tabela 2. Ordem, reagentes e quantidades para a preparação de 1 L de SBF.	41
Tabela 3. Valores de deformação (%) e pressão (MPa) em resposta a força de compressão aplicada (15 N) para membrana ureasil-PPO4000 e membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose; e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 60/40; 50/50; 40/60; 30/70 e 20/80, respectivamente, contendo 6% de glicose.	56
Tabela 4. Valores de Tg (°C) obtidos a partir das curvas de DSC para membrana ureasil-PEO500 e membrana ureasil-PPO4000 não contendo e contendo 6% de glicose; e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60 não contendo e contendo 6% de glicose, respectivamente.	65
Tabela 5. Porcentagem de glicose liberada a partir das membranas preparadas com a mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose, em função do tempo (h). Os resultados estão expressos com a média $\pm$ EP da triplicata (n = 3).	83
Tabela 6. Valores do expoente "n", geometria do material e mecanismo de liberação definidos através da equação de Korsmeyer-Peppas.....	86
Tabela 7. Valores do coeficiente de determinação (r^2), valores do expoente "n" e mecanismo de liberação através da equação de Korsmeyer-Peppas para as curvas de liberação da glicose das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60. ...	86

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP - Adenosina trifosfato

BMP - Proteínas morfogenéticas ósseas

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DMA - Análise mecânico dinâmica

DRX - Difração de raios X

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

EDS - Espectroscopia de raios X por dispersão de energia

HA – Hidroxiapatita

HIF-1 α - Fator 1-alfa induzível por hipóxia

IsoTrEOS - 3-isocianatopropiltrietoxisilano

IFA – Insumo Farmacêutico Ativo

MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura

MSC – Células-tronco mesenquimais (Mesenchymal stem cell)

PU – Poliuretano

PEG - Poli (etilenoglicol)

PPO – Poli (óxido de polipropileno)

PEO - Poli (óxido de polietileno)

SBF - Fluido corporal simulado

TRIS - Tris-hidroximetilaminometano

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Tecido Ósseo	21
2.2 Reparação Óssea.....	22
2.3 Biomateriais e Engenharia de Tecidos	23
2.3.1 Enxerto Ósseo	24
2.3.2 Células-tronco Mesenquimais (MSC).....	25
2.4 Sistemas de Liberação de Ativos	27
2.5 Materiais Híbridos Orgânico-Inorgânicos	29
2.5.1 Materiais Híbridos Ureasil-poliéter	31
2.6 Glicose	33
3. OBJETIVO.....	35
3.1 Objetivo Geral.....	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 Materiais.....	36
4.1.1 Matérias-primas	36
4.1.2 Equipamentos e Vidrarias	36
4.2 Métodos.....	37
4.2.1 Preparação das Membranas Híbridas do Tipo Ureasil-poliéter e Incorporação da Glicose	37
4.2.2 Avaliação do Intumescimento das Membranas Ureasil-poliéter	40
4.2.3 Análise Mecânico Dinâmica (DMA).....	42
4.2.4 Difração de raios X (DRX).....	43
4.2.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	43
4.2.6 Avaliação do Ângulo de Contato (Molhabilidade) das Membranas Ureasil-poliéter	44

4.2.7	Bioatividade <i>in vitro</i> das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF	44
4.2.8	Liberação da Glicose <i>in vitro</i> a Partir das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF	45
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
5.1	Preparação das Membranas Híbridas do Tipo Ureasil-poliéter e Incorporação da Glicose	47
5.2	Avaliação do Intumescimento das Membranas Ureasil-poliéter	52
5.3	Análise Mecânico Dinâmica (DMA)	54
5.4	Difração de raios X (DRX)	58
5.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	62
5.6	Avaliação do Ângulo de Contato (Molhabilidade) das Membranas Ureasil-poliéter	67
5.7	Bioatividade <i>in vitro</i> das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF .	70
5.8	Liberação da Glicose <i>in vitro</i> a Partir das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF	81
6.	CONCLUSÕES	88
7.	PERSPECTIVAS	90
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

1. INTRODUÇÃO

No mundo cerca de 2,2 milhões de enxertos ósseos são realizados anualmente, relatado como o segundo tecido mais transplantado (CHUNG et al., 2018). Em consequência do envelhecimento da população esse número tende a aumentar (GÓMEZ-BARRENA et al., 2015), presume-se que a população mundial com 65 anos ou mais chegue à cerca de 22% do total em 2050 (COLÓN et al., 2018), dessa forma, estima-se que a projeção de fraturas por fragilidade óssea seja de aproximadamente 4,5 milhões em 2050 (TRAFTON, 2018).

O quadro de fratura óssea é agravado quando o processo fisiológico de regeneração óssea se depara com defeitos ósseos críticos, pois as células encontram obstáculos na migração devido à dificuldade de restabelecimento das redes de vascularização lesionadas (OSHIRO et al., 2017; PETITE et al., 2000). Defeito ósseo de tamanho crítico pode ser considerado como um defeito que não cicatriza espontaneamente mesmo que ocorra intervenção cirúrgica. Entretanto, na literatura não existe um consenso claro em relação a uma definição padrão para esse tipo de defeito (SCHEMITSCH, 2017).

As técnicas tradicionais de enxertia óssea apresentam limitações e desvantagens associadas a possível transmissão de doenças ou infecções, rejeição imunológica pelo hospedeiro receptor, disponibilidade limitada, dois campos cirúrgicos (receptor e doador), morbidade do sítio doador, dor, hemorragia, perda de função, entre outros (CASAGRANDE et al., 2018; GARCÍA-GARETA; COATHUP; BLUNN, 2015; GÓMEZ-BARRENA et al., 2019; KAWECKI et al., 2018; MANASSERO et al., 2013; ORYAN et al., 2018). Deste modo, pesquisas foram desenvolvidas como alternativas para auxiliar na restauração do tecido ósseo (ANITUA et al., 2013; BLACK et al., 2015).

Uma dessas alternativas é o uso de proteínas morfogenéticas ósseas (BMP) como fatores de crescimento que apresentam diversas funções no desenvolvimento humano, principalmente musculoesquelético. Há evidências de que entre essas proteínas, o tipo BMP-2 atua na regeneração óssea, com função de recrutar e induzir a diferenciação de células-tronco mesenquimais (MSC - Mesenchymal stem cell) em células osteogênicas (DUMIC-CULE et al., 2018;

HALLORAN; DURBANO; NOHE, 2020; PEARSON et al., 2019; SHEIKH et al., 2015). Contudo, essa resposta osteogênica depende de alguns fatores como dose, preparação, material de transporte e modo de administração dessas proteínas (KANJILAL; COTTRELL, 2019).

Células-tronco mesenquimais (MSC) apresentam a capacidade de diferenciar-se em diversas linhagens celulares, desta maneira, também integram-se como alternativa na regeneração de tecidos, incluindo o tecido ósseo (GARCÍA-GARETA; COATHUP; BLUNN, 2015). Podem ser implantadas no local lesionado isoladamente, ou associadas a materiais bioativos (GÓMEZ-BARRENA et al., 2015). Porém, a utilização de MSC apresenta resultados imprevisíveis (KAWECKI et al., 2018; PEREIRA et al., 2012), pois a baixa sobrevida das células (10 a 20%) nos primeiros dias pode impedir que o método seja eficiente (LOGEART-AVRAMOGLOU et al., 2005; POTIER et al., 2007).

Diversos trabalhos na literatura científica mostram que a isquemia é a principal razão da inviabilidade de MSC. A isquemia acontece pela escassez de oxigênio e nutrientes, como a glicose, promovendo estresse metabólico que impossibilita a resposta biológica eficiente (BECQUART et al., 2012; DESCHEPPER et al., 2011; MOYA et al., 2017, 2018; POTIER et al., 2007). DESCHEPPER et al., 2011, 2013 e MOYA et al., 2018 evidenciaram que a glicose exógena atua na melhora da sobrevida e funcionalidade de MSC implantadas em defeitos ósseos, quando análises foram realizadas em ambientes com hipóxia (1% O₂). Portanto, a falta de glicose é o principal fator causador da morte celular, quando comparada a baixa disponibilidade de oxigênio.

A partir dessa compreensão, é de extrema importância o desenvolvimento de novos materiais visando o fornecimento controlado de glicose exógena, possibilitando a melhora na viabilidade das células em reconstruções ósseas (MOYA et al., 2018).

Neste contexto, membranas formadas por materiais poliméricos híbridos orgânico-inorgânico nanoestruturados chamados ureasil-poliéter são estudadas por apresentarem características como biocompatibilidade, alta flexibilidade, resistência térmica e mecânica, capacidade de controle de liberação de diversas

substâncias, sendo boas candidatas para atuar como sistema de liberação controlada de fármacos e outras substâncias biologicamente ativas (MOLINA et al., 2014a; OSHIRO et al., 2017; TRUFFAULT et al., 2015; ZALDIVAR et al., 2017). São formadas pela combinação de polímeros óxido de polipropileno (PPO) que apresentam caráter hidrofóbico e/ou óxido de polietileno (PEO), hidrofílico (DAHMOUCHE et al., 1999; JUDEINSTEIN; SANCHEZ, 1996).

Estudos anteriores revelaram a capacidade das membranas ureasil-poliéter em controlar a liberação de anti-inflamatórios como diclofenaco sódico e dexametasona, e antitumoral como a cisplatina (MOLINA et al., 2010; OSHIRO et al., 2017; SANTILLI et al., 2009). Sendo assim, nosso grupo de pesquisa realizou testes preliminares que indicaram a possibilidade de incorporar e liberar glicose nas membranas híbridas e que essas membranas podem atuar na liberação controlada da glicose, com objetivo futuro de melhorar a sobrevida das MSC e aumentar a quantidade e qualidade do tecido ósseo formado em regenerações ósseas.

Na literatura foi encontrada apenas uma evidência de sistema com capacidade de liberação controlada de glicose em reconstrução óssea com o uso de MSC incorporadas ao mesmo. Trata-se de um hidrogel misto de fibrina e amido, contendo nanopartículas que encapsulam uma enzima capaz de hidrolisar o amido em glicose, apresentando difusão da glicose por pelo menos duas semanas, e assim contribuindo com a melhora na sobrevida das células (DESCHEPPER et al., 2018).

Contudo, o tempo de tratamento do tecido ósseo é elevado, podendo ocorrer em meses (RETZEPI; DONOS, 2010), desta forma, nosso intuito é desenvolver um material capaz de controlar a liberação de glicose por semanas.

Portanto, baseado em estudos preliminares realizados em nosso grupo de pesquisa com diversos fármacos e com a glicose, este trabalho desenvolveu membranas híbridas ureasil-poliéter contendo mistura de polímeros de diferentes massas moleculares e naturezas químicas, para produzir um material com características adequadas para promover a liberação controlada da glicose. Sendo assim, foi realizada a caracterização físico-química das membranas, visando analisar as propriedades do material, como grau de intumescimento,

resistência mecânica, ângulo de contato, análise térmica, bioatividade e a liberação da glicose.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tecido Ósseo

O corpo humano é constituído por um grupo esquelético que apresenta função biomecânica e metabólica, no qual o osso é o integrante principal (COWIN, 2001). Formado por aproximadamente 206 ossos, o esqueleto humano exerce o principal papel de suporte estrutural, assim como proteção de órgãos internos, armazenamento de sais minerais, e hematopoiese (formação das células do sangue) (KARPIŃSKI; JAWORSKI; CZUBACKA, 2017; TETI, 2011).

O osso é um tecido mineralizado recoberto pela membrana de tecido conjuntivo (periósteo), com ampla vascularização, suprindo sangue e nutrientes (FLORENCIO-SILVA et al., 2015; KARPIŃSKI; JAWORSKI; CZUBACKA, 2017). A formação da estrutura óssea é caracterizada por níveis, como: nanoescala, microescala e mesoescala (CURREY, 2012), onde os componentes básicos existentes são fibrilas de colágeno tipo I, proteínas não-colagenosas (ex: osteocalcina, osteonectina, osteopontina e sialoproteína óssea), minerais e água, portanto, equivale a aproximadamente 65% de minerais, 35% de matriz orgânica, células e água (COWIN, 2001; WEINER; WAGNER, 1998). O mineral ósseo confere dureza mecânica e estrutural, e a matriz orgânica proporciona elasticidade e flexibilidade (CLARKE, 2008).

O mineral ósseo hidroxiapatita encontrado como pequenos cristais de aproximadamente 200 Å, em forma de agulha, estão localizados entre as fibras de colágeno, e contém carbonato, citrato, magnésio, flúor e estrôncio na rede cristalina ou na superfície do cristal (CLARKE, 2008; COWIN, 2001), e constitui o elemento principal da fase mineral óssea (BOSKEY, 2013; CLARKE, 2008).

As células do osso abrangem os osteoclastos, osteoblastos e osteócitos. Sendo os osteoclastos células de reabsorção óssea, os osteoblastos células formadoras de osso, que são procedentes de precursores oriundos da medula óssea. Os osteócitos são células resultantes de osteoblastos maduros, e são numerosos no osso maduro, encarregadas pela reconstrução óssea (COWIN, 2001; KARPIŃSKI; JAWORSKI; CZUBACKA, 2017).

Dois tipos de ossos são identificados no corpo humano, o osso cortical (80%) e o osso trabecular (20%); no qual o primeiro está localizado no córtex dos ossos longos e apresenta porosidade de 5% a 10%, e o segundo encontrado nas extremidades dos ossos longos com 50% a 90% de porosidade (CLARKE, 2008; YAVROPOULOU; YOVOS, 2016).

De acordo com a idade, nutrição, saúde e tratamentos medicamentosos podem ocorrer variações nas concentrações de proteínas da matriz óssea, e consequentemente favorecer a ocorrência de deformações e fraturas ósseas (FLORENCIO-SILVA et al., 2015). Por exemplo, a não utilização mecânica óssea pode originar osteoporose, e em contrapartida, a atividade física pode aumentar a massa e densidade óssea, e resultar em um processo ativo que se molda de acordo com a necessidade física externa (YAVROPOULOU; YOVOS, 2016). A remodelação óssea é conduzida para áreas que demandam reparo, e processa-se a remoção de ossos antigos e substituição por matriz proteica recém-formada e consequentemente, a mineralização dessa matriz para a formação do osso novo, deste modo preserva a força óssea e a homeostase mineral (CLARKE, 2008).

2.2 Reparação Óssea

A reparação óssea é considerada um processo regenerativo (MAJIDINIA; SADEGHPOUR; YOUSEFI, 2018). Trata-se de um processo complexo e diretamente controlado por fatores fisiológicos e genéticos. Em nível celular ocorre o recrutamento de células inflamatórias, vasculares e progenitoras, enquanto no nível molecular o reparo é promovido por classes de fatores, tais como: citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento, fatores pró-osteogênicos e fatores angiogênicos (SCHINDELER et al., 2008).

As etapas da reparação óssea compreendem: inflamação, formação de calo mole (fibrocartilagem), formação de calo duro (formação óssea primária) e adequação do osso à tensão mecânica, e finalmente a remodelação óssea (formação óssea secundária) (SCHINDELER et al., 2008; SCHMIDT-BLEEK et al., 2015).

Instantaneamente após um trauma, onde o endotélio vascular é danificado, ocorre o bloqueio do fornecimento do suprimento sanguíneo ao local, em consequência ocorre a formação de um hematoma e o local da fratura apresenta-se isquêmico (LOI et al., 2016; SALINAS; ESBRIT; VALLET-REGÍ, 2013). Detalhadamente, após a ruptura dos vasos sanguíneos há a atuação de macrófagos e neutrófilos, assim resultam em uma cascata de quimiocinas como interleucina 6 (IL-6) e ligante 2 de quimiocina (CCL2), que junto liberam proteína morfogenética óssea (BMP) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), favorecendo a diferenciação osteogênica de células osteoprogenitoras na direção do reparo ósseo (SALHOTRA et al., 2020).

Os processos de inflamação aguda e o sistema imunológico inato são diretamente relacionados com a cura óssea, visto que são processos estimulados para retomar a homeostasia do corpo. Caso esse evento não ocorra por algum motivo, pode-se ocasionar alterações perduráveis, tais como fibrose ou inflamação crônica, em razão da inflamação ativa e a busca do reparo contínuo (GOODMAN et al., 2019; LOI et al., 2016).

Problemas que comprometem a funcionalidade musculoesquelética do corpo, como traumas, deformidades ou doenças degenerativas ósseas, podem gerar muitos problemas, principalmente quando ocorre falha no reparo ósseo fisiológico (ANITUA et al., 2013). As principais causas de defeitos na cicatrização óssea são doenças pré-existentes como a osteoporose, malformação congênita, diabetes mellitus, neoplasias, e também tratamento medicamentoso com glicocorticoides (KASHTÉ; JAISWAL; KADAM, 2017; SALINAS; ESBRIT; VALLET-REGÍ, 2013). Foi relatado que até 10% dos pacientes enfrentam problemas no processo de cicatrização óssea que estão relacionados ao atraso ou a cicatrização deficiente (SCHMIDT-BLEEK et al., 2015).

2.3 Biomateriais e Engenharia de Tecidos

A engenharia de tecidos ósseos refere-se a técnicas para tratamento do tecido esquelético, que visa atuar no reparo ósseo. Buscam formação óssea

vigorosa e estratégias para melhorar a qualidade de vida da população que por algum motivo necessite de reparo ósseo (BLACK et al., 2015).

Biomateriais podem ser definidos como qualquer material utilizado para construir ferramentas para substituir total ou parcialmente uma função biológica, de forma segura e fisiologicamente satisfatória. Além do uso de biomateriais na regeneração óssea, são utilizados também como *stent* cardiovascular, *stent* ureteral, entre outros (RAMESH; MORATTI; DIAS, 2018).

Materiais direcionados para regeneração tecidual devem apresentar diversos requisitos, dentre eles, serem biocompatíveis e resistentes (GAUER et al., 2015). Além disso, devem favorecer a adesão e migração de células, propiciar a incorporação de moléculas bioativas e/ou nutrientes, assim como controlar sua liberação (BLACK et al., 2015). Para ser considerado um material para o uso em reconstrução óssea, busca-se ainda a habilidade de desenvolver características de osteogênese, osteoindutividade, osteocondutividade e/ou osseointegração (ORYAN et al., 2014).

2.3.1 Enxerto Ósseo

Um material implantado, acompanhado ou não de outros tipos de materiais, que favorece a cicatrização óssea, é chamado de enxerto ósseo (ORYAN et al., 2014). São divididos em autoenxertos, aloenxertos, xenoenxertos e biomateriais naturais e sintéticos (ANITUA et al., 2013; LIU; KERNS, 2014).

Autoenxertos são ossos colhidos do próprio indivíduo, que atuam como osteogênese, osteoindução e osteocondução. Aloenxertos são colhidos de cadáveres e agem como osteocondução e osteoindução, e xenoenxertos são obtidos de outra espécie e operam como osteocondutores (LIU; KERNS, 2014).

Biomaterias naturais e sintéticos são considerados materiais que utilizam por exemplo, compostos naturais como quitosana, hidroxiapatita, proteínas e polissacarídeos, ou polímeros sintéticos como poliésteres e polianidridos, entre outros, além de fosfatos de cálcio, vidros biotivos, cerâmicas e metais. Apresentam diversos modos de utilização, podendo ser injetados, implantados,

e também atuar como material de liberação de moléculas bioativas (SHARMA; MUJAWAR; KAUSHIK, 2019).

2.3.2 Células-tronco Mesenquimais (MSC)

As MSC foram descobertas pela primeira vez na medula óssea por Friedenstein e colaboradores em 1966, e posteriormente foram encontradas no tecido adiposo, cordão umbilical, placenta, tecidos dentários e líquido sinovial (CHATTERJEA et al., 2010; WANG et al., 2013). Apresentam capacidade de diferenciar-se em células como osteoblastos, condrócitos e adipócitos, desde modo, são elementos fundamentais no processo de consolidação óssea e outros tecidos como cartilagem, rins, músculo e pele (BECQUART et al., 2012; MOYA et al., 2018).

O uso de MSC é uma alternativa na engenharia de tecidos para regeneração óssea. Porém, a vascularização no ambiente lesionado é escassa, tornando-se uma barreira para tal técnica (AMINI; LAURENCIN; NUKAVARAPU, 2012; LEE et al., 2019). As abordagens que utilizam as MSC incluem injeção direta no local, infusão sistêmica ou incorporação em materiais (WANG et al., 2013).

A terapia com MSC é extremamente encorajada na regeneração de tecidos, porém, é altamente limitada pelos obstáculos enfrentados em relação a sobrevivência dessas células (NUSCHKE et al., 2016). Fisiologicamente as células não conseguem adequar o consumo de glicose e também não apresentam reservas glicolíticas suficientes para preservar seu metabolismo por mais de 3 dias em ambiente isquêmico (baixa concentração de oxigênio e ausência de nutrientes), portanto, para o correto funcionamento do metabolismo energético das células, e em consequência sua sobrevivência, a presença de nutrientes no local é fundamental (MOYA et al., 2018).

O ambiente isquêmico é visto como um grande desafio, principalmente para a produção de energia das células, com níveis baixos de ATP (adenosina trifosfato) a homeostase torna-se prejudicada, assim como o gradiente de

concentração de íons, reparo de DNA (ácido desoxirribonucleico), entre outros (MOYA et al., 2018). O processo de morte celular ocorre pela despolarização da membrana, influxo de Ca^{2+} , tumefação celular e hidrólise de componentes celulares. Porém, as células apresentam adaptação à hipóxia (baixa concentração de oxigênio), com o aumento da atividade da glicólise anaeróbica, na presença de glicose exógena, para suprir a produção de ATP e a sobrevivência (MICHELIS, 2004).

DESCHEPPER et al., 2011 estudaram o comportamento *in vitro* de cultura de MSC expostas à hipóxia (1% O_2), e também expostas à situação de isquemia. Assim, demonstraram que as células sobrevivem à hipóxia por longo período (12 dias), desde que a glicose exógena permaneça disponível no meio, na qual a concentração inicial testada de glicose foi de 1% (1 g/l) e 5% (5 g/l) em relação ao meio sobrenadante. Ademais, MOYA et al., 2018 também descrevem resultados *in vitro*, sem diferenças significativas no consumo de glicose em cultivo de MSC na presença de 0,25% (0,25 g/l) e 5% (5 g/l) de glicose exógena no meio, sugerindo que o consumo de glicose pelas células não é controlado pela porcentagem ofertada.

De forma semelhante, BECQUART et al., 2012 também demonstraram que a morte maciça de células, após o implante dos materiais sintéticos isento de rede vascular, ocorre devido ao ambiente isquêmico e desprovido de nutrientes, principalmente na região central desses materiais.

Como alternativa, outro nutriente como a glutamina, também foi testado para a avaliação da sobrevivência das MSC em ambiente isquêmico, e os resultados foram negativos. Portanto, a glicose corresponde ao nutriente essencial nesse processo, além de oferecer suprimento para a produção de ATP, atua também ativando HIF-1 α (fator 1-alfa induzível por hipóxia) que é um regulador da resposta celular à hipóxia, o qual estimula a transcrição de genes relacionados com a sobrevivência, angiogênese e adaptação metabólica (DESCHEPPER et al., 2013).

Dessa forma, os dados sugerem a importância do desenvolvimento de novas estratégias de incorporação e liberação do nutriente glicose, com o

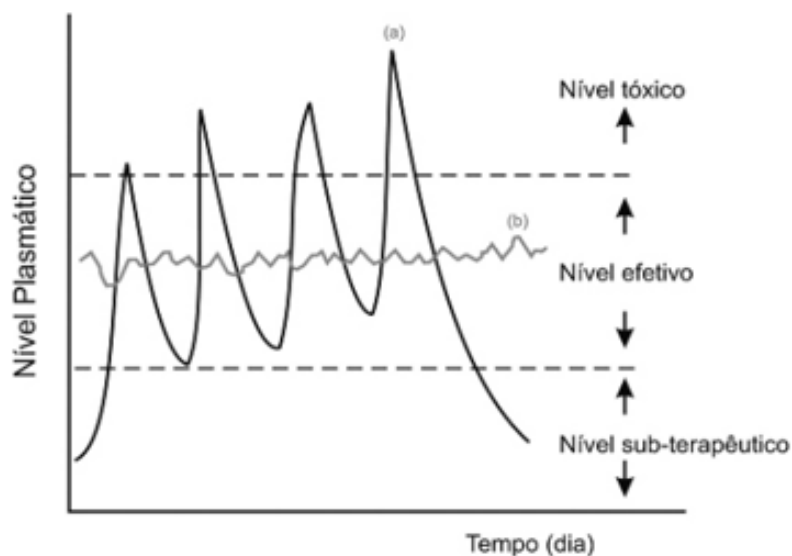
objetivo de melhorar a viabilidade celular e a neoformação de tecidos ósseos no processo de regeneração óssea (MOYA et al., 2018).

2.4 Sistemas de Liberação de Ativos

Existem diversas formas farmacêuticas para a entrega de insumo farmacêutico ativo (IFA) no organismo, como comprimidos, soluções, emulsões, nanopartículas, matrizes poliméricas, dentre outras. Apresentam-se em diferentes escalas como macro, micro e nanômetros e são capazes de liberar os ativos de forma controlada ou não, para efeito sistêmico ou direcionado à um local específico, dependendo da necessidade e do objetivo proposto (DAS; PRAKASH, 2021).

Os sistemas de entrega denominados como tradicionais ou convencionais são definidos pela liberação instantânea do ativo, porém, necessitam de repetições de doses, podendo levar a ocorrência de oscilações da faixa de dose terapêutica, e assim, torna-se uma das grandes desvantagens desses sistemas, quando comparados com sistemas de liberação controlada (figura 1) (SHARMA et al., 2019).

Figura 1. Representação ilustrativa da variação de concentração plasmática do fármaco administrado por sistema tradicional com múltiplas administrações (a) e administrado por sistema de liberação controlada (b).



Fonte: LYRA et al., 2007 (adaptado).

Com o avanço tecnológico em busca do contorno das desvantagens dos sistemas tradicionais, a terapêutica com o uso de sistemas de liberação controlada ganha destaque. No qual, os ativos podem ser liberados em períodos de tempo prolongado ou para um alvo específico, logo, esses sistemas apresentam diversas vantagens em relação aos sistemas tradicionais, como por exemplo, maior adesão do paciente em relação a menor necessidade de repetições de administrações, manutenção do nível da faixa de dose terapêutica, e assim diminuindo os efeitos colaterais, entre outras (DAS; PRAKASH, 2021; DAVOODI et al., 2018; JACOB et al., 2018; SHARMA et al., 2019). Porém, a maior desvantagem do uso dos sistemas de liberação controlada é o custo, quando comparados aos sistemas tradicionais, assim como outras desvantagens pontuais que podem ocorrer, tais quais, toxicidade e a não biocompatibilidade de alguns materiais (DAS; PRAKASH, 2021).

Neste contexto, matrizes poliméricas são reconhecidas por apresentarem propriedades ajustáveis e serem responsivas a estímulos, portanto, se encaixam

como sistemas de liberação controlada de ativos, a partir dos mecanismos de difusão, intumescimento e/ou erosão (CROISFELT et al., 2019; DAVOODI et al., 2018; FENGBO et al., 2019; SHARMA et al., 2019). É primordial também destacar que essas matrizes podem ser formuladas em formas farmacêuticas diferenciadas, como por exemplo, para uso tópico e transdérmico (CROISFELT et al., 2019).

As propriedades físico-químicas dos materiais, assim como as características dos ativos e/ou a formulação da matriz têm potencial de interferir de modo direto no mecanismo de liberação do ativo incorporado nas matrizes poliméricas (DAVOODI et al., 2018; PAARAKH et al., 2018). Além disso, o uso de diferentes polímeros e em distintas proporções também pode modificar o perfil de liberação de um ativo (PAARAKH et al., 2018).

Dentre os processos de liberação a partir das matrizes poliméricas, a difusão normalmente ocorre quando o ativo começa a ser liberado antes do intumescimento e erosão do polímero, que pode estar diretamente relacionado com a concentração do ativo, a porosidade do material, e/ou as características de solubilidade da matriz polimérica (DAVOODI et al., 2018). Por outro lado, o intumescimento ocorre a partir da hidratação e o relaxamento ou desemaranhamento das cadeias poliméricas, e então há a possibilidade do ativo ser solubilizado e liberado antes do início do processo de erosão do polímero (DAVOODI et al., 2018; SHARMA et al., 2019).

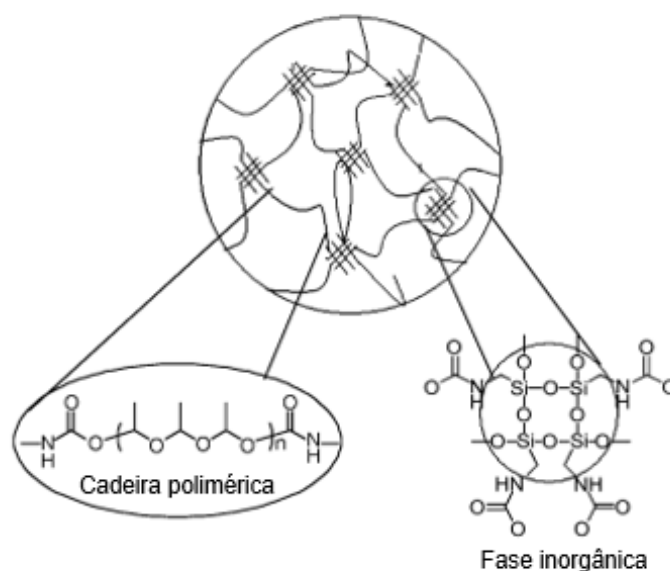
O perfil de liberação desejado pode ser atingido de acordo com o material utilizado, assim, é de suma importância o incentivo para o desenvolvimento de novos sistemas em busca de diversas finalidades, contudo, o empenho para esse tipo de pesquisa deverá ser aprimorado e intenso (SABAA, 2016).

2.5 Materiais Híbridos Orgânico-Inorgânicos

O desenvolvimento de materiais híbridos orgânico-inorgânicos apresentou expansão a partir dos anos 80 (JUDEINSTEIN; SANCHEZ, 1996; OSHIRO et al., 2016; SANCHEZ et al., 2005). Material híbrido orgânico-inorgânico é um material

único, formado pela mistura em escala nanométrica de componentes orgânicos (ou biológicos) e inorgânicos (figura 2) (DAHMOUCHE et al., 1999; JUDEINSTEIN; SANCHEZ, 1996; SANCHEZ et al., 1994, 2000; SANCHEZ; RIBOT; LEBEAU, 1999).

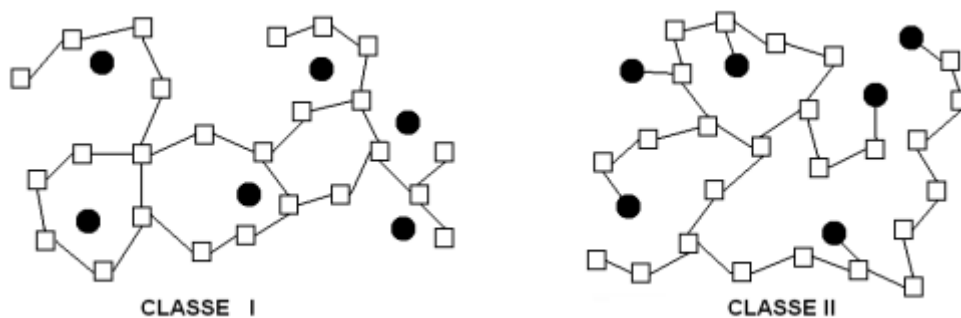
Figura 2. Esquema estrutural de um material híbrido.



Fonte: REKONDO; FERNÁNDEZ-BERRIDI; IRUSTA, 2007 (adaptado).

Dependendo da natureza da interface entre os componentes, os materiais híbridos podem ser divididos em duas classes: classe I e classe II (figura 3). Na classe I ocorre ligações como hidrogênio, van der Waals ou ligações iônicas entre os componentes orgânicos e inorgânicos, e na classe II as duas partes são unidas por ligações covalentes ou iônicas (SANCHEZ et al., 2005).

Figura 3. Representação das classes dos materiais híbridos.



Fonte: BENVENUTTI et al., 2009.

Os materiais orgânico-inorgânicos podem ter origem natural como carapaças de crustáceos e conchas de moluscos (SANCHEZ et al., 2005), ou podem ser sintetizados quimicamente e serem utilizados como condutores iônicos, adsorventes, dispositivos eletrocromáticos, entre outros (CARAVIERI et al., 2019; ZALDIVAR et al., 2017). Deste modo, são vistos como materiais avançados, com aplicações em diversas áreas como óptica, eletrônica, mecânica, energia, meio ambiente e saúde (JUDEINSTEIN; SANCHEZ, 1996; MOLINA et al., 2014a). Apresentando grande crescimento na área biomédica, em particular no âmbito de liberação de medicamentos, por exemplo, em dispositivos implantáveis e emplastos (CARAVIERI et al., 2014).

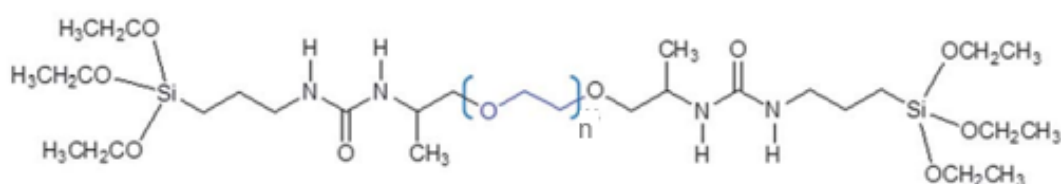
2.5.1 Materiais Híbridos Ureasil-poliéter

As membranas ureasil-poliéter são constituídas por uma fase inorgânica contendo nós de reticulação (Si-O-Si) e cadeia polimérica orgânica (OSHIRO et al., 2018). São originadas pela adição de polímeros orgânicos em redes de sílica formadas através do processo sol-gel, preparados a partir do alcóxido e são classificados como híbridos de classe II (JOSÉ; PRADO, 2005). Nos materiais híbridos de classe II os precursores do componente orgânico são os organossilanos, que apresentam grupos orgânicos ligados ao silício (OSHIRO et al., 2016).

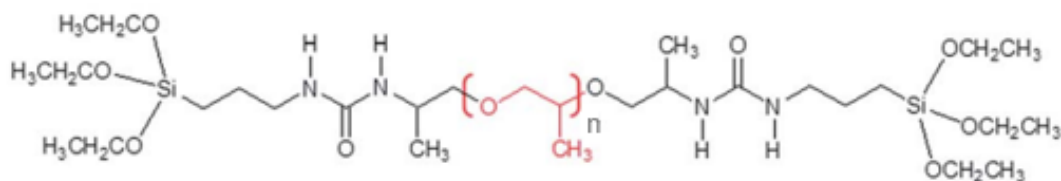
Apresentam sílicas ligadas covalentemente a cadeias de poliéter com comprimentos diferentes através de pontes de uréia (figura 4) (CAETANO et al., 2016; PAREDES et al., 2014). Os grupos silanóis reagem com o alcóxido durante a condensação e formam ligações Si-O-Si, e através dessas ligações e durante o processo sol-gel ocorre a formação de uma rede tridimensional de sílica covalente (MAHONY et al., 2010).

Figura 4. Estruturas dos precursores híbridos de ureasil (a) PEO e (b) PPO, respectivamente.

(a)



(b)



Fonte: MOLINA et al., 2014a (adaptado).

A natureza dos polímeros utilizados (hidrofóbicos ou hidrofílicos) e seu peso molecular interferem diretamente no intumescimento do material, e consequentemente na taxa de liberação de substâncias incorporadas, e também na resposta inflamatória do hospedeiro *in vivo* (OSHIRO et al., 2017; SANTILLI et al., 2009; TRUFFAULT et al., 2016), assim como na solubilidade e afinidade da substância pelo material (OSHIRO JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014). Além disso, materiais poliméricos podem ser moldados na forma e tamanho desejáveis para sua aplicação (RAMESH; MORATTI; DIAS, 2018).

O método utilizado para o preparo dos híbridos nomeados ureasil-poliéter é conhecido como processo sol-gel, no qual ocorre mistura em nível nanométrico

ou molecular de componentes orgânicos e inorgânicos (PAREDES et al., 2014). O processo abrange diferentes variáveis como tempo e temperatura da reação, natureza do catalisador e concentrações dos reagentes (JOSÉ; PRADO, 2005). Dispersões de partículas coloidais (tamanho entre 1 e 999 nm) em um fluido, define o termo sol, ao passo que a nomenclatura gel é utilizada para uma estrutura rígida formada de partículas coloidais ou cadeias poliméricas que fixam a fase líquida nos interstícios (JOSÉ; PRADO, 2005; OSHIRO et al., 2016).

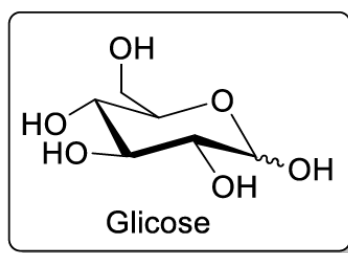
Membranas híbridas ureasil–poliéter compõem características de ambos os materiais utilizados, onde a parte orgânica proporciona flexibilidade e moldagem, e a parte inorgânica atua na estabilidade térmica e na alta resistência mecânica (TOSKAS et al., 2013). Portanto, resultam em características exclusivas como alta flexibilidade, resistência térmica e mecânica, transparência e insolubilidade em água (OSHIRO et al., 2017; OSHIRO JUNIOR et al., 2016; SANTILLI et al., 2009; TRUFFAULT et al., 2015; ZALDIVAR et al., 2017).

A utilização desses materiais em regeneração óssea apresenta vantagens, visto que a sílica (SiO_2) possui propriedades biocompatíveis e osteocondutoras. Os grupos silanóis (Si-OH) auxiliam a formação de apatita óssea, fornecendo assim o aumento da bioatividade dos materiais (SARKER et al., 2013). Além disso, não apresentam citotoxicidade em cultura de MSC (TOSKAS et al., 2013).

2.6 Glicose

A Glicose é uma substância que pertence à classe de carboidratos chamados monossacarídeos, conhecida também como grupo de carboidratos de açúcares simples. O composto foi isolado pela primeira vez em 1747 a partir de passas, por Andreas Marggraf (SHENDURSE; KHEDKAR, 2016). A glicose pode ser também denominada como dextrose, sua molécula apresenta seis átomos de carbono e um grupo aldeído, cuja fórmula química é $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (SHENDURSE; KHEDKAR, 2016; SILVA; FREITAS FILHO; FREITAS, 2018). A estrutura da molécula da glicose está representada pela figura 5.

Figura 5. Estrutura da molécula de glicose.



Fonte: SILVA; FREITAS FILHO; FREITAS, 2018.

A glicose é um pó cristalino branco, com sabor adocicado, inodoro, com massa molecular de 180,16 g/mol (SILVA; FREITAS FILHO; FREITAS, 2018). Apresenta alta solubilidade em água por ser uma molécula que apresenta grupos químicos polares (grupos OH), e moderada solubilidade em solventes orgânicos, como metanol e etanol, entre outros (FRANCISCO JUNIOR, 2008). A solubilidade da glicose em água a 25°C é de 91 g/100 mL (MARTINS; LOPES; DE ANDRADE, 2013; SHENDURSE; KHEDKAR, 2016).

A glicose é empregada em diversos setores, tal como alimentício, farmacêutico, químico, dentre outros (SILVA; FREITAS FILHO; FREITAS, 2018). Tem como principal função transformar-se em fonte de energia para nutrição, funcionamento das células e regulação do metabolismo dos organismos vivos, assim como, influenciar na expressão, proliferação e diferenciação celular (SUN et al., 2016). Dessa forma, a presença de glicose pode ser primordial para processos de reconstrução de tecidos.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo desenvolver membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter contendo glicose e avaliar a influência da natureza química das cadeias poliméricas no intumescimento e no perfil de liberação da glicose para futura aplicação em regeneração óssea.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Matérias-primas

- Poli (propilenoglicol) bis(2-aminopropil éter) 4000 - (Poly(propylene glycol) bis(2-aminopropyl ether) 4000) (PPO 4000) (Saint Louis, MO, USA, Sigma Aldrich);
- O,O' -Bis(2-aminopropil) polipropilenoglicol-bloco-polietilenoglicol-bloco-polipropilenoglicol 500 - (O,O'-Bis(2-aminopropyl) polypropylene glycol-block-polyethylene glycol-block-polypropylene glycol 500) (PEO 500) (Saint Louis, MO, USA, Sigma Aldrich);
- 3-(triethoxissilil) propil isocianato - (3-(Triethoxysilyl) propyl isocyanate), 95% (Saint Louis, MO, USA, Sigma Aldrich);
- Glicose Liquiform (Lagoa Santa, MG, Brasil, Labtest);
- Álcool etílico absoluto PA (Sumaré, SP, Brasil, Êxodo Científica);
- Glicose Anidra (Dextrose) (Ribeirão Preto, SP, Brasil, LS Chemicals);
- Cloreto de Sódio (Diadema, SP, Brasil, Labsynth);
- Bicarbonato de Sódio (Diadema, SP, Brasil, Labsynth);
- Cloreto de Potássio (Suzano, SP, Brasil, Neon);
- Fosfato de Potássio Bifásico Trihidratado (Suzano, SP, Brasil, Neon);
- Cloreto de Magnésio Hexahidratado (Suzano, SP, Brasil, Neon);
- Cloreto de Cálcio Anidro (Suzano, SP, Brasil, Neon);
- Sulfato de Sódio Anidro (Suzano, SP, Brasil, Neon);
- Tris (Hidroximetil) Aminometano (Suzano, SP, Brasil, Neon);
- Ácido Clorídrico (Xalostoc, México, J.T. Baker).

4.1.2 Equipamentos e Vidrarias

- Balança analítica (Barra funda, SP, Brasil, Shimadzu);
- Agitador magnético (Staufen, BH, Alemanha, IKA);
- Rotaevaporador RV 10 digital (Staufen, BH, Alemanha, IKA);

- pHmetro digital B 500 (Araucária, PR, Brasil, ION);
- Paquímetro universal 125 MEB – 6/150 (Itu, SP, Brasil, Starrett);
- Análise mecânico dinâmica - DMA 2980 (New Castle, DE, USA, TA-Instruments);
- Difratorômetro D5000 (Siemens);
- Microscópio Eletrônico de Varredura JSM7500F (Musashino, Akishima, Tóquio, Japão, JEOL);
- Espectrofotômetro de placa - modelo Power Wave XS2 (Winooski, VT, EUA, Biotek);
- Calorímetro Q20 (DSC) (New Castle, DE, EUA, TA Instruments);
- Goniômetro - OCA acoplado com uma câmera CCD com auxílio do software SCA20 2.0 (Filderstadt, BW, Alemanha, Dataphysics);
- Banho Maria Nova Ética (Vargem Grande Paulista, SP, Brasil, Ethik);
- Condensador de Refluxo (Ribeirão Preto, SP, Brasil, Satelit);
- Micropipeta monocal - 0,1 a 1 mL; 1 a 10 mL e 100 a 1000 mL (São José dos Pinhais, PR, Brasil, Kasvi);
- Béquer de vidro e de plástico (São Paulo, SP, Brasil, Perfecta) / (Itupeva, SP, Brasil, Nalgon);
- Tubo de ensaio de vidro (São Paulo, SP, Brasil, Uniglas);
- Balão de 3 bocas e 1 boca (São Paulo, SP, Brasil, Uniglas);
- Placa 96 poços fundo chato (Trasadingen, Suíça, TPP);
- Frasco plástico com tampa 50 mL (São José dos Pinhais, PR, Brasil, JProLab);
- Frasco plástico cristal com tampa 15 mL (São Paulo, SP, Brasil, Frascolex).

4.2 Métodos

4.2.1 Preparação das Membranas Híbridas do Tipo Ureasil-poliéter e Incorporação da Glicose

Os materiais híbridos ureasil-poliéter foram sintetizados utilizando o processo sol-gel, bem descrito na literatura científica (DAHMOUCHE et al., 1999;

OSHIRO JUNIOR et al., 2016). O precursor foi preparado a partir de polímeros modificados a base de polióxido de etileno (PEO) com massa molar de 500 g mol⁻¹ (O,O'-Bis(2-aminopropyl) polypropylene glycol-block-polyethylene glycol-block-polypropylene glycol 500) e/ou a base de polióxido de propileno (PPO) com massa molar de 4000 g mol⁻¹ (Poly(propylene glycol) bis(2-aminopropyl ether) 4000), ambos dissolvidos em etanol absoluto (OSHIRO JUNIOR et al., 2015). Poli (óxido de etileno) (PEO) é aceito pelo Food and Drug Administration (FDA) devido sua baixa toxicidade e biocompatibilidade (CAETANO et al., 2016). Na sequência, a solução (polímero + etanol) foi colocada em um balão de fundo redondo, e então foi adicionado um alcóxido modificado (3-isocianatopropiltrietoxissilano) (IsoTrEOS), com proporção molar de 1:2 (polímero/alcóxido). As quantidades de reagentes utilizadas estão descritas na tabela 1.

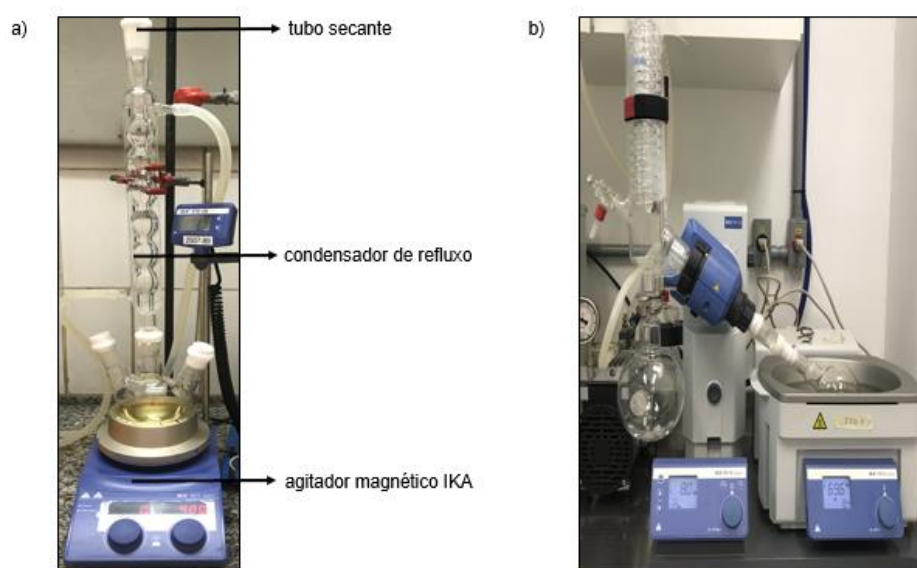
Tabela 1. Quantidades de reagentes utilizados na síntese dos precursores.

<i>Material</i>	<i>IsoTrEOS</i>	<i>Polímero</i>	<i>Etanol</i>
Ureasil-PEO 500	21,67 mL	25 g (PEO - massa molar 500 g mol ⁻¹)	50 mL
Ureasil-PPO 4000	3,26 mL	25g (PPO - massa molar 4000 g mol ⁻¹)	50 mL

Fonte: Dados da pesquisa.

Esta solução manteve-se sob refluxo durante 24 horas a 75°C e agitação de 400 rpm, conforme figura 6 (a). Posteriormente, o etanol foi eliminado por evaporação a 80°C em rotaevaporador, formando o precursor híbrido, figura 6 (b).

Figura 6. Condensador de Refluxo (a); Rotaevaporador IKA RV 10 digital (b).



Fonte: Dados da pesquisa.

O precursor híbrido (0,750 g) foi submetido as reações de hidrólise e condensação. A hidrólise foi promovida pela adição de 1000 μL de etanol, 500 μL de água, e 50 μL de catalisador HCl (2 M), sob agitação, conforme figura 7. E após este processo foram mantidos em frascos de polietileno com tampa perfurada, em dessecador à temperatura ambiente, sob vácuo, resultando na formação das membranas híbridas ureasil-poliéter.

Figura 7. Preparação das membranas híbridas ureasil-poliéter.



Fonte: Dados da pesquisa.

Durante a etapa de hidrólise e condensação, junto com a adição do etanol e a água, foram adicionadas diferentes porcentagens de glicose em relação à massa do precursor híbrido, com o propósito de avaliar a concentração máxima de glicose solubilizada nas membranas ureasil-poliéter. As porcentagens de massa da glicose foram as seguintes: 1; 3; 6; 10; 15 e 30 %.

Foram testados os materiais preparados a partir dos precursores puros e a mistura dos precursores com diferentes proporções ureasil-PEO500/PPO4000, como, 10/90; 20/80; 30/70; 40/60; 50/50; 60/40; 70/30; 80/20; 90/10 respectivamente.

4.2.2 Avaliação do Intumescimento das Membranas Ureasil-poliéter

O teste foi realizado com as membranas preparadas a partir dos precursores puros (ureasil-PPO4000 e ureasil-PEO500), e com a mistura dos precursores em diferentes proporções, contendo 6% de glicose. As membranas foram colocadas em béquer contendo solução de fluído corpóreo simulado (SBF) nas condições de 37°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$), e agitação de 50 rpm. Em períodos definidos (0, 15, 30, 60, 120, 180, 240 e 360 minutos) as membranas foram retiradas das soluções, colocadas em papel absorvente para remover o excesso de líquido e, então, pesadas em uma balança analítica Shimadzu. Após a pesagem, as membranas foram colocadas novamente na solução a 37°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$) e agitação (50 rpm).

O intumescimento foi avaliado a partir do ganho percentual de massa das amostras úmidas e calculado pela equação:

$$\% I = \frac{(m_{\text{inicial}} - m_{\text{final}})}{(m_{\text{final}})} \times 100$$

Onde I é a taxa percentual de intumescimento, M_{inicial} e M_{final} são as massas das amostras secas inicial e depois da imersão, respectivamente. O teste foi realizado em triplicata.

O preparo da solução SBF padronizada foi baseado na norma ISO 23317:2007. A primeira versão desta solução foi desenvolvida de 1991, porém, ao longo dos anos diversas correções foram realizadas com o objetivo de obter uma solução com maior semelhança ao plasma humano (KOKUBO; TAKADAMA, 2006). A preparação deste fluido superconcentrado é um processo muito sensível, demanda precisão e cumprimento exato de sua metodologia, principalmente no controle do pH e temperatura, caso contrário pode-se ter a precipitação de sais na solução, o que impossibilita seu uso.

Para a preparação da solução, as seguintes etapas foram seguidas:

- 1- Colocou-se 700 mL de água deionizada em um béquer de polietileno ou polipropileno de 1 L com uma barra de agitação, cobrindo com filme plástico. O béquer foi colocado em banho maria em um agitador magnético, e a água aquecida a $36,5^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ enquanto se agitava;
- 2- Os reagentes foram dissolvidos na água, cuidadosamente a uma temperatura de $36,5^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, pela ordem indicada na tabela 2. Cada reagente foi colocado para dissolver somente depois que o anterior estivesse completamente dissolvido;

Tabela 2. Ordem, reagentes e quantidades para a preparação de 1 L de SBF.

Ordem	Reagente	Quantidade
1	NaCl	8.035 g
2	NaHCO ₃	0.355 g
3	KCl	0.225 g
4	K ₂ HPO ₄ .H ₂ O	0.231 g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0.311 g
6	1.0M-HCl	39 mL
7	CaCl ₂	0.292 g
8	Na ₂ SO ₄	0.072 g
9	TRIS	6.118 g
10	1.0M-HCl	0–5 mL

Fonte: ISO 23317:2007.

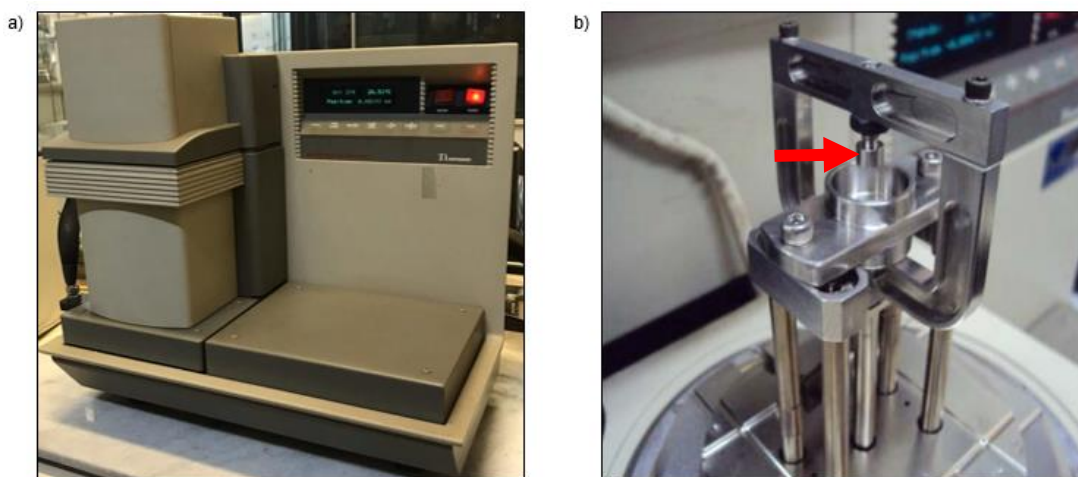
- 3- Inseriu-se o eletrodo do medidor de pH na solução. Antes de dissolver o TRIS, o pH da solução estava em $2,0 \pm 1,0$;
- 4- Definiu-se a temperatura da solução em $36,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$. Se a quantidade da solução fosse menor que 900 mL, adicionou-se água deionizada até 900 mL no total;
- 5- Com a temperatura da solução entre 35°C e 38°C , preferencialmente $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, foi dissolvido o TRIS na solução pouco a pouco para aumentar o pH para menos de 7,45, tomando nota cuidadosa da mudança e estabilização do pH;
- 6- Foi mantido o equilíbrio do pH da solução entre 7,42 e $7,45 \pm 0,01$ com a adição do restante do TRIS, e se fosse necessário, a solução de HCl 1M era utilizada;
- 7- Depois de dissolver toda a quantidade de TRIS, ajustou-se a temperatura da solução para $36,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, e o ajuste do pH da solução foi realizado adicionando a solução de HCl 1 M aos poucos para um pH de $7,42 \pm 0,01$ a $36,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e, finalmente, ajustou-se o pH para 7,40 exatamente em $36,5^{\circ}\text{C}$;
- 8- Foi removido o eletrodo do medidor de pH;
- 9- Transferiu-se a solução do béquer, após seu resfriamento à temperatura ambiente, para um frasco de polietileno ou polipropileno de 1 L com tampa. Foi adicionado então, a água utilizada na lavagem do béquer. E completou-se o volume com a água deionizada;
- 10- A solução foi armazenada em refrigerador entre 5 e 10°C . O prazo de validade era de 30 dias, a menos que algum sal precipitasse na solução durante o armazenamento, e então esta solução deveria ser descartada.

4.2.3 Análise Mecânico Dinâmica (DMA)

A análise mecânico dinâmica foi realizada para determinar a resistência mecânica das membranas quando estas foram submetidas a uma variação de força de compressão em sua superfície. Foi utilizado o equipamento DMA 2980 da TA-Instruments (figura 8 (a)), operando a temperatura de 37°C com o forno

fechado para controlar a temperatura, com rampa de força de 1 N/min até 15 N (o equipamento proporciona uma força máxima de 18 N, porém com melhor desempenho até 15 N), modo de carga de compressão e corpo de prova no formato cilíndrico com diâmetro de 6,25 mm e espessura de 0,5 mm (figura 8 (b)).

Figura 8. DMA 2980 da TA-Instruments (a); Corpo de prova no formato cilíndrico (b).



Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.4 Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X foi utilizada para avaliar a evolução da cristalinidade das membranas após a adição da glicose. As medidas foram coletadas em um difratômetro Siemens D5000, com passo de $0,05^\circ/1s$, com ângulo inicial de 5° e final de 80° .

4.2.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O equipamento utilizado para as medidas de análise térmica foi o Calorímetro Q20 (DSC) (TA Instruments). As curvas foram obtidas em intervalo de temperatura de -75°C a 350°C , com velocidade de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ sob atmosfera de nitrogênio ($50\text{ mL}/\text{min}$). As amostras foram cortadas em forma circular e acondicionadas em cadinhos herméticos de alumínio de $40\text{ }\mu\text{L}$.

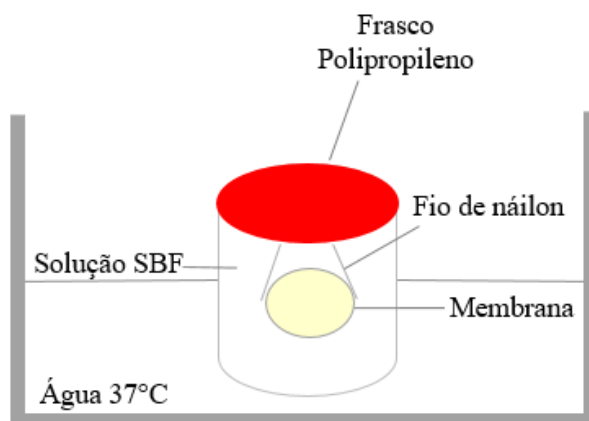
4.2.6 Avaliação do Ângulo de Contato (Molhabilidade) das Membranas Ureasil-poliéter

O ângulo de contato das membranas com a água e a forma das gotas de água foram medidos à temperatura ambiente, sob atmosfera de ar, por meio do instrumento Goniômetro - OCA (Dataphysics) acoplado com uma câmera CCD com auxílio do software SCA20 2.0. Uma gota de água (7 μL) foi depositada na superfície da membrana usando uma seringa e agulha controlada por computador e o ângulo de contato ar/água/membrana foi determinado por análise de imagem usando o software acima descrito. Cada valor do ângulo de contato foi obtido de uma média de três amostras.

4.2.7 Bioatividade *in vitro* das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF

A bioatividade foi analisada através da imersão das membranas híbridas em frascos plásticos com tampa, contendo 50 mL de solução SBF (pH 7,4) e mantidos em banho maria a 37°C, conforme figura 9, durante 12h, 24h, 3 dias, 7 dias e 14 dias, onde a razão área de superfície/volume era 0,1cm⁻¹ (ISO 23317/2007) (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2007).

Figura 9. Avaliação da bioatividade *in vitro* das membranas híbridas ureasil-poliéter.



Fonte: Dados da pesquisa.

A solução SBF foi preparada conforme descrito no item 4.2.2, e a mesma não foi reabastecida por todo o período do teste (SOUZA et al., 2019). Após os períodos definidos, as membranas foram retiradas da solução, lavadas cuidadosamente com água deionizada e secas à temperatura ambiente em dessecador à vácuo por aproximadamente 12h.

Posteriormente, o material foi recoberto por evaporação de 1 fio de carbono, gerando uma cobertura de aproximadamente 5 nm de espessura, e as superfícies das membranas foram avaliadas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL MODELO JSM7500F), e em seguida caracterizadas por espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), acoplada ao MEV.

Para a avaliação das alterações de pH induzidas pelas membranas, foi feita a verificação do pH da solução SBF coletada ao final de cada tempo avaliado, utilizando um pHmetro digital ION modelo B 500.

4.2.8 Liberação da Glicose *in vitro* a Partir das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF

As membranas contendo 6% (0,045 g) de glicose, foram adicionadas em béquer contendo 100 mL de solução de fluido corpóreo simulado (SBF) nas condições de 37°C ($\pm 1,0^\circ\text{C}$), agitação de 50 rpm, e pH 7,4.

Para coletar cada uma das alíquotas foi utilizada uma micropipeta, o volume coletado das alíquotas foi de 2 mL, sendo repostado logo em seguida para manter as condições Sink. As alíquotas foram coletadas e analisadas em intervalos de tempos selecionados em 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas (1 dia), 48 horas (2 dias), 72 horas (3 dias), 96 horas (4 dias), 168 horas (7 dias), 264 horas (11 dias) e 336 horas (14 dias).

A quantificação da glicose foi realizada por um sistema enzimático específico para determinação de glicose (Glicose Liquiform – Labtest®), onde a metodologia utilizada encontra-se descrita nas instruções de uso do próprio kit

enzimático (LIQUIFORM, 2011). Em um tubo de ensaio foi adicionado 10 µL da amostra e 1 mL do reagente, permaneceu encubado em banho maria a 37°C por 10 minutos e posteriormente foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro de placa Biotek® (modelo Power Wave XS2). O teste foi realizado em triplicata.

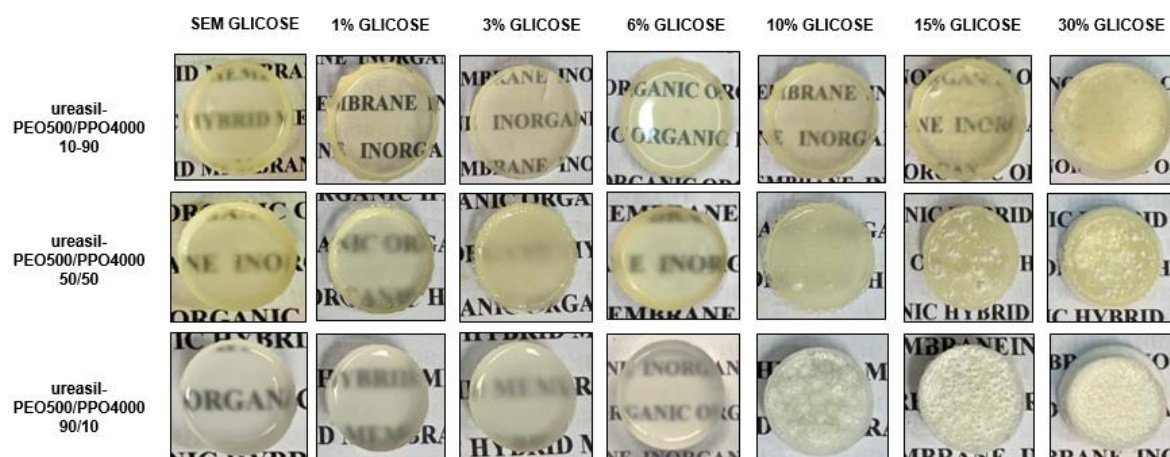
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Preparação das Membranas Híbridas do Tipo Ureasil-poliéter e Incorporação da Glicose

As membranas ureasil-poliéter foram obtidas a partir de precursores híbridos. Durante a evolução deste trabalho, a etapa primordial foi estabelecer as condições ideais para a transição sol-gel das membranas contendo a glicose, uma vez que ao incorporar uma substância ativa é importante garantir ao máximo a homogeneidade da distribuição da mesma. Acúmulos da substância ativa na superfície das membranas pode acarretar na perda da quantidade incorporada e na liberação rápida desta quando em contato com fluidos biológicos.

A forma mais simples de analisar a homogeneidade é avaliar o aspecto visual das membranas. O aspecto visual das membranas ureasil-poliéter preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 em diferentes proporções, sem glicose e com diferentes porcentagens (massa/massa) de glicose estão apresentados na figura 10.

Figura 10. Fotografias do aspecto visual das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores híbridos ureasil-PEO500/PPO4000: 10/90; 50/50; 90/10 sem glicose e contendo 1%; 3%; 6%; 10%; 15% ou 30% de massa de glicose, respectivamente.



Fonte: Dados da pesquisa

O experimento foi realizado para as membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções de 10/90; 50/50; 90/10, referindo-se aos extremos e a condição média de 50% de cada precursor, para definir a concentração ideal de glicose na formação das membranas.

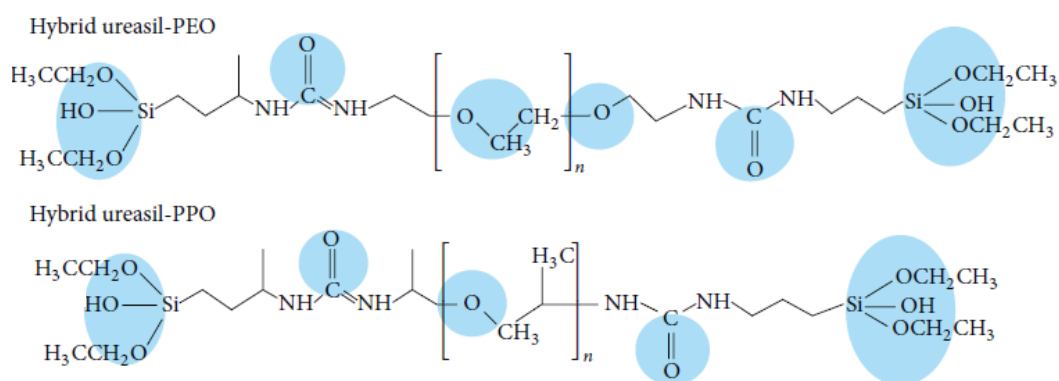
Após o processo de preparo sol-gel, em aproximadamente 24h houve a gelatinização das membranas, porém, a estabilização da massa das mesmas ocorreu em aproximadamente 13 dias, à temperatura ambiente em dessecador, sob vácuo.

Macroscopicamente, é possível observar que a partir de 10% de massa de glicose inicia-se a perda da uniformidade e transparência das membranas, proporcionalmente ao aumento da concentração, a superfície visualmente apresenta-se rugosa, opaca e com precipitados. Isso pode ter acontecido pela quantidade de glicose incorporada não ser solúvel para o conjunto da preparação da membrana, ou também pela possibilidade da menor solubilidade da glicose na mistura etanol/água utilizada para promover as reações de hidrólise e condensação necessárias para a formação da membrana. A glicose apresenta alta hidrofilicidade e solubilidade em água (25°C – 0,91 g/mL), portanto, as quantidades testadas não estavam saturadas (ex: 30% glicose - 0,45 g/mL), porém, a solução com mistura de água e etanol pode reduzir a solubilidade da glicose em até 50% (ALVES; ALMEIDA E SILVA; GIULIETTI, 2007). Por outro lado, existe também a possibilidade da glicose ter sido solubilizada na matriz, visto que, os materiais híbridos possuem grupos químicos polares eficazes para dissolver moléculas polares, como o diclofenaco de sódio (MOLINA et al., 2014b).

Portanto, entendemos que esse método pode auxiliar na solubilização dependendo da concentração e faz com que a glicose fique retida e/ou dispersa na matriz polimérica, em um dos sítios de interação da membrana ureasil-poliéter. A figura 11 apresenta as estruturas das moléculas dos materiais híbridos ureasil-PEO e ureasil-PPO e os possíveis sítios de interação (destacados nos círculos azuis da figura) para diferentes moléculas, que são os grupos silanol,

uréia e os átomos de oxigênio de tipo éter (LOPES et al., 2012; OSHIRO et al., 2016).

Figura 11. Estruturas das moléculas dos materiais híbridos ureasil-PEO e ureasil-PPO e os possíveis locais de interação (destacado nos círculos azuis), silanol, átomos de oxigênio do tipo éter e uréia.



Fonte: OSHIRO et al., 2016.

Observa-se na figura 10 que a máxima concentração de glicose que pôde ser incorporada sem alterar de forma visual a homogeneidade das membranas foi de 6% de glicose, uma vez que macroscopicamente observa-se uma uniforme dispersão/dissolução no interior da matriz híbrida, sem causar irregularidades ou precipitados na superfície.

A incorporação da glicose nas membranas ureasil-poliéter foi uma etapa bem-sucedida, a partir da avaliação visual das membranas com diferentes porcentagens de glicose massa/massa em relação à massa da mistura dos precursores híbridos ureasil-poliéter testadas. De acordo com os resultados, optamos por trabalhar com a concentração de 6% de glicose (0,045 g), por se tratar da maior concentração incorporada que não ocasionou deformações ou perda da homogeneidade das membranas.

Na literatura, estudos evidenciaram que é possível aperfeiçoar as características das membranas híbridas a partir da mistura de precursores híbridos à base de ureasil-PEO e à base de ureasil-PPO com diferentes massas molares e em diferentes proporções massa/massa. Membranas utilizando a

mistura de ureasil-PPO400 e ureasil-PEO1900 apresentaram mudanças estruturais e, conseqüentemente, resultados satisfatórios em relação ao intumescimento e liberação do ativo, quando comparadas com as membranas preparadas a partir de precursores puros (MOLINA et al., 2014b; OSHIRO et al., 2017). Assim como, a flexibilidade também pode ser alterada com a utilização de mistura dos polímeros (OSHIRO et al., 2017).

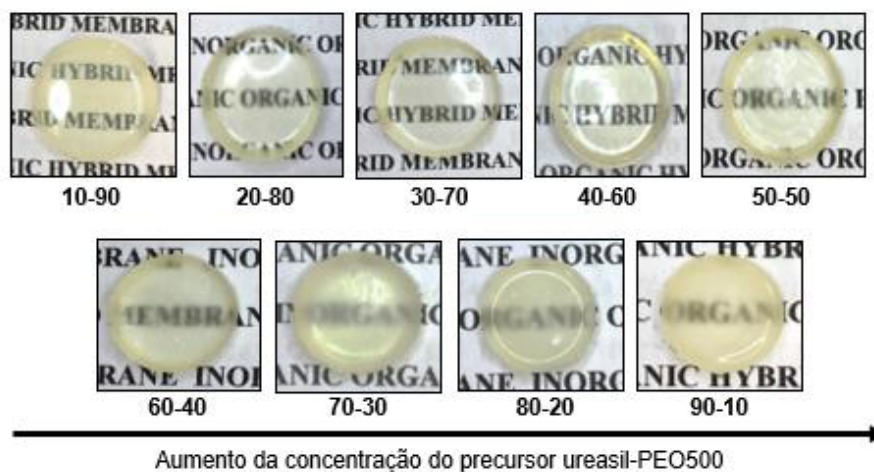
Dessa forma, o aspecto visual das membranas preparadas a partir dos precursores puros ureasil-PEO500 e ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose e não contendo glicose, e da mistura dos precursores em diferentes proporções contendo 6% de glicose estão apresentados nas figuras 12 e 13.

Figura 12. Fotografias do aspecto visual das membranas preparadas a partir dos precursores puros ureasil-PEO500 e ureasil-PPO4000 não contendo glicose e contendo 6% de glicose.



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 13. Fotografias do aspecto visual das membranas preparadas a partir da mistura com diferentes proporções dos precursores híbridos ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose.



Fonte: Dados da pesquisa.

Evidencia-se a não formação de trincas e/ou rachaduras para todas as membranas. A conservação da uniformidade pode ser observada em todas as membranas, porém a transparência apresenta-se discretamente menor para as membranas preparadas a partir da mistura dos precursores que contêm mais de 60% de ureasil-PEO500.

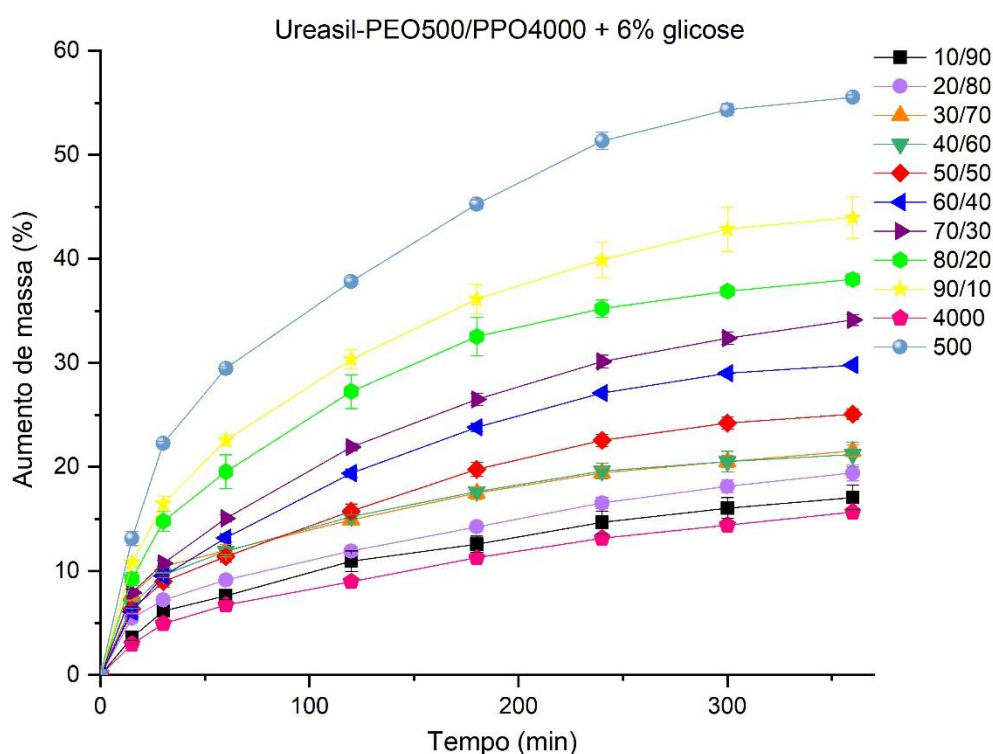
Neste trabalho, as membranas que dispõem de maior quantidade do precursor ureasil-PPO4000 alcançaram maior flexibilidade no manuseio em comparação com as demais, além de apresentarem maior transparência, o que pode estar ligado com a solubilidade da glicose na membrana. Podemos dizer, entretanto, que todas as membranas híbridas preparadas a partir da mistura ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose não apresentaram trincas e/ou rachaduras, além de não apresentarem precipitados na superfície, apesar das membranas com maiores concentrações do polímero ureasil-PEO500 serem menos transparentes que as mais ricas em ureasil-PPO4000. Portanto, podemos sugerir que as membranas formadas apresentam visualmente uniformidade estrutural, e conclui-se que a metodologia de incorporação da glicose foi realizada de forma satisfatória.

5.2 Avaliação do Intumescimento das Membranas Ureasil-poliéter

O intumescimento das membranas em uma solução interfere diretamente na capacidade e no mecanismo de liberação das moléculas ativas incorporadas, da mesma forma que pode influenciar na resposta inflamatória *in vivo*. Sendo assim, avaliar o perfil de intumescimento das membranas é importante para auxiliar na escolha das melhores proporções da mistura dos polímeros utilizada.

A figura 14 apresenta a evolução do aumento da massa associada ao intumescimento, em solução SBF, das membranas preparadas a partir dos precursores puros ureasil-PEO500 e ureasil-PPO4000, e a partir da mistura dos precursores com diferentes proporções de ureasil-PEO500/PPO4000, todas contendo 6% de glicose. Os resultados estão expressos com a média $\pm$ EP da triplicata ($n = 3$).

Figura 14. Comparação do aumento de massa (%) entre membranas preparadas a partir dos precursores puros e a partir da mistura em diferentes proporções dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose durante o teste de intumescimento das membranas imersas em SBF.



Fonte: Dados da pesquisa.

O aumento da massa, e consequentemente o intumescimento das membranas ocorre com o acréscimo da concentração de ureasil-PEO500 na mistura e na membrana ureasil-PEO500. Os resultados mostraram que para a membrana ureasil-PEO500 o intumescimento foi de $\approx 55\%$, e para a membrana ureasil-PPO4000 $\approx 16\%$. Para a mistura, os resultados foram de $\approx 44\%$ para ureasil-PEO500/PPO4000 90/10, $\approx 17\%$ para a proporção 10/90 e $\approx 25\%$ para a proporção 50/50.

A diferença do intumescimento entre as membranas deve ocorrer em razão do híbrido ureasil-PPO4000 apresentar um caráter mais hidrofóbico devido a presença do grupo CH_3 ligado ao oxigênio do tipo éter, fato que não ocorre no híbrido ureasil-PEO500 (OSHIRO JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014). O caráter mais hidrofóbico do híbrido ureasil-PPO4000 faz com que as membranas apresentem menor afinidade pela solução SBF e, portanto, diminua sua capacidade de intumescimento em relação a membrana ureasil-PEO500.

Nota-se que as diferentes proporções na mistura dos precursores podem alterar o perfil de intumescimento, atribuindo um grau de intumescimento intermediário quando comparados com as membranas preparadas a partir dos precursores puros, e consequentemente também podem modular a taxa de liberação da glicose, além de evitar a ocorrência de traumas nos animais em testes *in vivo*, o que poderia levar a uma resposta inflamatória acentuada. Conforme relatado na literatura em membranas preparadas a partir dos precursores ureasil-PEO1900 e ureasil-PPO400, a membrana ureasil-PEO1900 apresentou maior intumescimento, e ocorreu inflamação aguda, por outro lado a membrana ureasil-PPO400 não apresentou danos ao tecido após 15 dias do implante, possivelmente, por apresentar menor intumescimento (OSHIRO et al., 2017).

Para selecionar as proporções das membranas testadas, utilizamos como referência dado da literatura que apresentou resultado de intumescimento de 14,87% após 60 minutos de experimento para a mistura do material ureasil-PPO400/PEO1900 (80/20), e biocompatibilidade satisfatória no teste *in vivo* (OSHIRO et al., 2017). Portanto, as proporções de mistura selecionadas deste trabalho são com valores de intumescimento próximos à referência (14,87%),

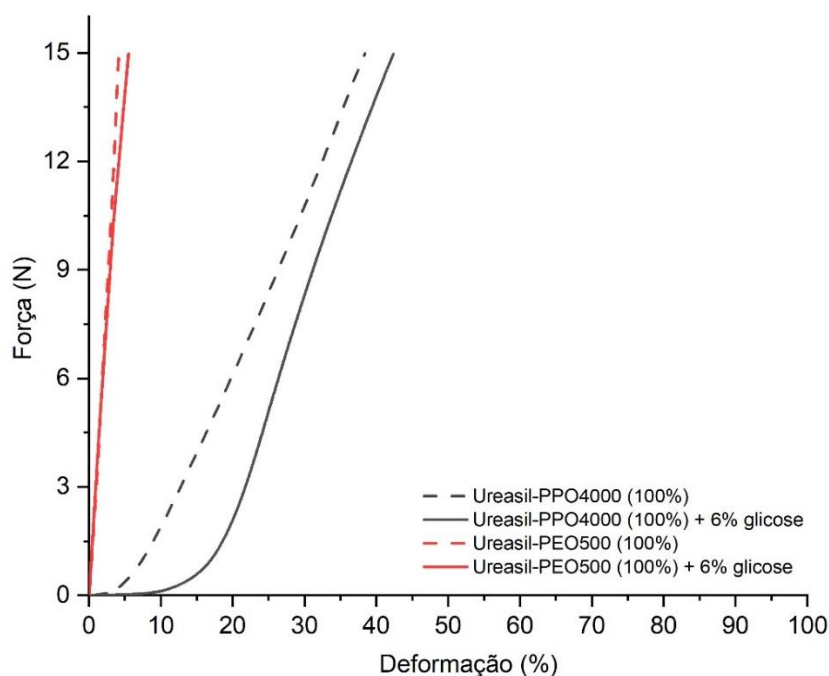
referindo-se as membranas ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 ($\approx 9\%$), 30/70 ($\approx 12\%$), 40/60 ($\approx 12\%$), 50/50 ($\approx 12\%$) e 60/40 ($\approx 14\%$).

5.3 Análise Mecânico Dinâmica (DMA)

A técnica de DMA foi utilizada para fornecer informações sobre a resistência mecânica, como resultado da deformação das membranas híbridas, à medida que uma força de compressão era aplicada na superfície das mesmas.

Na figura 15 estão apresentadas as curvas de deformação em razão da força aplicada para as membranas preparadas a partir dos precursores puros contendo ou não glicose em sua formação.

Figura 15. Curvas de deformação em razão da força aplicada para membrana ureasil-PPO4000 sem glicose; membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose; membrana ureasil-PEO500 sem glicose; membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose.



Fonte: Dados da pesquisa.

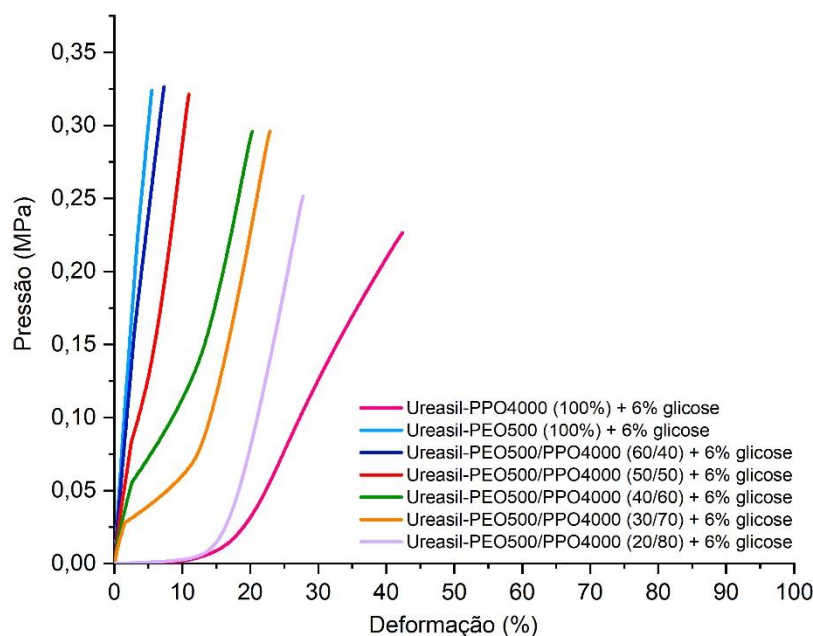
Observa-se que as deformações foram de aproximadamente 4 e 6% para as membranas ureasil-PEO500, e de 38 e 42% para as membranas ureasil-

PPO4000, sem glicose e contendo 6% de glicose, respectivamente. Nota-se que a membrana híbrida ureasil-PEO500 não apresentou mudança significativa na deformação na presença de glicose. Por outro lado, a amostra ureasil-PPO4000 com glicose revela uma deformação ligeiramente maior quando comparada com a membrana sem glicose, sugerindo possivelmente uma discreta diminuição da rigidez das membranas. No que diz respeito ao tamanho das cadeias poliméricas, a matriz ureasil-PPO4000 possui massa molecular maior, de modo que a deformação pode ser modificada a partir da entrada do ativo, originando mais espaços entre as cadeias poliméricas podendo favorecer na diminuição da rigidez, e como resultado a maior deformação da membrana (LOPES, 2014).

As membranas ureasil-PEO500 são mais rígidas devido a cadeia polimérica com menor massa molecular que apresenta números maiores de nós de reticulação, portanto, são mais resistentes à deformação (SANTILLI et al., 2009). Por outro lado, as membranas ureasil-PPO4000 com massa molecular maior são mais flexíveis e apresentaram menor resistência à deformação.

A figura 16 apresenta as curvas de deformação em razão da pressão em resposta a força de compressão (15 N) aplicada nas membranas híbridas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose em diferentes proporções, e com o intuito de facilitar a visualização e comparação, inclui as curvas de deformação das membranas com os precursores puros contendo 6% de glicose. Estes resultados também encontram-se descritos na tabela 3.

Figura 16. Curvas de deformação em razão da pressão para membrana ureasil-PPO4000 e membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose; e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 60/40; 50/50; 40/60; 30/70 e 20/80, respectivamente, contendo 6% de glicose.



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 3. Valores de deformação (%) e pressão (MPa) em resposta a força de compressão aplicada (15 N) para membrana ureasil-PPO4000 e membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose; e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 60/40; 50/50; 40/60; 30/70 e 20/80, respectivamente, contendo 6% de glicose.

<i>Material</i>	<i>Deformação (%)</i>	<i>Pressão (MPa)</i>
Ureasil-PPO4000 (100%) + 6% glicose	42	0,23
Ureasil-PEO500 (100%) + 6% glicose	6	0,32
Ureasil-PEO500/PPO4000 (60/40) + 6% glicose	7	0,33
Ureasil-PEO500/PPO4000 (50/50) + 6% glicose	11	0,32
Ureasil-PEO500/PPO4000 (40/60) + 6% glicose	20	0,30
Ureasil-PEO500/PPO4000 (30/70) + 6% glicose	23	0,30
Ureasil-PEO500/PPO4000 (20/80) + 6% glicose	28	0,25

Fonte: Dados da pesquisa.

Verifica-se na figura 16 e tabela 3 que entre as diferentes proporções da mistura dos híbridos ureasil-PEO500/PPO4000, a proporção 60/40 atingiu a menor deformação ($\approx 7\%$) e a proporção 20/80 a maior deformação ($\approx 28\%$). Para as membranas preparadas com maiores quantidades do precursor ureasil-PPO4000 existe uma tendência de progressão da porcentagem de deformação, enquanto com o aumento da proporção ureasil-PEO500 a deformação tende a diminuir.

Estes resultados indicam que a mistura dos precursores na formação das membranas direciona para uma diminuição nas deformações em comparação com a membrana ureasil-PPO4000 e um aumento nas deformações em relação a membrana ureasil-PEO500. Estes resultados estão de acordo com os resultados apresentados no item 5.2, onde a mistura dos precursores também moldou o intumescimento das membranas para uma futura possibilidade de liberação controlada da glicose.

Em relação as deformações, podemos comparar os resultados com os dados obtidos de uma membrana de colágeno comercial (Infuse®) por OSHIRO JUNIOR, 2017, que apresentou uma deformação de 63%. Mesmo que neste trabalho o maior resultado encontrado nas misturas dos precursores foi de $\approx 28\%$ (ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80), ressalta-se que a amostra apresentou boa flexibilidade, principalmente no manuseio, e não exibiu ruptura ao final do teste.

Observa-se na figura 16 e tabela 3 que as membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 apresentaram resistência mecânica à compressão de 0,33 MPa para a proporção 60/40 e 0,25 MPa para a proporção 20/80, referindo-se como o maior e menor valor encontrado entre as proporções. Os resultados da resistência mecânica à compressão foram confrontados com dados de materiais destinados a regeneração óssea que apresentaram desempenhos semelhantes. LIU et al., 2009 descrevem resistência à compressão de 0,23 MPa a 0,55 MPa para scaffold de poliuretano (PU) e hidroxiapatita (HA), e definem estes resultados como suficientes para a regeneração de cartilagem e preenchimento de grandes defeitos ósseos. Hidrogéis de poli (etilenoglicol) (PEG) e nanopartículas de silicato (Laponite RD) apresentaram resistência mecânica à compressão de 0,013 MPa a 0,026 MPa

dependendo das variações de formulação (GAHARWAR et al., 2011a). Por outro lado, hidrogéis de poli (etilenoglicol) (PEG) e nanopartículas de hidroxiapatita (nHAp) exibiram resultados de 0,048 MPa a 0,082 MPa (GAHARWAR et al., 2011b). E por fim, GAHARWAR et al., 2011c avaliaram filmes de poli (óxido de etileno) (PEO) com silicato (Laponite® argila), com resultado máximo de $\approx 0,03$ MPa. Dessa forma, os resultados obtidos para as membranas híbridas estudadas neste trabalho apresentam valores de resistência mecânica à compressão compatíveis com os observados na literatura.

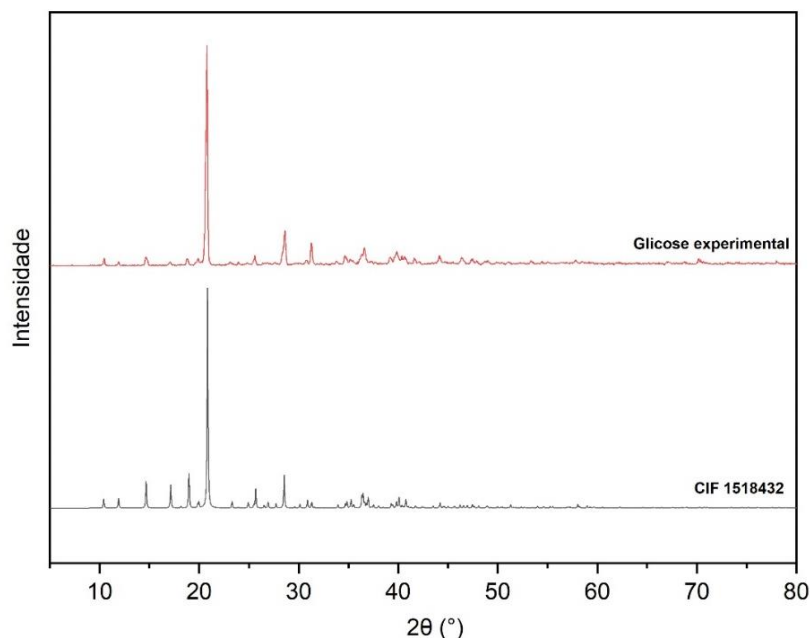
Podemos concluir que as propriedades mecânicas das membranas podem ser moduladas pelas condições de preparo, isto é, a proporção entre os polímeros hidrofílico e hidrofóbico. E apesar da elevada força de compressão aplicada, as membranas não apresentaram ruptura ou qualquer dano macroscópico durante e ao final do teste, revelando assim boa resistência mecânica.

5.4 Difração de raios X (DRX)

A técnica de difração de raios X foi utilizada para avaliar a organização estrutural das membranas híbridas. A compreensão da cristalinidade de um biomaterial é fundamental, visto que ela influencia diretamente no comportamento *in vivo*, podendo interferir também na propriedade mecânica do material.

Inicialmente foi realizada a avaliação da cristalinidade da glicose incorporada nas membranas híbridas (chamada de glicose experimental), para auxiliar na identificação e discussão dos difratogramas das membranas. A figura 17 apresenta os difratogramas de raios X da glicose experimental em comparação com dados da literatura (CIF 1518432) para a glicose.

Figura 17. Comparação dos difratogramas de raios X obtidos da glicose experimental incorporada nas membranas e o encontrado na literatura (CIF 1518432).

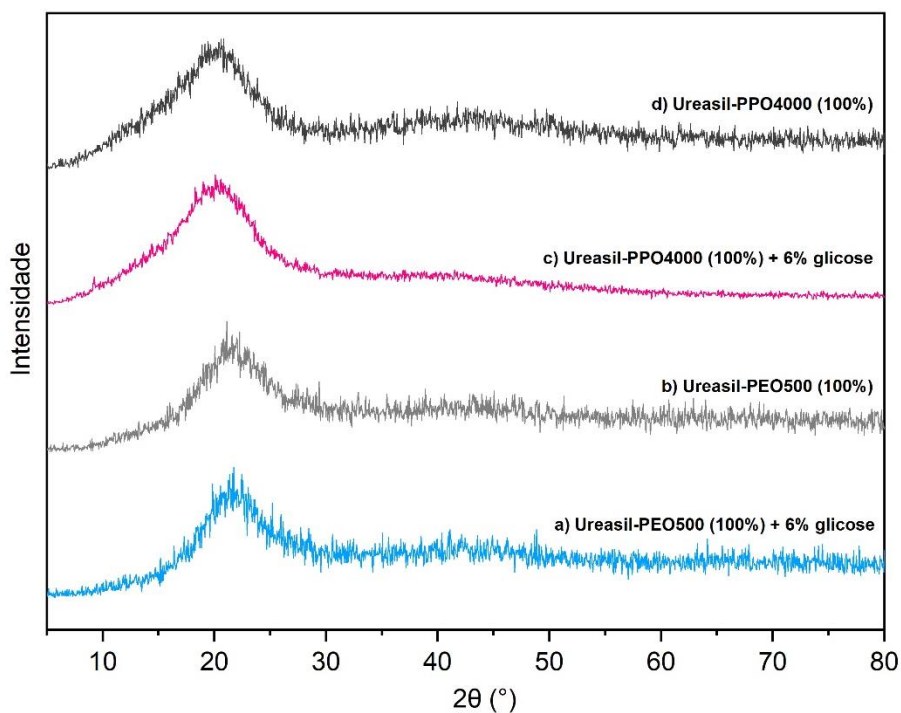


Fonte: Dados da pesquisa.

O padrão de difração da glicose é identificado por picos finos e de alta intensidade, característico de uma fase cristalina. Os picos presentes no difratograma da glicose experimental foram comparados aos dados encontrados do composto D-glicose que possui sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial $P2_12_12_1$, (CIF 1518432). Pode-se observar que os difratogramas apresentados na figura 17 são bastante similares (PATYK; KATRUSIAK, 2015).

Na figura 18 estão apresentados os difratogramas de raios X das membranas preparadas a partir dos precursores puros contendo e não contendo glicose em sua formação.

Figura 18. Difratomogramas de raios X da membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (a); membrana ureasil-PEO500 sem glicose (b); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (c); e membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (d).

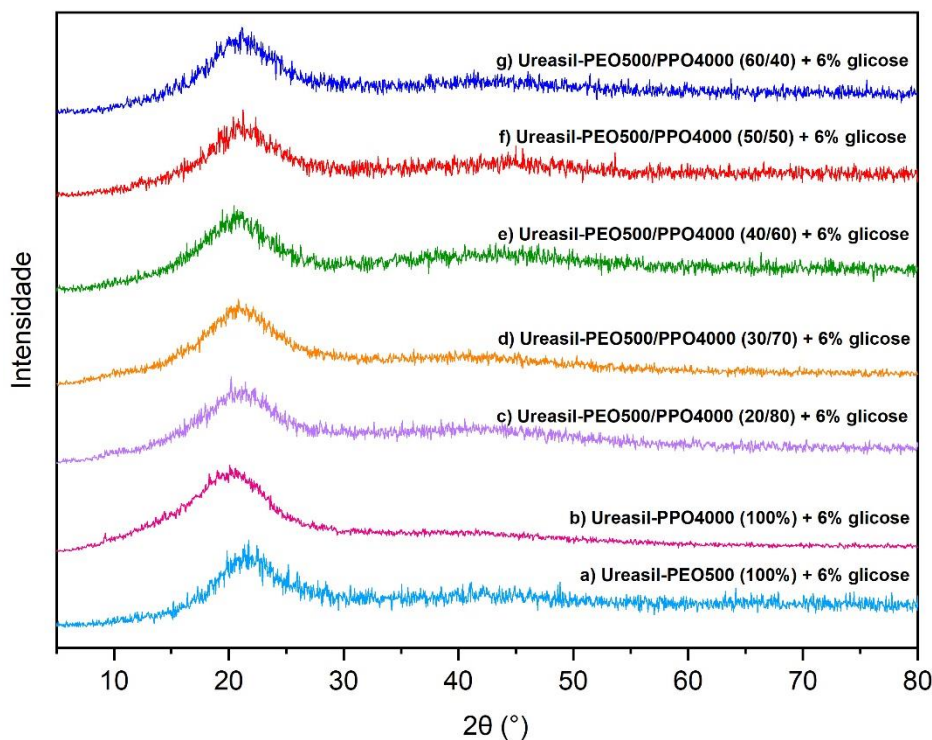


Fonte: Dados da pesquisa.

Para todas as membranas analisadas, podemos observar apenas a presença de um pico alargado, representativo das regiões inorgânicas de siloxano amorfo dos híbridos ureasil-poliéter (CARLOS et al., 1999; CHIAVACCI et al., 2004).

A figura 19 apresenta os difratogramas de raios X das membranas híbridas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 contendo 6% de glicose em diferentes proporções.

Figura 19. Difrátogramas de raios X da membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (a); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (b); e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000: 20/80 (c); 30/70 (d); 40/60 (e); 50/50 (f); 60/40 (g), respectivamente, contendo 6% de glicose.



Fonte: Dados da pesquisa.

Na figura 19, assim como observado para os difratogramas da figura 18, verifica-se apenas um pico alargado em todas as membranas, característico dos materiais híbridos não cristalinos.

Observa-se que os picos finos e bem definidos característicos da glicose não estão presentes nas membranas híbridas que a contém, independentemente de serem formadas por ureasil-PEO ou ureasil-PPO puros ou em mistura. Isso pode ter acontecido ou pelo fato da glicose estar presente em pequena quantidade, por ter se tornado amorfa ou por ter sido completamente solubilizada ao ser incorporada na matriz polimérica. Esta última hipótese está de acordo com os resultados obtidos na incorporação da glicose a partir do aspecto visual das membranas, apresentados no item 5.1.

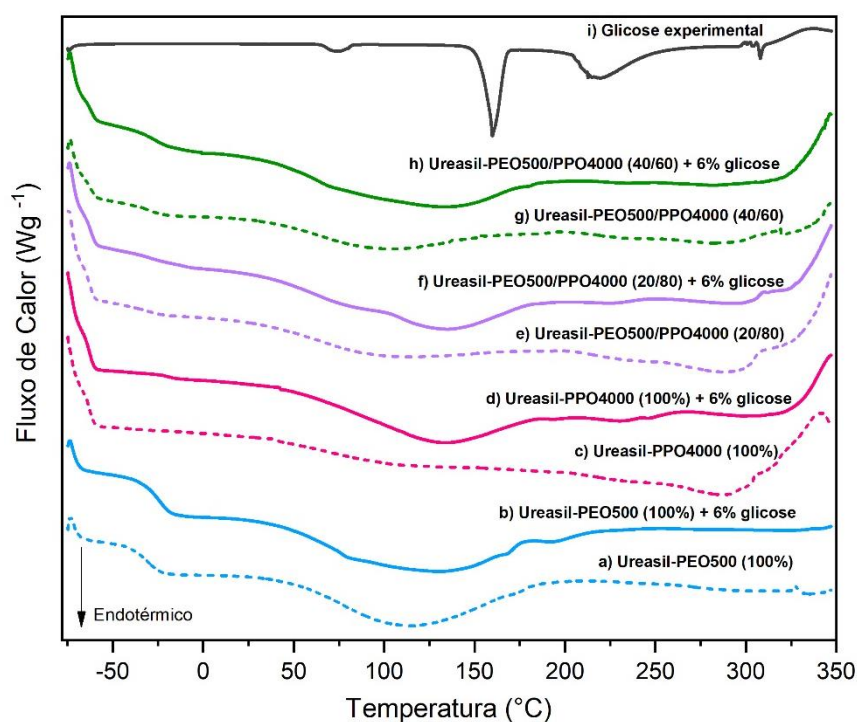
5.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de DSC possibilita detectar as propriedades térmicas dos materiais para correlacioná-las com as propriedades físicas, e assim, acompanhar as mudanças das transições de fases ocasionadas por transições de segunda ordem como a transição vítrea e primeira ordem como a fusão (CASSU; FELISBERTI, 2005; GILL; MOGHADAM; RANJBAR, 2010). As alterações nos eventos térmicos provocadas pela incorporação do ativo podem fornecer informações sobre as interações ativo-matriz.

Para fins de comparação, assim como no DRX, foi realizada a avaliação da glicose incorporada nas membranas híbridas (chamada de glicose experimental), para auxiliar na identificação e discussão dos resultados das curvas de DSC das membranas. A figura 20 apresenta a curva de DSC da glicose experimental e as curvas de DSC das membranas preparadas a partir dos precursores puros, ureasil-PEO500 e ureasil-PPO4000 contendo e não contendo 6% de glicose, e das membranas híbridas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 e 40/60 contendo e não contendo 6% de glicose. Essas proporções foram escolhidas por apresentarem características mecânicas e de intumescimento intermediárias e desejáveis para futura aplicação.

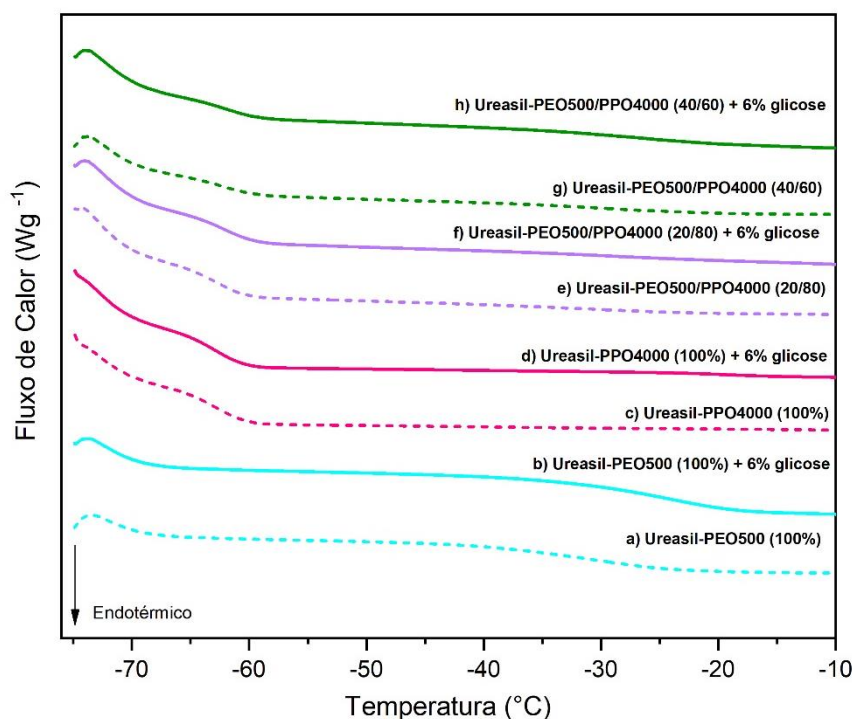
A figura 21 apresenta uma ampliação da região na qual a temperatura de transição vítrea (T_g) das membranas ureasil-poliéter foram observadas, e seus respectivos valores estão descritos na tabela 4.

Figura 20. Curvas de DSC da membrana ureasil-PEO500 sem glicose (a); membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (b); membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (c); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (d); membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000: 20/80 sem glicose (e); 20/80 contendo 6% de glicose (f); 40/60 sem glicose (g); 40/60 contendo 6% de glicose (h); glicose experimental (i).



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 21. Ampliação das curvas de DSC da região da temperatura de transição vítrea (T_g) da membrana ureasil-PEO500 sem glicose (a); membrana ureasil-PEO500 contendo 6% de glicose (b); membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (c); membrana ureasil-PPO4000 contendo 6% de glicose (d); membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000: 20/80 sem glicose (e); 20/80 contendo 6% de glicose (f); 40/60 sem glicose (g); 40/60 contendo 6% de glicose (h).



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 4. Valores de Tg (°C) obtidos a partir das curvas de DSC para membrana ureasil-PEO500 e membrana ureasil-PPO4000 não contendo e contendo 6% de glicose; e membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60 não contendo e contendo 6% de glicose, respectivamente.

Material	Tg (°C)
Ureasil-PEO500 (100%)	- 30,40
Ureasil-PEO500 (100%) + 6% glicose	- 23,90
Ureasil-PPO4000 (100%)	- 62,80
Ureasil-PPO4000 (100%) + 6% glicose	- 62,92
Ureasil-PEO500/PPO4000 (20/80)	- 62,82
Ureasil-PEO500/PPO4000 (20/80) + 6% glicose	- 62,99
Ureasil-PEO500/PPO4000 (40/60)	- 62,20
Ureasil-PEO500/PPO4000 (40/60) + 6% glicose	- 62,34

Fonte: Dados da pesquisa.

Observamos na figura 20 - i que a curva de DSC da glicose experimental apresenta um pico endotérmico em 75°C equivalente à desidratação da glicose, um pico de fusão em 160°C, acompanhado por dois picos endotérmicos em 219°C e 308°C e um pico exotérmico em 332°C relacionados com as etapas de decomposição do ativo. Estes dados estão em conformidade os dados de FREIRE, 2010 que obteve valores próximos utilizando a mesma metodologia (FREIRE, 2010). O ponto de fusão propicia informações importantes para a caracterização de materiais, como identificação e pureza. As temperaturas de fusão dos açúcares não apresentam um consenso na literatura, para a glicose os valores de temperatura variam entre 146 e 165°C (HURTTA; PITKÄNEN; KNUUTINEN, 2004; ROJEK; WESOLOWSKI, 2019; WANG et al., 2019), mas existem relatos de temperatura de decomposição acima de 200°C (ROJEK; WESOLOWSKI, 2019).

De acordo com as figuras 20 e 21 e com a tabela 4, todas as membranas analisadas, as temperaturas de transição vítrea apresentaram valores negativos.

Valores de T_g negativos estão associados com a característica de alta flexibilidade dos polímeros, portanto, quanto mais próximo de zero for o valor de T_g , maior a rigidez da cadeia polimérica (MENDES et al., 2021).

As membranas ureasil-PEO500 não contendo e contendo glicose apresentaram resultados mais próximos de zero, dessa forma, indicando maior rigidez em comparação com as demais, assim como foi verificado nos resultados de resistência mecânica no DMA no item 5.3. Esse fato pode estar associado ao número maior de nós de reticulação devido a cadeia polimérica das membranas ureasil-PEO500 apresentarem menor massa molecular.

Entre as membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000, observamos um discreto aumento do valor de T_g (mais próximo de zero) quando a proporção de ureasil-PEO500 é aumentada, no entanto, não são diferenças significativas e prevalecem as características de T_g da maior proporção de ureasil-PPO4000.

Na avaliação do possível impacto da incorporação de glicose nas membranas, observamos que o valor de T_g aumentou de $-30,40^{\circ}\text{C}$ para $-23,90^{\circ}\text{C}$ quando a glicose foi incorporada na membrana ureasil-PEO500, indicando um aumento da rigidez da membrana. Por outro lado, houve uma discreta diminuição dos valores de T_g quando a glicose foi incorporada na membrana ureasil-PPO4000, e nas proporções de mistura ureasil-PEO500/PPO4000. Sugerindo que as moléculas da glicose podem não afetar a rigidez das cadeias poliméricas PPO significativamente. Resultados semelhantes foram relatados por LOPES et al., 2012 quando adicionado o fármaco diclofenaco de sódio nas matrizes ureasil-PEO1900 e ureasil-PEO500, e por MOLINA et al., 2013 na incorporação de ibuprofeno em Jeffamine® T-5000 (PPO).

Seguindo a avaliação das curvas de DSC (figura 20), na região entre 80°C e 180°C verifica-se um pico endotérmico alargado em todas as membranas, relacionado com a presença de resíduo de solventes remanescentes da síntese do material, como etanol e/ou água. As pequenas variações desses picos entre as amostras testadas podem estar relacionadas com o grau de hidrofiliicidade, tamanho da cadeia polimérica, e/ou com a quantidade de solvente presente em

cada uma, mesmo após a secagem do material (LOPES et al., 2012). A perda da água normalmente é observada em temperaturas inferiores a 100°C, porém, pode ocorrer o aprisionamento dentro da rede polimérica, ocasionando o aumento da temperatura de saída (ZALDIVAR, 2015).

Quando comparamos a curva de DSC da glicose experimental (figura 20 - i) com as curvas de DSC das membranas contendo glicose (figura 20 – b, d, f, h), observa-se que os picos característicos da glicose não estão presentes nas membranas híbridas que a contém, independentemente de serem formadas por ureasil-PEO ou ureasil-PPO puros ou em mistura. Isso pode ter acontecido ou pelo fato da glicose ter se tornado amorfa ou por ter sido completamente solubilizada ao ser incorporada na matriz polimérica, assim como foi visto nos resultados de DRX.

Neste trabalho, nenhum dos materiais testados apresentou pico de fusão, por esse motivo não foram calculados grau de cristalinidade. A literatura relata que polímeros PEO podem não apresentar picos de fusão quando a massa molecular está abaixo de 1000 g mol^{-1} , em que o tamanho da cadeia polimérica não é suficiente para cristalizar (LOPES et al., 2012; QIAO et al., 2004).

A inexistência do pico de fusão nas curvas de DSC de todas as membranas testadas revela a característica amorfa dos materiais, corroborando com os resultados do DRX. Além do mais, destacamos também uma alta estabilidade térmica das membranas, em razão da ausência de picos relacionados a decomposição do material.

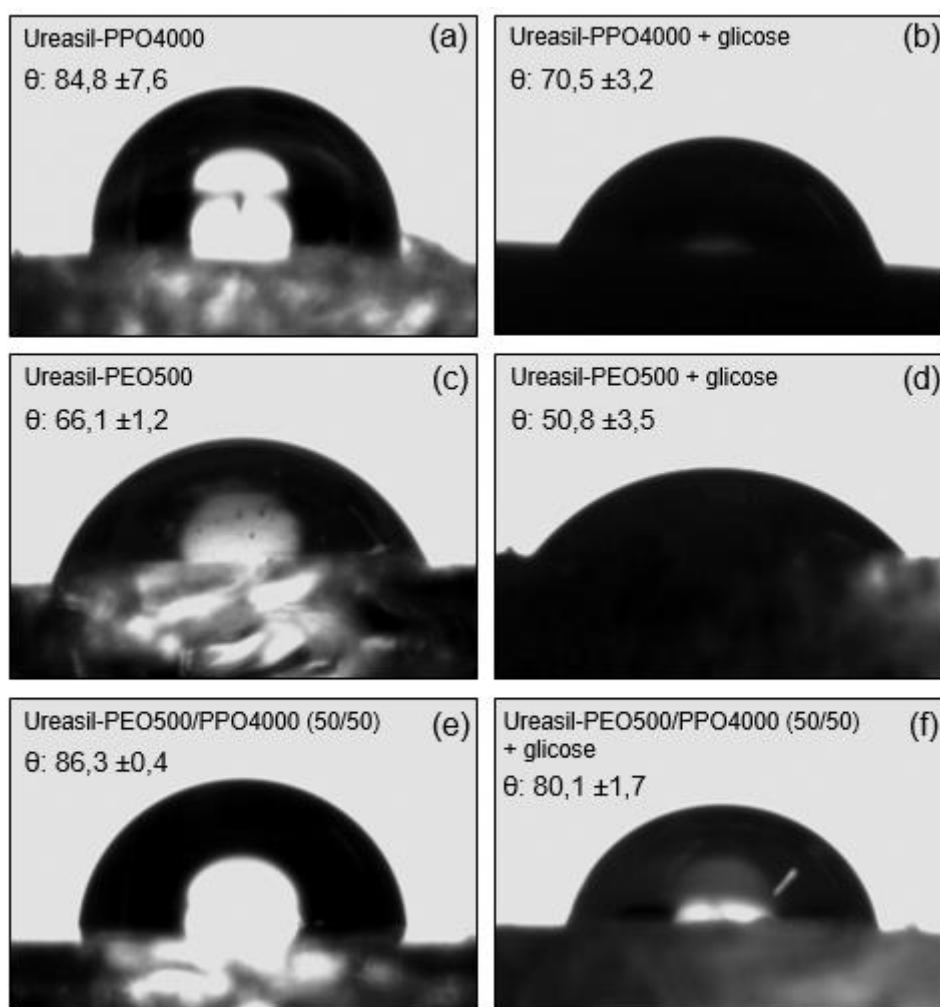
5.6 Avaliação do Ângulo de Contato (Molhabilidade) das Membranas Ureasil-poliéter

As medidas dos ângulos de contato da água com as membranas preparadas a partir dos precursores puros, ureasil-PPO4000 e ureasil-PEO500 contendo e não contendo 6% de glicose, e a mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 50/50 contendo e não contendo 6% de glicose, foram realizadas para analisar a hidrofobicidade das membranas nas condições

extremas dos precursores puros e em 50% de mistura de cada, e para comparar o efeito da presença da glicose na avaliação da molhabilidade do material pela água.

As imagens e informações apresentadas na figura 22 permitem comparar a diferença do espalhamento da gota de água na superfície das membranas ureasil-poliéter e seus respectivos valores de ângulos de contato.

Figura 22. Imagens e valores do ângulo de contato ($^{\circ}$) da membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (a) e contendo 6% de glicose (b); membrana ureasil-PEO500 sem glicose (c) e contendo 6% de glicose (d); e membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 na proporção 50/50 sem glicose (e) e contendo 6% de glicose (f). Os resultados estão expressos com a média $\pm$ EP da triplicata ($n = 3$).



Fonte: Dados da pesquisa.

Observa-se que o menor espalhamento sobre a superfície ocorreu na membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 na proporção 50/50 sem glicose (figura 22 – e) que resultou em uma gota semi-esférica com valor de ângulo de contato médio próximo de 90°, assim como ocorreu também para a membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (figura 22 – a). Por outro lado, a membrana ureasil-PEO500 sem glicose (figura 22 - c) apresentou média de ângulo de contato de $\approx 66^\circ$.

Portanto, evidenciamos o caráter mais hidrofóbico da membrana contendo ureasil-PPO4000 puro, assim como, para a membrana contendo apenas 50% deste precursor. Para a membrana ureasil-PEO500 o ângulo de contato da água é bem menor e o espalhamento da gota é bem maior que o medido para as membranas obtidas a partir do precursor PPO4000. Isso acontece pelo fato do polímero PPO4000 apresentar caráter mais hidrofóbico que o polímero PEO500, onde essa alta hidrofobicidade repele a gota de água, que contrai sua superfície na tentativa de diminuir ao máximo o contato com a membrana (OSHIRO et al., 2021; OSHIRO JUNIOR; SHIOTA; CHIAVACCI, 2014). Além disso, a literatura diz que superfícies com ângulos de contato maiores ou próximos de 90° são considerados altamente hidrofóbicas (GRUNDKE et al., 2015; PAVLENKO; CHERKASHINA, 2018). Estes resultados corroboram com os perfis de intumescimento descritos anteriormente, em que, membrana com natureza hidrofóbica mais elevada apresenta menor afinidade pelo meio e deste modo, exibe menor intumescimento.

Os resultados dos ângulos de contato para as membranas ureasil-poliéter preparadas a partir dos precursores puros contendo 6% de glicose foram em média $\approx 71^\circ$ para ureasil-PPO4000 (figura 22 - b) e $\approx 51^\circ$ para ureasil-PEO500 (figura 22 - d) e para a membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 na proporção 50/50 (figura 22 - f) contendo 6% de glicose foi de $\approx 80^\circ$, portanto, todas as membranas apresentaram diminuição do ângulo de contato, e consequentemente um aumento na hidrofiliidade quando comparadas com as membranas preparadas sem a presença da glicose. Com isso, podemos sugerir que tal resultado está associado à natureza hidrofílica da glicose, ou seja, é um indício do aumento de grupos hidrofílicos na superfície das membranas (FRANCISCO JUNIOR, 2008; MACÊDO et al., 2012).

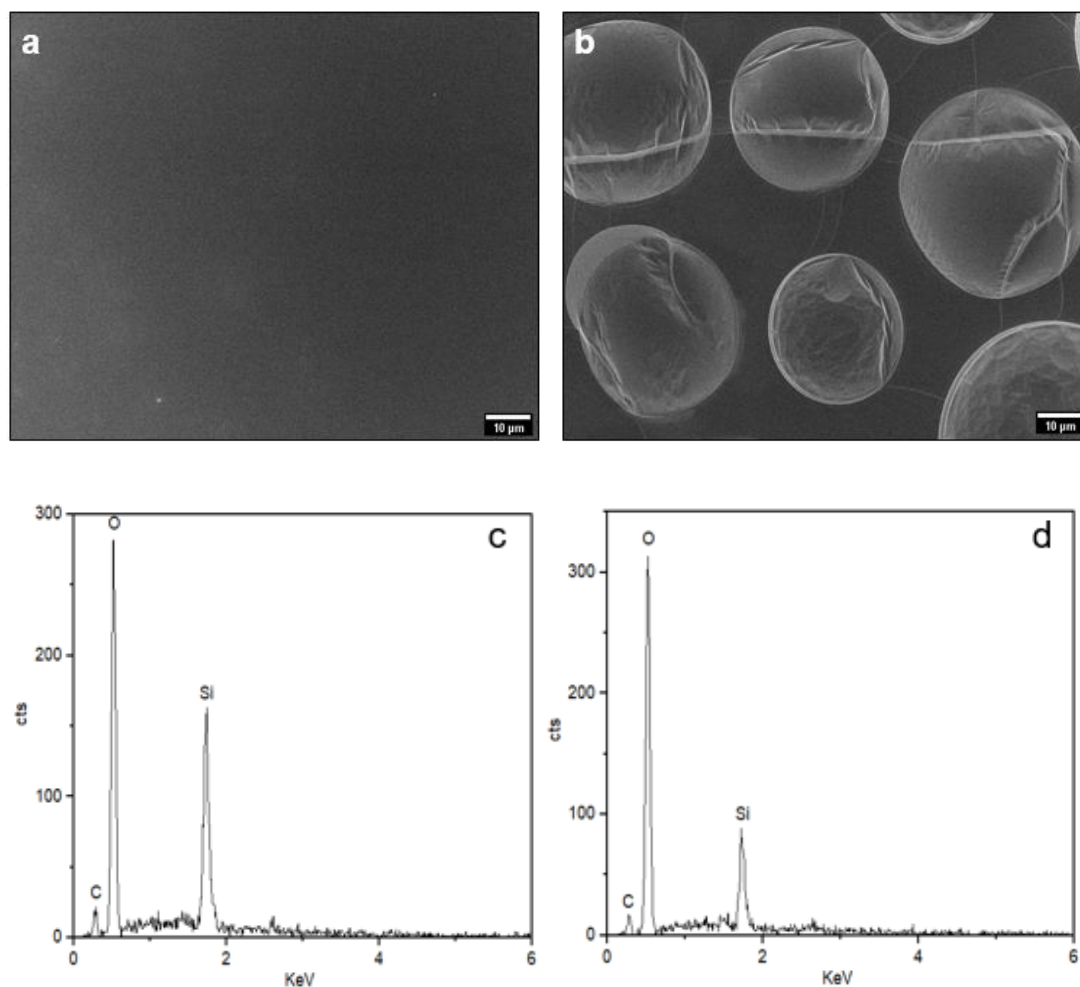
5.7 Bioatividade *in vitro* das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF

A análise em relação a bioatividade das membranas ureasil-poliéter foi realizada através de testes *in vitro* em solução SBF, visto que, há relatos na literatura que uma grande parte dos materiais bioativos podem formar uma camada de apatita em sua superfície quando em contato com a solução SBF *in vitro* por um tempo, dependendo do material esse tempo pode variar de 1 a 3 dias, ou mais (KOKUBO; YAMAGUCHI, 2019). Dessa forma, através dessa camada, aumenta a probabilidade de ocorrer *in vivo* uma forte ligação química entre o material bioativo (íons) e o osso (KOKUBO; TAKADAMA, 2006), com possibilidade de favorecer o processo de cicatrização em todo o defeito ósseo.

A avaliação da superfície das membranas antes e após a imersão em SBF por 12 horas, 24 horas, 3 dias, 7 dias e 14 dias, sua morfologia e a análise elementar qualitativa foram realizadas por MEV / EDS.

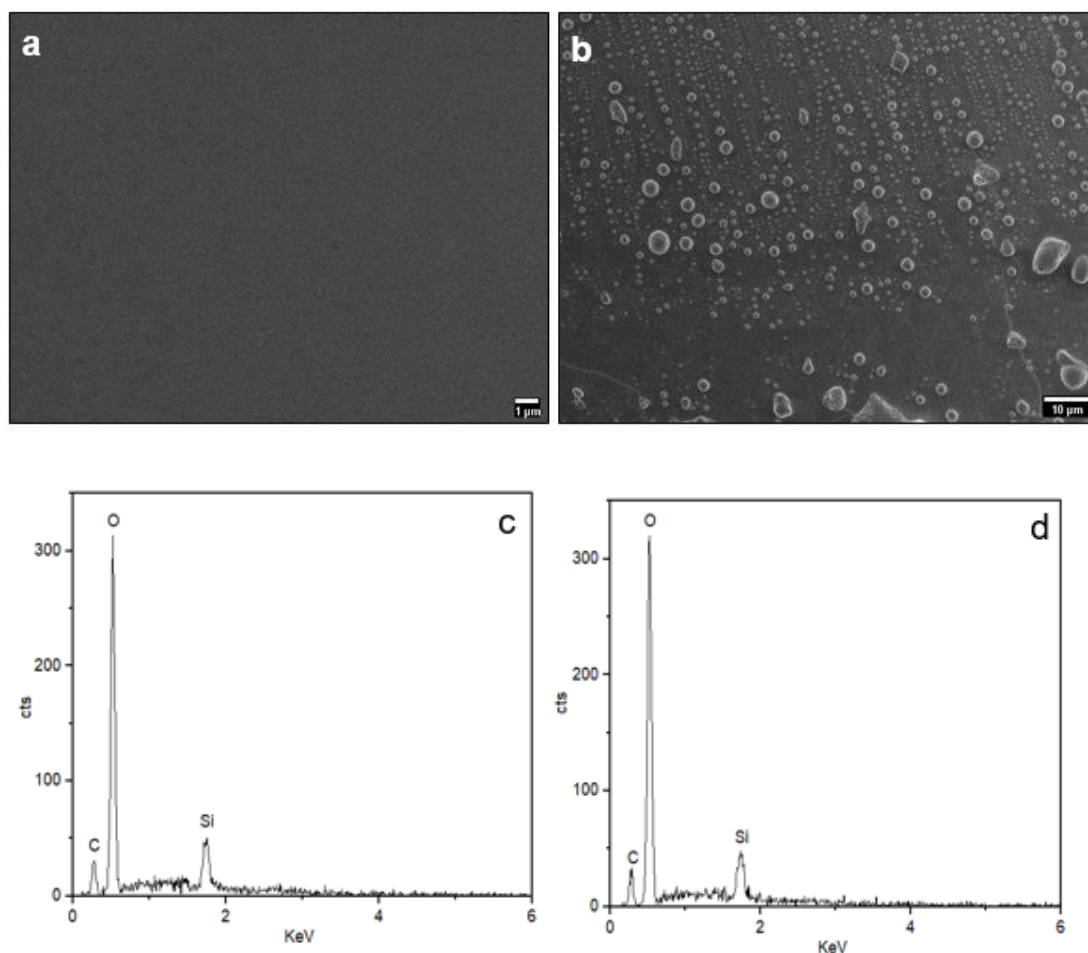
Inicialmente analisou-se a superfície das membranas híbridas ureasil-PEO500 e ureasil-PPO4000 contendo e não contendo glicose, sem imersão em solução SBF. As imagens das microscopias e os espectros de EDS estão apresentadas nas figuras 23 e 24.

Figura 23. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e Espectros de EDS da superfície da membrana ureasil-PEO500 sem glicose (a) e (c), e com glicose (b) e (d), sem imersão em solução SBF.



Fonte: Dados da pesquisa.

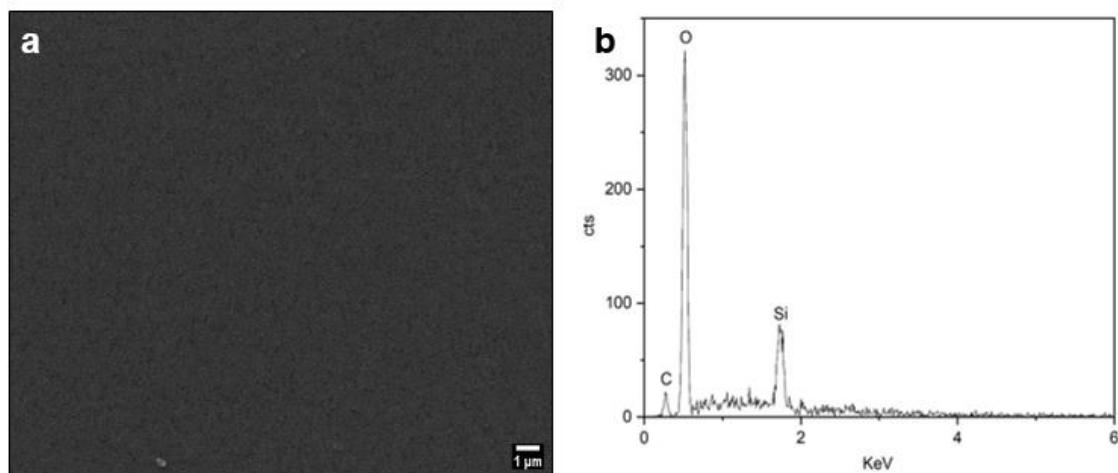
Figura 24. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e Espectros de EDS da superfície da membrana ureasil-PPO4000 sem glicose (a) e (c), e com glicose (b) e (d), sem imersão em solução SBF.



Fonte: Dados da pesquisa.

Analisou-se também a superfície da membrana híbrida preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 não contendo glicose, sem imersão em solução SBF. A imagem de microscopia e o espectro de EDS estão apresentadas na figura 25.

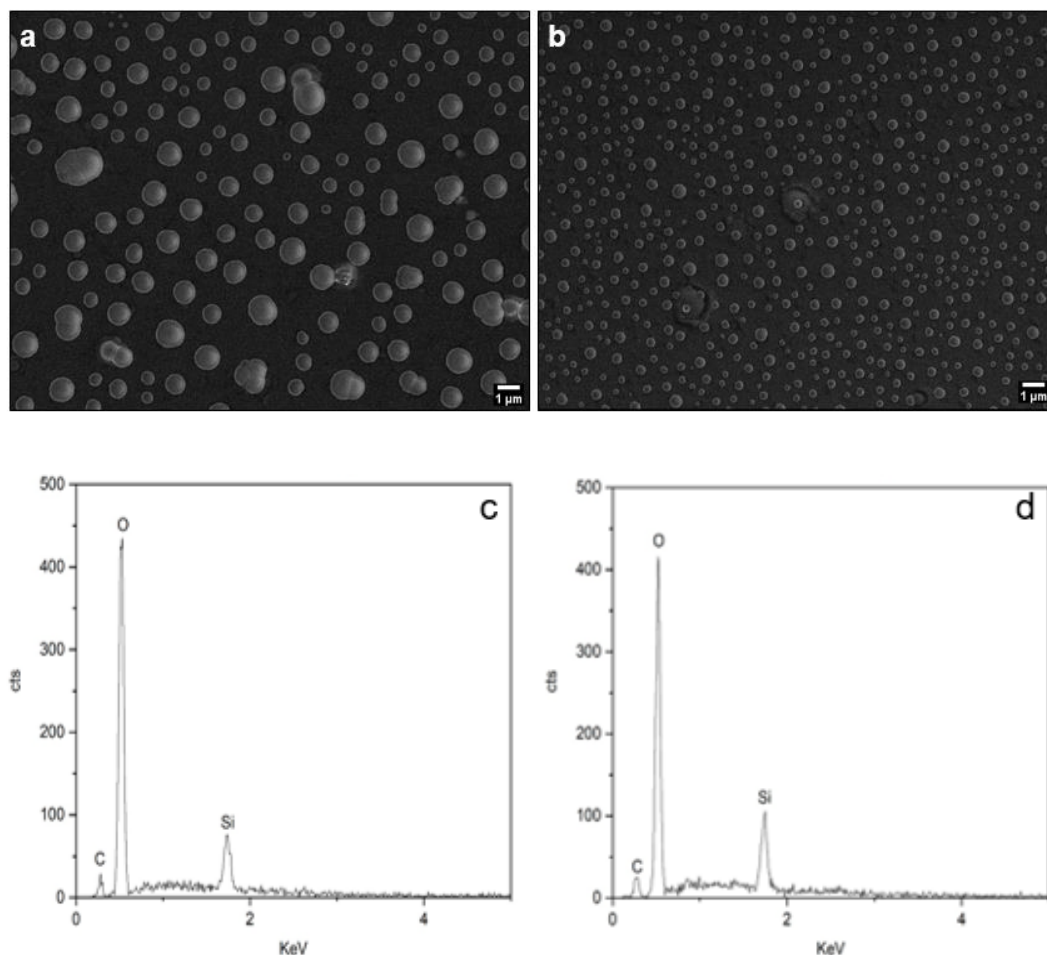
Figura 25. Imagem de microscopia eletrônica de varredura (a) e Espectro de EDS (b) da superfície da membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 sem glicose, sem imersão em solução SBF.



Fonte: Dados da pesquisa.

Em seguida, foram avaliadas as superfícies das membranas híbridas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 contendo glicose nas proporções 20/80 e 40/60, antes da imersão em solução SBF. As imagens de microscopia e os espectros de EDS destas estão apresentadas na figura 26.

Figura 26. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e Espectros de EDS das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 (a) e (c); 40/60 (b) e (d), contendo 6% de glicose, antes da imersão em solução SBF.



Fonte: Dados da pesquisa.

Podemos observar nas imagens das figuras 23, 24 e 25 que as membranas sem glicose apresentam uma superfície completamente lisa e homogênea, indicando ausência de partículas, precipitados ou bolhas.

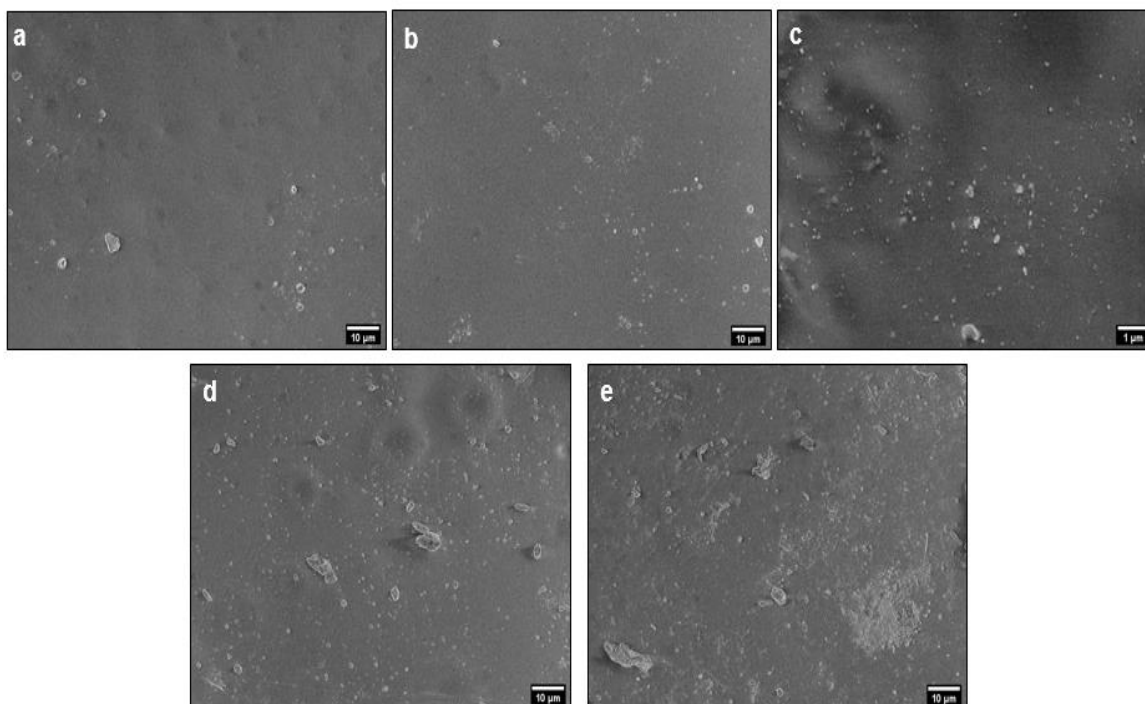
Por outro lado, ambas as imagens das figuras 23, 24, 25 e 26 das membranas com glicose apresentam superfície lisa, porém com bolhas. Sugerimos que essas bolhas estejam relacionadas com a presença de resíduo de solvente remanescente da síntese do material, mesmo após a secagem, considerando as quantidades utilizadas no processo sol-gel durante a formação

da membrana e também associado à natureza hidrofílica da glicose incorporada. Assim, a hipótese é justificada através do fato de ocorrer menor perda de massa na formação das membranas com glicose, o que corrobora com a possibilidade do solvente estar aprisionado no interior ou na superfície da membrana.

Os espectros das figuras 23, 24, 25 e 26 tanto para as membranas com glicose, quanto para as membranas sem glicose, mostram apenas picos dos elementos químicos carbono (C), oxigênio (O) e silício (Si), que são os elementos constituintes da membrana híbrida ureasil-poliéter (SANTILLI et al., 2009).

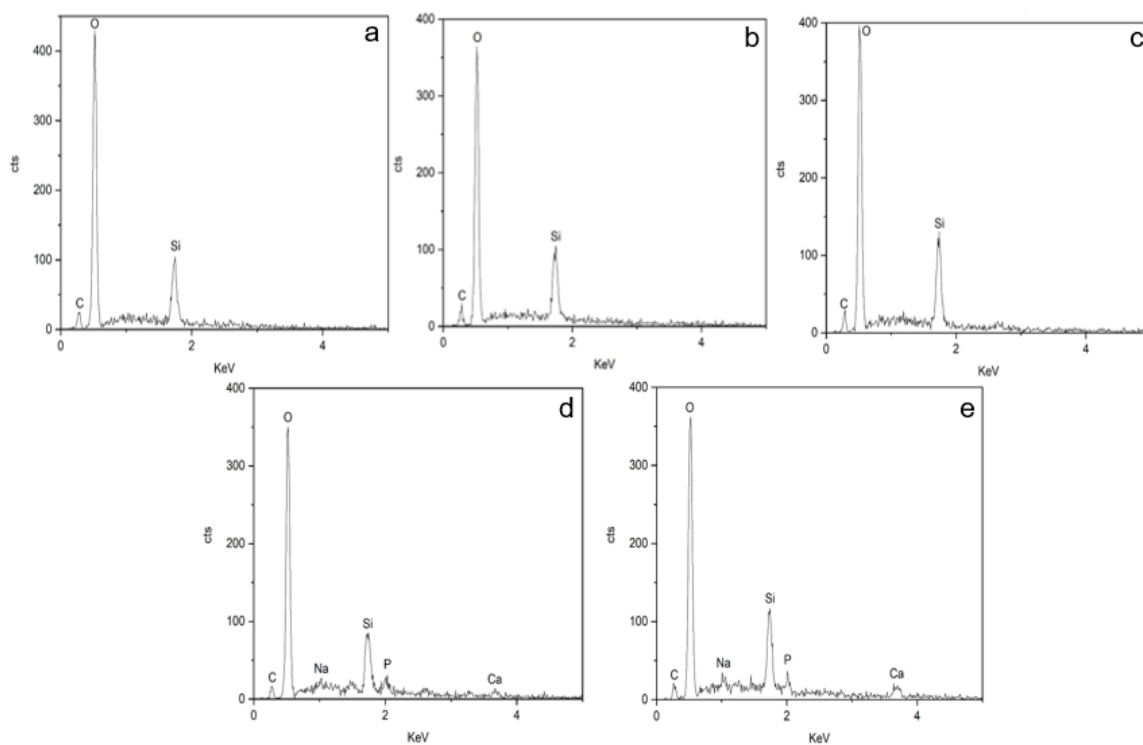
As imagens de microscopia e os respectivos espectros de EDS das superfícies das membranas híbridas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60, contendo 6% de glicose, após a imersão em solução SBF nos tempos determinados estão apresentadas nas figuras de 27 a 30.

Figura 27. Imagens de microscopia eletrônica de varredura das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e).



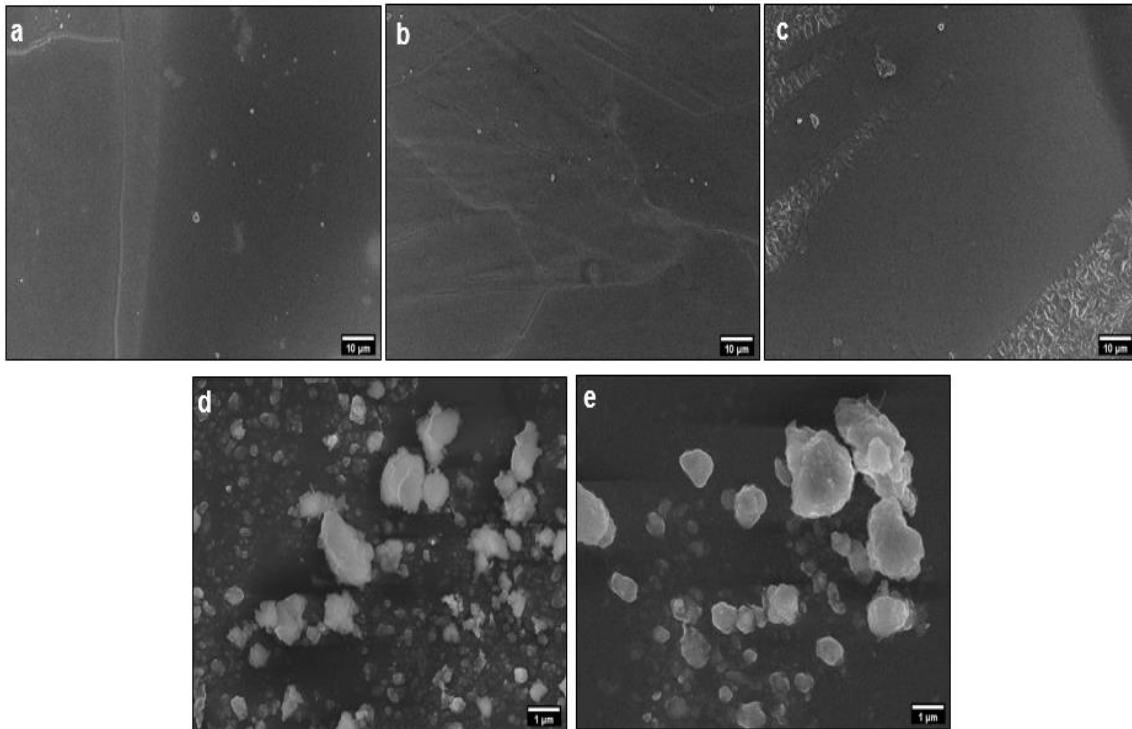
Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 28. Espectros de EDS das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 20/80 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e).



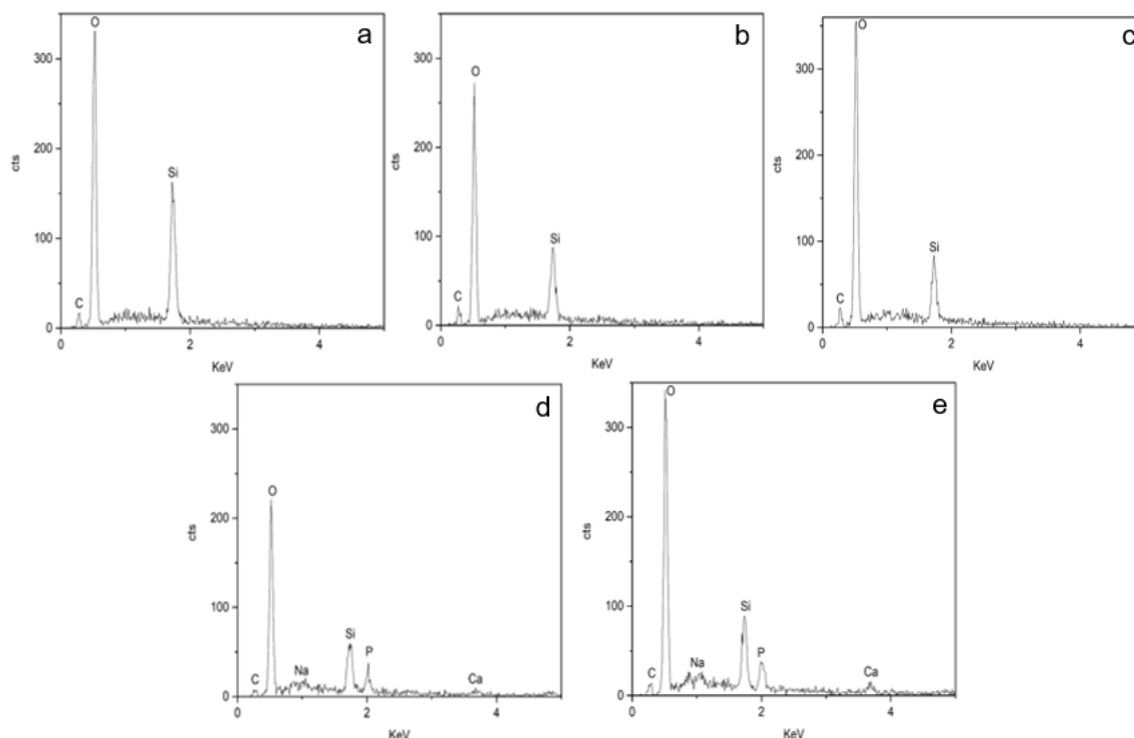
Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 29. Imagens de microscopia eletrônica de varredura das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 40/60 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e).



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 30. Espectros de EDS das superfícies das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 - 40/60 contendo 6% de glicose imersos em solução SBF por 12 horas (a), 24 horas (b), 3 dias (c), 7 dias (d) e 14 dias (e).



Fonte: Dados da pesquisa.

Nota-se modificações superficiais nas membranas (figuras 27 e 29), mantendo superfície lisa, mas com deposição de precipitados. Com a evolução do tempo de imersão em SBF, observa-se o aumento gradativo do número de precipitados e agregados.

Em destaque estão as imagens (figura 27 - d/e; 29 - d/e) e os espectros (figura 28 - d/e; 30 - d/e) das superfícies das membranas após a imersão por 7 e 14 dias nas duas proporções das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores analisadas, onde o número de precipitados e agregados são maiores e indicam a presença dos elementos cálcio (Ca) e fósforo (P) nos espectros de EDS que são característicos da hidroxiapatita, os quais não são observados antes da imersão em SBF e até 3 dias após a imersão. Contudo nos espectros de EDS também são encontrados os elementos carbono (C), oxigênio

(O) e silício (Si) característicos da composição das membranas. Ainda que esses agregados não apareçam de forma homogênea na superfície avaliada, eles estão presentes e podem indicar o início da formação de hidroxiapatita, principalmente com a avaliação dos resultados obtidos na análise de EDS. Observações semelhantes foram reportadas por BIGHAM et al., 2020; SABER-SAMANDARI et al., 2016 e SUTHA et al., 2013.

Os elementos químicos encontrados qualitativamente nas superfícies das membranas com maior tempo de imersão são os principais componentes da hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), sugerindo assim a formação da camada de hidroxiapatita (CATAURO et al., 2015; KOKUBO et al., 1990; SOSSA et al., 2018). Devido a capacidade do material de levar a formação da camada dos núcleos de apatita, o processo contínuo do consumo dos íons cálcio e fosfato presentes na solução SBF contribuem para o crescimento espontâneo da apatita na superfície (MARY et al., 2020; SABER-SAMANDARI et al., 2016; TAKADAMA; KOKUBO, 2008).

Pesquisas demonstram a importância da presença de grupos funcionais nos materiais bioativos, para que ocorra a nucleação da apatita (KOKUBO; YAMAGUCHI, 2019). Há relatos que a existência de grupos Si-OH, SiO_2 e Na_2O nos materiais contribuem para a formação da hidroxiapatita na superfície dos mesmos (CATAURO et al., 2015; MUNDSTOCK et al., 2012; PADILLA et al., 2006). O elemento Si é reconhecido pela sua capacidade de atuar na formação de apatita (TOSKAS et al., 2013), e as vantagens do uso de Si relaciona-se diretamente ao envolvimento deste na mineralização óssea (MARY et al., 2020; PADILLA et al., 2006).

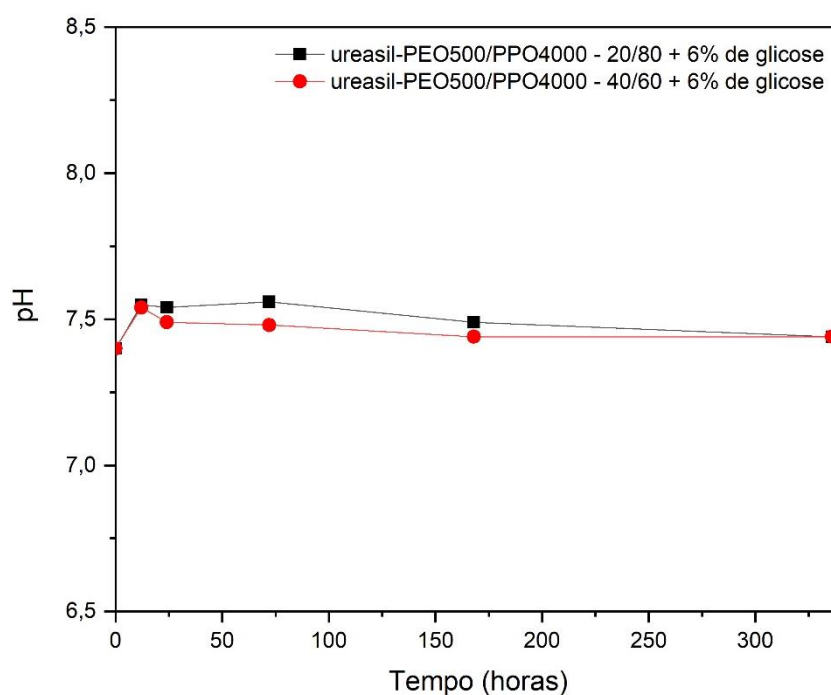
Em resposta a avaliação da bioatividade *in vivo*, OSHIRO et al., 2017 constataram que membranas ureasil-poliéter formaram osso em quantidade e qualidade semelhantes a membrana de colágeno comercial (Infuse®). Da mesma forma, SEOL et al., 2010 expõem que materiais compostos por hidroxiapatita/sílica quando implantados favoreceram a formação óssea.

Com os resultados obtidos nesta análise, podemos dizer que há indicativos que as membranas ureasil-poliéter testadas são bioativas, isto é, são capazes de favorecer a ligação entre o material e o tecido ósseo a partir da formação da

camada de hidroxiapatita na superfície do material e que pode ser usada futuramente como um bom indutor de regeneração óssea.

As variações dos valores de pH da solução SBF em função do tempo de imersão das membranas ureasil-poliéter estão apresentadas na figura 31. A solução SBF inicialmente possuía pH 7,4 e esse valor foi considerado como ponto de partida.

Figura 31. Medidas de pH da solução SBF em função do tempo de imersão das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose por 12 horas, 24 horas, 72 horas (3 dias), 168 horas (7 dias) e 336 horas (14 dias).



Fonte: Dados da pesquisa.

Observa-se que as membranas ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo glicose apresentaram resultados similares durante os 14 dias testados, os valores de pH ficaram entre 7,44 e 7,56. A faixa de pH conhecida como adequada para as células fica entre 7,0 – 7,8 (GREENBAUM; NIRMALAN, 2005). A verificação da variação do pH é de extrema importância para a biocompatibilidade do material, visto que alterações bruscas podem causar danos às células, como por exemplo, os osteoblastos preferem condições

alcalinas com pH próximos a 7,8 (BELLUCCI et al., 2011). Desta forma, conclui-se que as membranas não modificaram o valor de pH da solução SBF para valores diferentes dos aceitáveis.

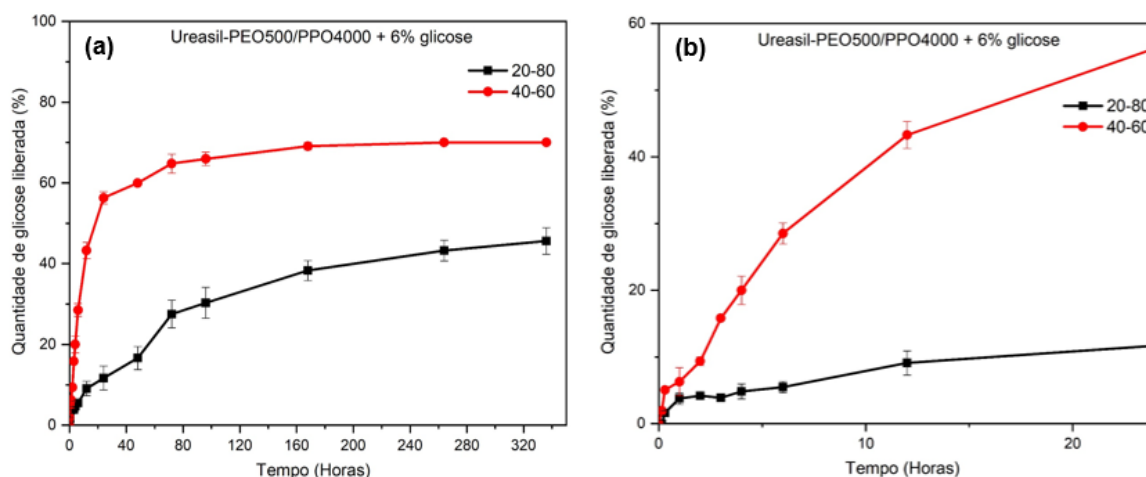
5.8 Liberação da Glicose *in vitro* a Partir das Membranas Ureasil-poliéter em Solução SBF

O estudo do perfil de liberação *in vitro* em solução SBF foi realizado com o intuito de quantificar o ativo liberado da matriz em função do tempo, assim como a cinética do mecanismo de liberação.

A figura 32 (a) mostra as curvas de liberação (porcentagem de glicose liberada) a partir das membranas preparadas com a mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose, nos tempos definidos. A figura 32 (b) apresenta o mesmo resultado, porém, em escala ampliada, com a finalidade de melhorar a visualização do perfil de liberação da glicose nas primeiras 24 horas do experimento.

A tabela 5 correlaciona as porcentagens de liberação da glicose nas amostras, durante todo o período testado (336h - 14 dias).

Figura 32. Liberação da glicose (%) a partir das membranas preparadas com a mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose em função do tempo de imersão em SBF, por 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas (1 dia), 48 horas (2 dias), 72 horas (3 dias), 96 horas (4 dias), 168 horas (7 dias), 264 horas (11 dias) e 336 horas (14 dias) (a); Ampliação da escala dos resultados em até 24 horas de liberação da glicose (b).



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 5. Porcentagem de glicose liberada a partir das membranas preparadas com a mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose, em função do tempo (h). Os resultados estão expressos com a média $\pm$ EP da triplicata ($n = 3$).

Tempo de liberação (h)	% Glicose liberada (Ureasil-PEO500/PPO4000 (20/80) + 6% glicose)	% Glicose liberada (Ureasil-PEO500/PPO4000 (40/60) + 6% glicose)
0	0,0	0,0
15 min	0,0 ($\pm$ 0,6)	1,9 ($\pm$ 0,6)
30 min	1,6 ($\pm$ 0,3)	5,1 ($\pm$ 0,2)
1h	3,8 ($\pm$ 0,9)	6,3 ($\pm$ 2,1)
2h	4,2 ($\pm$ 0,3)	9,4 ($\pm$ 0,6)
3h	3,9 ($\pm$ 0,0)	15,8 ($\pm$ 0,3)
4h	4,8 ($\pm$ 1,1)	20,0 ($\pm$ 2,1)
6h	5,5 ($\pm$ 0,9)	28,5 ($\pm$ 1,6)
12h	9,1 ($\pm$ 1,8)	43,3 ($\pm$ 2,0)
24h	11,7 ($\pm$ 3,0)	56,3 ($\pm$ 1,5)
48h	16,6 ($\pm$ 2,9)	60,0 ($\pm$ 0,3)
72h	27,5 ($\pm$ 3,4)	64,8 ($\pm$ 2,3)
96h	30,3 ($\pm$ 3,8)	66,0 ($\pm$ 1,7)
168h	38,3 ($\pm$ 2,5)	69,1 ($\pm$ 0,9)
264h	43,3 ($\pm$ 2,5)	70,0 ($\pm$ 0,5)
336h	45,6 ($\pm$ 3,3)	70,5 ($\pm$ 0,8)

Fonte: Dados da pesquisa.

Observa-se que nas duas amostras (figura 32 – a) ocorre um aumento gradual da glicose liberada para o meio em até aproximadamente 168h (7 dias) de experimento. Após esse período, pode-se verificar uma tendência das curvas em atingirem um patamar, especialmente para a membrana ureasil-PEO500/PPO4000 - 40/60, indicando que possivelmente o equilíbrio do estado estacionário (platô) da liberação foi ou está próximo de ser atingido (PAREDES et al., 2014).

Nota-se que para a membrana preparada a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 na proporção 40/60 nos primeiros 15

minutos de experimento foram liberados $\approx 1,9\%$ da glicose, enquanto que para a membrana ureasil-PEO500/PPO4000 com proporção 20/80 a liberação ainda não havia iniciado (0%). Esse comportamento de liberação se manteve em todo o tempo do experimento (14 dias), a membrana com maior proporção de ureasil-PEO500 (40%) liberou maior quantidade de glicose em 336h (70,5%), quando comparado com a proporção que continha 20% de ureasil-PEO500 que liberou 45,6%.

Assim como foi observado na avaliação do intumescimento (item 5.2), maiores concentrações de ureasil-PEO500 apresentaram o maior perfil de intumescimento, e por consequência, neste caso é esperado que ocorra maior liberação do ativo incorporado, através da rápida penetração de SBF no interior da matriz. Isso se dá pela característica de hidrofiliicidade da cadeia polimérica de ureasil-PEO500, como discutido anteriormente. Portanto, podemos concluir que há uma relação entre o intumescimento e o perfil de liberação, e que também é possível modular o perfil de liberação do ativo através da natureza do polímero, como por exemplo o equilíbrio hidrofílico/hidrofóbico da mistura dos precursores (MOLINA et al., 2010, 2014a; SANTILLI et al., 2009).

Os perfis de liberação revelam a atuação da matriz na liberação controlada da glicose. A manutenção da liberação do ativo pode estar relacionada ao tempo necessário para ocorrer o intumescimento da matriz, possibilitando assim a liberação do ativo para o meio (LI; MOONEY, 2016).

Para melhor entendimento do mecanismo de transporte de um ativo, faz-se necessário conhecer a cinética de liberação do processo. Neste estudo aplicamos diferentes modelos matemáticos de cinética, como Zero ordem, Primeira ordem, Korsmeyer-Peppas, Baker-Lonsdale, Higuchi e de Hixson-Crowell (COSTA; LOBO, 2001; SALOME; GODSWILL; IKECHUKWU, 2013), com auxílio do software Sigma Plot 10.

A seleção do modelo que melhor se aplica ao perfil de liberação é realizada através do valor do coeficiente de determinação (r^2) mais próximo de 1 (COSTA; LOBO, 2001). Assim, o modelo matemático que melhor se adequou às curvas de liberação da glicose a partir das membranas híbridas testadas, foi o proposto por Korsmeyer-Peppas (RITGER; PEPPAS, 1986, 1987), através da equação:

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

Onde:

M_t = Quantidade cumulativa de fármaco liberada no tempo (t);

M_∞ = Quantidade total do fármaco liberado em um tempo infinito;

k = Constante cinética de liberação que considera características estruturais e geométricas do sistema;

t = Tempo;

n = expoente de liberação que determina o mecanismo de liberação de acordo com o valor numérico.

Este modelo matemático é utilizado quando o mecanismo de liberação de um ativo não está bem compreendido, ou quando pode ocorrer mais de um mecanismo de liberação ao mesmo tempo (ZALDIVAR et al., 2017). A equação também pode ser utilizada para o estudo dos mecanismos de liberação a partir de matrizes poliméricas monolíticas (LOPES et al., 2012). Porém, os parâmetros desta equação só podem ser aplicados até que ocorra 60% de liberação total do ativo, percentual onde a equação é válida (PEPPAS; SAHLIN, 1989; RITGER; PEPPAS, 1986).

No modelo Korsmeyer-Peppas o mecanismo de transporte de liberação do ativo é definido a partir do valor do expoente “ n ”, considerando também a geometria do sistema. Neste caso, estão sendo avaliados sistemas cilíndricos que intumescem. Os valores de referência para a descrição do mecanismo de liberação encontram-se na tabela 6.

Tabela 6. Valores do expoente " n ", geometria do material e mecanismo de liberação definidos através da equação de Korsmeyer-Peppas.

Geometria do material	Expoente (n)	Mecanismo de liberação
Filme	0,5	Difusão Fickiana
	$0,5 < n < 1,0$	Transporte anômalo (não Fickiana)
	1,0	Transporte Caso II
Cilíndrica	0,45	Difusão Fickiana
	$0,45 < n < 0,89$	Transporte anômalo (não Fickiana)
	0,89	Transporte Caso II
Esférica	0,43	Difusão Fickiana
	$0,43 < n < 0,85$	Transporte anômalo (não Fickiana)
	0,85	Transporte Caso II

Fonte: (RITGER; PEPPAS, 1987)

Na tabela 7 encontram-se os valores do coeficiente de determinação (r^2), os valores do expoente " n ", mediante a equação de Korsmeyer-Peppas, e a classificação do mecanismo de liberação da glicose através das membranas testadas.

Tabela 7. Valores do coeficiente de determinação (r^2), valores do expoente " n " e mecanismo de liberação através da equação de Korsmeyer-Peppas para as curvas de liberação da glicose das membranas preparadas a partir da mistura dos precursores ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60.

Material	r^2	n	Mecanismo de liberação
Ureasil- PEO500/PPO4000 (20/80) + 6% glicose	0,9806	0,48	Transporte anômalo (não Fickiana)
Ureasil- PEO500/PPO4000 (40/60) + 6% glicose	0,9357	0,47	Transporte anômalo (não Fickiana)

Fonte: Dados da pesquisa.

Os valores do expoente “ n ” das duas proporções testadas ficaram entre 0,45 e 0,89, sendo 0,48 para ureasil-PEO500/PPO4000 – 20/80 e 0,47 para ureasil-PEO500/PPO4000 - 40/60, portanto, apresentam característica de cinética de transporte anômalo, ou seja, o processo de liberação ocorre mediante uma combinação dos mecanismos de difusão do ativo (Difusão Fickiana) e do transporte controlado através do intumescimento por meio do relaxamento da cadeia polimérica (Transporte Caso II) (RITGER; PEPPAS, 1987). A partir da mistura de precursores com caráter hidrofílico e hidrofóbico que apresentam estruturas amorfas e intumescem, de acordo com a literatura, esperava-se também a presença do mecanismo de liberação de Caso II (MOLINA et al., 2014b).

6. CONCLUSÕES

Membranas híbridas foram desenvolvidas a partir da mistura de variadas proporções dos precursores ureasil-PEO500 e PPO4000 com a incorporação de 6% de glicose (massa/massa) sem causar alterações visuais nas membranas.

Os resultados do teste de intumescimento mostraram que a diferença no balanço hidrofílico-hidrofóbico entre as proporções da mistura possibilitou controlar o perfil de intumescimento quando se compara com as membranas preparadas a partir dos precursores puros.

A análise mecânico dinâmica indicou que as membranas preparadas com maior concentração de ureasil-PPO4000 apresentam maior deformação e menor rigidez em relação as maiores concentrações de ureasil-PEO500 e que nenhuma membrana apresentou ruptura quando submetida a aplicação de uma elevada força de compressão (15 N).

Os difratogramas de raios X mostraram o caráter amorfo dos híbridos ureasil-poliéter, e a ausência da cristalinidade da glicose, sugerindo que a mesma solubiliza-se na matriz híbrida.

Nas curvas de DSC foi verificado valores negativos de Tg para todas as membranas, associados com a alta flexibilidade do material. Nenhum dos materiais apresentou pico de fusão, evidenciando novamente o caráter amorfo das membranas. Também não foram observados picos característico da glicose nas membranas híbridas que a contém, sugerindo novamente que a mesma solubiliza-se na matriz híbrida. Além disso, os resultados mostraram que as membranas apresentam alta estabilidade térmica.

Os valores dos ângulos de contato evidenciaram o caráter mais hidrofóbico da membrana contendo ureasil-PPO4000 puro, assim como, para a membrana contendo apenas 50% deste precursor, resultando em gota de água semi-esférica, com valores próximos de 90°. A incorporação da glicose nas membranas proporcionou um aumento na hidroflicidade quando comparadas com as membranas preparadas sem glicose.

As membranas apresentaram bioatividade *in vitro* quando imersas em solução SBF, através da precipitação de uma camada de apatita na sua superfície. Os resultados de pH da solução SBF ficaram entre 7,44 e 7,56 durante 14 dias, permanecendo dentro da faixa adequada para que não cause danos às células.

Os resultados de liberação da glicose revelaram que as membranas ureasil-PEO500/PPO4000 nas proporções 20/80 e 40/60 contendo 6% de glicose liberaram $\approx 46\%$ e $\approx 71\%$ respectivamente, durante 14 dias. O estudo da cinética de liberação *in vitro* da glicose mostrou que a liberação ocorre através de transporte anômalo, ou seja, a combinação dos mecanismos de difusão e de intumescimento.

Deste modo, concluímos que as membranas ureasil-poliéter desenvolvidas a partir da mistura dos precursores são visualmente homogêneas, bioativas, flexíveis, apresentam resistência térmica e mecânica, e principalmente, são capazes de incorporar e liberar a glicose de forma controlada, portanto, sugere-se que elas apresentam grande potencial para serem futuramente aplicadas para auxiliar no processo de regeneração óssea.

7. PERSPECTIVAS

Algumas avaliações futuras poderão ser essenciais para seguir com a futura aplicação das membranas híbridas ureasil-poliéster, como:

- Novas técnicas de caracterização para entender melhor o comportamento da incorporação da glicose nas membranas: Espectroscopia Raman, Espalhamento de raio X a baixo ângulo (SAXS), Ressonância Magnética Nuclear (RMN); Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR); Termogravimetria (TG);
- Degradação *in vitro* das membranas em solução SBF;
- Potencial das membranas em causar ou não causar hemólise;
- Estudos *in vivo* para avaliar a bioatividade das membranas, o auxílio na formação óssea, e a sobrevivência de células.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. A.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; GIULIETTI, M. Solubility of D-glucose in water and ethanol/water mixtures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 52, n. 6, p. 2166–2170, 2007.

AMINI, A. R.; LAURENCIN, C. T.; NUKAVARAPU, S. P. Differential analysis of peripheral blood- and bone marrow-derived endothelial progenitor cells for enhanced vascularization in bone tissue engineering. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 30, n. 9, p. 1507–1515, 2012.

ANITUA, E. et al. Plasma Rich in Growth Factors Promotes Bone Tissue Regeneration by Stimulating Proliferation, Migration, and Autocrine Secretion in Primary Human Osteoblasts. **Journal of Periodontology**, v. 84, n. 8, p. 1180–1190, 2013.

BECQUART, P. et al. Ischemia is the prime but not the only cause of human multipotent stromal cell death in tissue-engineered constructs in vivo. **Tissue Engineering - Part A**, v. 18, n. 19–20, p. 2084–2094, 2012.

BELLUCCI, D. et al. Macroporous Bioglass®-derived scaffolds for bone tissue regeneration. **Ceramics International**, v. 37, n. 5, p. 1575–1585, 2011.

BENVENUTTI, E. V. et al. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1926–1933, 2009.

BIGHAM, A. et al. On the bioactivity and mechanical properties of gehlenite nanobioceramic: A comparative study. **Journal of Medical Signals and Sensors**, v. 10, n. 2, p. 105–112, 2020.

BLACK, C. R. M. et al. Bone tissue engineering. **Bone Tissue Engineering**, v. 1, n. 3, p. 132–140, 2015.

BOSKEY, A. L. Bone composition: relationship to bone fragility and

antiosteoporotic drug effects. **BoneKey Reports**, v. 2, n. 447, p. 1–11, 2013.

CAETANO, B. L. et al. Magnetic hyperthermia-induced drug release from ureasil-PEO- γ -Fe₂O₃ nanocomposites. **RSC Advances**, v. 6, n. 68, p. 63291–63295, 2016.

CARAVIERI, B. B. et al. Solubility enhancement of ibuprofen using tri-ureasil-PPO hybrid: structural, cytotoxic, and drug release investigation. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 72, n. 3, p. 627–636, 2014.

CARAVIERI, B. B. et al. Ureasil Organic-Inorganic Hybrid as a Potential Carrier for Combined Delivery of Anti-Inflammatory and Anticancer Drugs. **ACS Applied Bio Materials**, v. 2, n. 5, p. 1875–1883, 2019.

CARLOS, L. D. et al. Sol-gel derived urea cross-linked organically modified silicates. 2. Blue-light emission. **Chemistry of Materials**, v. 11, n. 3, p. 581–588, 1999.

CASAGRANDE, S. et al. Biodegradable composite porous poly(dl-lactide-co-glycolide) scaffold supports mesenchymal stem cell differentiation and calcium phosphate deposition. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 46, n. sup1, p. 219–229, 2018.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento dinâmico-mecânico e relaxações em polímeros e blendas poliméricas. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 255–263, 2005.

CATAURO, M. et al. Influence of the polymer amount on bioactivity and biocompatibility of SiO₂/PEG hybrid materials synthesized by sol-gel technique. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 548–555, 2015.

CHATTERJEA, A. et al. Clinical application of human mesenchymal stromal cells for bone tissue engineering. **Stem Cells International**, v. 2010, n. 215625, p. 1–12, 2010.

CHIAVACCI, L. A. et al. Effect of presence of an acid catalyst on structure and properties of iron-doped siloxane-polyoxyethylene nanocomposites prepared by sol - Gel. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 345–346, p. 585–590, 2004.

CHUNG, R. et al. Segmental bone replacement via patient-specific, three-dimensional printed bioresorbable graft substitutes and their use as templates for the culture of mesenchymal stem cells under mechanical stimulation at various frequencies. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 115, n. 9, p. 2365–2376, 2018.

CLARKE, B. Normal bone anatomy and physiology. **Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN**, v. 3, n. S131–S139, p. 131–139, 2008.

COLÓN, C. J. P. et al. Muscle and Bone Mass Loss in the Elderly Population: Advances in diagnosis and treatment. **J Biomed (Syd)**, n. 3, p. 40–49, 2018.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles Paulo. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 123–133, 2001.

COWIN, S. C. **Bone mechanics**. 2. ed. N. W.: CRC Press, 2001.

CROISFELT, F. M. et al. Modified-release topical hydrogels: a ten-year review. **Journal of Materials Science**, v. 54, n. 16, p. 10963–10983, 2019.

CURREY, J. D. The structure and mechanics of bone. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 1, p. 41–54, 2012.

DAHMOUCHE, K. et al. Small-angle X-ray scattering study of sol-gel-derived siloxane-PEG and siloxane-PPG hybrid materials. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 24, p. 4937–4942, 1999.

DAS, S. C.; PRAKASH, A. A Systematic Review on Drug Delivery Systems

Based on Their Mechanism of Drug Release and Their Applications. **International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology**, v. 8, n. 3, p. 55–63, 2021.

DAVOODI, P. et al. Drug delivery systems for programmed and on-demand release. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 132, p. 104–138, 2018.

DESCHEPPER, M. et al. Survival and function of mesenchymal stem cells (MSCs) depend on glucose to overcome exposure to long-term, severe and continuous hypoxia. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 15, n. 7, p. 1505–1514, 2011.

DESCHEPPER, M. et al. Proangiogenic and Prosurvival Functions of Glucose in Human Mesenchymal Stem Cells Upon Transplantation. **Stem Cells**, v. 31, n. 3, p. 526–535, 2013.

DESCHEPPER, M. et al. **Time-Controlled Glucose Releasing Hydrogels and Applications Thereof** United States Patent US 9 931 433 B2, 2018.

DUMIC-CULE, I. et al. Bone morphogenetic proteins in fracture repair. **International Orthopaedics**, v. 42, n. 11, p. 2619–2626, 2018.

FENGBO, S. et al. Construction of drug-controlled release system - mesoporous silica nanoparticles. **Journal of Nanomedicine**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2019.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, n. 421746, p. 1–17, 2015.

FRANCISCO JUNIOR, W. E. Carboidratos: estrutura, propriedade e funções. **Química nova na escola**, n. 29, p. 8–13, 2008.

FREIRE, R. M. L. **Estudo da estabilidade térmica de adoçantes naturais e artificiais**. Dissertação de Mestrado em Química, Universidade Federal do Rio

Grande do Norte, 2010.

GAHARWAR, A. K. et al. Transparent, elastomeric and tough hydrogels from poly(ethylene glycol) and silicate nanoparticles. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 12, p. 4139–4148, 2011a.

GAHARWAR, A. K. et al. Highly extensible, tough, and elastomeric nanocomposite hydrogels from poly(ethylene glycol) and hydroxyapatite nanoparticles. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 5, p. 1641–1650, 2011b.

GAHARWAR, A. K. et al. Assessment of using Laponite® cross-linked poly(ethylene oxide) for controlled cell adhesion and mineralization. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 2, p. 568–577, 2011c.

GARCÍA-GARETA, E.; COATHUP, M. J.; BLUNN, G. W. Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration. **Bone**, v. 81, p. 112–121, 2015.

GAUER, L. et al. REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA ASSOCIADA A MEMBRANA DE POLITETRAFLUORETILENO EXPANDIDO (PTFE-e). **Tecnológica**, v. 3, n. 2, p. 60–67, 2015.

GILL, P.; MOGHADAM, T. T.; RANJBAR, B. Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience. **Journal of Biomolecular Techniques**, v. 21, n. 4, p. 167–193, 2010.

GÓMEZ-BARRENA, E. et al. Bone fracture healing: Cell therapy in delayed unions and nonunions. **Bone**, v. 70, p. 93–101, 2015.

GÓMEZ-BARRENA, E. et al. Feasibility and safety of treating non-unions in tibia, femur and humerus with autologous, expanded, bone marrow-derived mesenchymal stromal cells associated with biphasic calcium phosphate biomaterials in a multicentric, non-comparative trial. **Biomaterials**, v. 196, p. 100–108, 2019.

GOODMAN, S. B. et al. Inflammation and bone repair: From particle disease to tissue regeneration. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. 230, p. 1–11, 2019.

GREENBAUM, J.; NIRMALAN, M. Acid-base balance: The traditional approach. **Current Anaesthesia and Critical Care**, v. 16, n. 3, p. 137–142, 2005.

GRUNDKE, K. et al. Experimental studies of contact angle hysteresis phenomena on polymer surfaces - Toward the understanding and control of wettability for different applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 222, p. 350–376, 2015.

HALLORAN, D.; DURBANO, H. W.; NOHE, A. Developmental review bone morphogenetic protein-2 in development and bone homeostasis. **Journal of Developmental Biology**, v. 8, n. 3, p. 28–30, 2020.

HURTTA, M.; PITKÄNEN, I.; KNUUTINEN, J. Melting behaviour of D-sucrose, D-glucose and D-fructose. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 13, p. 2267–2273, 2004.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 23317 - Implants for surgery — In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials Implants**. 2007.

JACOB, J. et al. Biopolymer based nanomaterials in drug delivery systems: A review. **Materials Today Chemistry**, v. 9, p. 43–55, 2018.

JOSÉ, N. M.; PRADO, L. A. S. D. A. Hybrid organic-inorganic materials: Preparation and some applications. **Quimica Nova**, v. 28, n. 2, p. 281–288, 2005.

JUDEINSTEIN, P.; SANCHEZ, C. Hybrid organic-inorganic materials: a land of multidisciplinary. **J. Mater. Chem.**, v. 6, n. 4, p. 511–525, 1996.

KANJILAL, D.; COTTRELL, J. A. Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) and Bone

Regeneration. **Methods Mol Biol**, v. 1891, p. 235–245, 2019.

KARPIŃSKI, R.; JAWORSKI, Ł.; CZUBACKA, P. THE STRUCTURAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF THE BONE. **Journal of Technology and Exploitation in Mechanical Engineering**, v. 3, n. 1, p. 43–50, 2017.

KASHTÉ, S.; JAISWAL, A. K.; KADAM, S. Artificial Bone via Bone Tissue Engineering: Current Scenario and Challenges. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–14, 2017.

KAWECKI, F. et al. Biomimetic Tissue-Engineered Bone Substitutes for Maxillofacial and Craniofacial Repair: The Potential of Cell Sheet Technologies. **Advanced Healthcare Materials**, v. 7, n. 6, p. 1–16, 2018.

KOKUBO, T. et al. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 24, p. 721–734, 1990.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 2006.

KOKUBO, T.; YAMAGUCHI, S. Simulated body fluid and the novel bioactive materials derived from it. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 107, n. 5, p. 968–977, 2019.

LEE, D. J. et al. Osteogenic potential of mesenchymal stem cells from rat mandible to regenerate critical sized calvarial defect. **Journal of Tissue Engineering**, v. 10, 2019.

LI, J.; MOONEY, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 12, p. 1–18, 2016.

LIQUIFORM, G. Glicose, Labtest. **Labtest Diagnóstica**, p. 1–6, 2011.

LIU, H. et al. Preparation and Characterization of Aliphatic Polyurethane and Hydroxyapatite Composite Scaffold. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 112, n. 5, p. 2968–2975, 2009.

LIU, J.; KERNS, D. G. Mechanisms of Guided Bone Regeneration: A Review. **The Open Dentistry Journal**, v. 8, n. 1, p. 56–65, 2014.

LOGEART-AVRAMOGLU, D. et al. Engineering bone: Challenges and obstacles. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 9, n. 1, p. 72–84, 2005.

LOI, F. et al. Inflammation, fracture and bone repair. **Bone**, v. 86, p. 119–130, 2016.

LOPES, L. et al. Drug-matrix interaction of sodium diclofenac incorporated into ureasil-poly(ethylene oxide) hybrid materials. **RSC Advances**, v. 2, n. 13, p. 5629–5636, 2012.

LOPES, L. **Matrizes híbridas-siloxano poliéter contendo diclofenaco de sódio e complexos de platina**. Tese de Doutorado em Química, Universidade Estadual Paulista, 2014.

LYRA, M. A. M. et al. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784–793, 2007.

MACÊDO, M. O. C. et al. Estudo comparativo da modificação superficial de membranas de quitosana tratadas por plasma de oxigênio , nitrogênio e hidrogênio. **Revista eletrônica de Materiais e Processos**, v. 7.2, p. 95–103, 2012.

MAHONY, O. et al. Silica-gelatin hybrids with tailorable degradation and mechanical properties for tissue regeneration. **Advanced Functional Materials**, v. 20, n. 22, p. 3835–3845, 2010.

MAJIDINIA, M.; SADEGHPOUR, A.; YOUSEFI, B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 4, p. 2937–2948, 2018.

MANASSERO, M. et al. Bone regeneration in sheep using acropora coral, a natural resorbable scaffold, and autologous mesenchymal stem cells. **Tissue Engineering - Part A**, v. 19, n. 13–14, p. 1554–1563, 2013.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1248–1255, 2013.

MARY, M. C. S. et al. A study of the in-vitro bioactivity, dissolution and antibacterial activity of larnite prepared by a novel sol–gel combustion method using sucrose as a fuel. **Bulletin of Materials Science**, v. 43, n. 1, p. 1–9, 2020.

MENDES, J. F. et al. Synthesis of ureasil-polyether film forming materials by using environmentally friendly solvent. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 42, p. 1–10, 2021.

MICHIELS, C. Physiological and pathological responses to hypoxia. **American Journal of Pathology**, v. 164, n. 6, p. 1875–1882, 2004.

MOLINA, E. F. et al. Controlled cisplatin delivery from ureasil-PEO1900 hybrid matrix. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 10, p. 3461–3466, 2010.

MOLINA, E. F. et al. Tri-ureasil gel as a multifunctional organic-inorganic hybrid matrix. **Polymer Chemistry**, v. 4, n. 5, p. 1575–1582, 2013.

MOLINA, E. F. et al. Fine-tuning of a nanostructure, swelling, and drug delivery profile by blending ureasil-PEO and ureasil-PPO hybrids. **Polymer Chemistry**, v. 5, n. 6, p. 1897–1904, 2014a.

MOLINA, E. F. et al. Ureasil-polyether hybrid blend with tuneable hydrophilic/hydrophobic features based on U-PEO1900 and U-PPO400 mixtures.

Journal of Sol-Gel Science and Technology, v. 70, n. 2, p. 317–328, 2014b.

MOYA, A. et al. Quiescence Preconditioned Human Multipotent Stromal Cells Adopt a Metabolic Profile Favorable for Enhanced Survival under Ischemia. **Stem Cells**, v. 35, n. 1, p. 181–196, 2017.

MOYA, A. et al. Human Mesenchymal Stem Cell Failure to Adapt to Glucose Shortage and Rapidly Use Intracellular Energy Reserves Through Glycolysis Explains Poor Cell Survival After Implantation. **Stem Cells**, v. 36, n. 3, p. 363–376, 2018.

MUNDSTOCK, K. B. et al. Avaliação da biocompatibilidade de vidro e vitrocerâmica do sistema SNCP ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$). **Química Nova**, v. 35, n. 4, p. 665–670, 2012.

NUSCHKE, A. et al. Mesenchymal stem cells/multipotent stromal cells (MSCs) are glycolytic and thus glucose is a limiting factor of in vitro models of MSC starvation. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2016.

ORYAN, A. et al. Bone regenerative medicine: Classic options, novel strategies, and future directions. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 9, n. 1, p. 1–27, 2014.

ORYAN, A. et al. Mesenchymal stem cells seeded onto tissue-engineered osteoinductive scaffolds enhance the healing process of critical-sized radial bone defects in rat. **Cell and Tissue Research**, v. 374, n. 1, p. 63–81, 2018.

OSHIRO, J. A. et al. Drug delivery systems obtained from silica based organic-inorganic hybrids. **Polymers**, v. 8, n. 4, 2016.

OSHIRO, J. A. et al. Development of ureasil–polyether membranes for guided bone regeneration. **Biomedical Physics & Engineering Express**, v. 3, n. 1, p. 1–10, 2017.

OSHIRO, J. A. et al. Study of triamcinolone release and mucoadhesive properties of macroporous hybrid films for oral disease treatment. **Biomedical Physics and Engineering Express**, v. 4, n. 3, p. 1–10, 2018.

OSHIRO, J. A. et al. Nanostructural arrangements and surface morphology on ureasil-polyether films loaded with dexamethasone acetate. **Nanomaterials**, v. 11, n. 6, p. 1–19, 2021.

OSHIRO JUNIOR, J. A. et al. Development of cutaneous bioadhesive ureasil-polyether hybrid films. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, n. 727324, p. 1–7, 2015.

OSHIRO JUNIOR, J. A. et al. Assessment of biocompatibility of ureasil-polyether hybrid membranes for future use in implantodontology. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 65, n. 13, p. 647–652, 2016.

OSHIRO JUNIOR, J. A. **Membranas híbridas do tipo ureasil-poliéter contendo peptídeo de crescimento ósseo para técnica de regeneração óssea guiada**. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, 2017.

OSHIRO JUNIOR, J. A.; SHIOTA, L. M.; CHIAVACCI, L. A. Desenvolvimento de formadores de filmes poliméricos orgânico-inorgânico para liberação controlada de fármacos e tratamento de feridas. **Revista Matéria**, v. 19, n. 1, p. 24–32, 2014.

PAARAKH, M. P. et al. Release Kinetics – Concepts and Applications. **International Journal of Pharmacy Research & Technology**, v. 8, n. 1, p. 12–20, 2018.

PADILLA, S. et al. Hydroxyapatite/SiO₂-CaO-P₂O₅ glass materials: In vitro bioactivity and biocompatibility. **Acta Biomaterialia**, v. 2, n. 3, p. 331–342, 2006.
PAREDES, M. et al. Chitosan/(ureasil-PEO hybrid) blend for drug delivery.

Journal of Sol-Gel Science and Technology, v. 72, n. 2, p. 233–238, 2014.

PATYK, E.; KATRUSIAK, A. Transformable H-bonds and conformation in compressed glucose. **Chemical Science**, v. 6, n. 3, p. 1991–1995, 2015.

PAVLENKO, V. I.; CHERKASHINA, N. I. Synthesis of hydrophobic filler for polymer composites. **International Journal of Engineering and Technology(UAE)**, v. 7, n. 2.23 Special Issue 23, p. 493–495, 2018.

PEARSON, H. B. et al. Effects of Bone Morphogenetic Protein-2 on Neovascularization during Large Bone Defect Regeneration. **Tissue Engineering - Part A**, v. 25, n. 23–24, p. 1623–1634, 2019.

PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 57, n. 2, p. 169–172, 1989.

PEREIRA, N. S. et al. Regeneração óssea guiada utilizando membrana reabsorvível fixada com etilcianoacrilato. **Rev. bras. odontol**, v. 69, n. 1, p. 39–42, 2012.

PETITE, H. et al. Tissue-engineered bone regeneration. **NATURE BIOTECHNOLOGY**, v. 18, p. 959–963, 2000.

POTIER, E. et al. Prolonged hypoxia concomitant with serum deprivation induces massive human mesenchymal stem cell death. **Tissue Engineering**, v. 13, n. 6, p. 1325–1331, 2007.

QIAO, C. et al. The critical lowest molecular weight for PEG to crystallize in cross-linked networks. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 25, n. 5, p. 659–663, 2004.

RAMESH, N.; MORATTI, S. C.; DIAS, G. J. Hydroxyapatite–polymer biocomposites for bone regeneration: A review of current trends. **Journal of**

Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials, v. 106, n. 5, p. 2046–2057, 2018.

REKONDO, A.; FERNÁNDEZ-BERRIDI, M. J.; IRUSTA, L. Photooxidation and stabilization of silanised poly(ether-urethane) hybrid systems. **Polymer Degradation and Stability**, v. 92, n. 12, p. 2173–2180, 2007.

RETZEPI, M.; DONOS, N. Guided Bone Regeneration: Biological principle and therapeutic applications. **Clinical Oral Implants Research**, v. 21, n. 6, p. 567–576, 2010.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE I. FICKIAN AND NON-FICKIAN RELEASE FROM NON-SWELLABLE DEVICES IN THE FORM OF SLABS, SPHERES, CYLINDERS OR DISCS. **Journal of Controlled Release**, v. 5, p. 23–26, 1986.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37–42, 1987.

ROJEK, B.; WESOŁOWSKI, M. DSC supported by factor analysis as a reliable tool for compatibility study in pharmaceutical mixtures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 138, n. 6, p. 4531–4539, 2019.

SABAA, M. W. Polymers as drug delivery systems. **Biodegradable and Biobased Polymers for Environmental and Biomedical Applications**, p. 321–348, 2016.

SABER-SAMANDARI, S. et al. Bioactivity evaluation of novel nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering: The impact of hydroxyapatite. **Ceramics International**, v. 42, n. 9, p. 11055–11062, 2016.

SALHOTRA, A. et al. Mechanisms of bone development and repair. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 21, n. 11, p. 696–711, 2020.

SALINAS, A. J.; ESBRI, P.; VALLET-REGÍ, M. A tissue engineering approach based on the use of bioceramics for bone repair. **Biomaterials Science**, v. 1, n. 1, p. 40–51, 2013.

SALOME, A. C.; GODSWILL, C. O.; IKECHUKWU, I. O. Kinetics and mechanisms of drug release from swellable and non swellable matrices: A review. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 97–103, 2013.

SANCHEZ, C. et al. Molecular design of hybrid organic-inorganic materials with electronic properties. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 2, n. 1–3, p. 161–166, 1994.

SANCHEZ, C. et al. Design of hybrid organic-inorganic nanocomposites synthesized via sol-gel chemistry. **Mol. Cryst. and Liq. Cryst.**, v. 354, p. 143–158, 2000.

SANCHEZ, C. et al. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 35–36, p. 3559–3592, 2005.

SANCHEZ, C.; RIBOT, F.; LEBEAU, B. Molecular design of hybrid organic–inorganic nanocomposites synthesized via sol–gel chemistry. **J. Mater. Chem.**, v. 9, p. 35–44, 1999.

SANTILLI, C. V. et al. Controlled drug release from ureasil-polyether hybrid materials. **Chemistry of Materials**, v. 21, n. 3, p. 463–467, 2009.

SARKER, B. et al. Collagen/silica nanocomposites and hybrids for bone tissue engineering. **Nanotechnology Reviews**, v. 2, n. 4, p. 427–447, 2013.

SCHEMITSCH, E. H. Size Matters: Defining Critical in Bone Defect Size! **Journal of Orthopaedic Trauma**, v. 31, n. 10, p. S20–S22, 2017.

SCHINDELER, A. et al. Bone remodeling during fracture repair: The cellular

picture. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 19, n. 5, p. 459–466, 2008.

SCHMIDT-BLEEK, K. et al. Boon and Bane of Inflammation in Bone Tissue Regeneration and Its Link with Angiogenesis. **Tissue Engineering - Part B: Reviews**, v. 21, n. 4, p. 354–364, 2015.

SEOL, Y. J. et al. Osteoconductive and degradable electrospun nonwoven poly(ϵ - caprolactone)/CaO-SiO₂ gel composite fabric. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 94, n. 2, p. 649–659, 2010.

SHARMA, D. et al. Sustained Release Drug Delivery System with the Role of Natural Polymers: A review. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 9, n. 3- s SE- Review, p. 913–923, 2019.

SHARMA, K.; MUJAWAR, M. A.; KAUSHIK, A. State-of-Art Functional Biomaterials for Tissue Engineering. **Frontiers in Materials**, v. 6, n. 172, p. 1–10, 2019.

SHEIKH, Z. et al. Bone regeneration using bone morphogenetic proteins and various biomaterial carriers. **Materials**, v. 8, n. 4, p. 1778–1816, 2015.

SHENDURSE, A. M.; KHEDKAR, C. D. Glucose: Properties and Analysis. **Encyclopedia of Food and Health**, v. 3, p. 239–247, 2016.

SILVA, R. O.; FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. C. R. D-glucose, a fascinating biomolecule: History, properties, production and application. **Revista Virtual de Quimica**, v. 10, n. 4, p. 875–891, 2018.

SOSSA, P. A. F. et al. Comparative study between natural and synthetic hydroxyapatite: Structural, morphological and bioactivity properties. **Revista Materia**, v. 23, n. 4, p. 1–17, 2018.

SOUZA, D. C. DE et al. A fast degrading PLLA composite with a high content of

functionalized octacalcium phosphate mineral phase induces stem cells differentiation. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 93, p. 93–104, 2019.

SUN, C. et al. O-GlcNAcylation: A bridge between glucose and cell differentiation. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 20, n. 5, p. 769–781, 2016.

SUTHA, S. et al. In-vitro bioactivity, biocorrosion and antibacterial activity of silicon integrated hydroxyapatite/chitosan composite coating on 316 L stainless steel implants. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 7, p. 4046–4054, 2013.

TAKADAMA, H.; KOKUBO, T. In vitro evaluation of bone bioactivity. In: **Bioceramics and their Clinical Applications**. Japan: Woodhead Publishing Limited, p. 165–182, 2008.

TETI, A. Bone development: Overview of bone cells and signaling. **Current Osteoporosis Reports**, v. 9, n. 4, p. 264–273, 2011.

TOSKAS, G. et al. Chitosan(PEO)/silica hybrid nanofibers as a potential biomaterial for bone regeneration. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 2, p. 713–722, 2013.

TRAFTON, P. G. Fragility Fractures in the Developing World: a Rising Challenge. **Current Geriatrics Reports**, v. 7, n. 4, p. 278–287, 2018.

TRUFFAULT, L. et al. Structural and optical features of ureasiloxane-polyethylene oxide hybrids containing CeO₂ nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 471, p. 73–80, 2015.

TRUFFAULT, L. et al. Loaded Ce-Ag organic-inorganic hybrids and their antibacterial activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 147, p. 151–160, 2016.

WANG, X. et al. Role of mesenchymal stem cells in bone regeneration and fracture repair: A review. **International Orthopaedics**, v. 37, n. 12, p. 2491–2498, 2013.

WANG, Y. et al. Co-melting behaviour of sucrose, glucose & fructose. **Food Chemistry**, v. 275, n. September, p. 292–298, 2019.

WEINER, S.; WAGNER, H. D. The material bone: Structure-mechanical function relations. **Annual Review of Materials Science**, v. 28, n. 1, p. 271–298, 1998.

YAVROPOULOU, M. P.; YOVOS, J. G. The molecular basis of bone mechanotransduction. **Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions**, v. 16, n. 3, p. 221–236, 2016.

ZALDIVAR, M. P. **MATERIAIS HÍBRIDOS UREASIL-POLIÓXIDO DE ETILENO/QUITOSANA PARA APLICAÇÃO NA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS**. Tese de Doutorado em Química, Universidade Estadual Paulista, 2015.

ZALDIVAR, M. P. et al. Thermal properties, nanoscopic structure and swelling behavior of chitosan/(ureasil–polyethylene oxide hybrid) blends. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 130, n. 2, p. 791–798, 2017.