



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NAARA FELIPE DA FONSÊCA

**MEMBRANAS BASEADAS EM MATERIAIS DO TIPO UREASIL-POLIÉTER E
ARGILA LAPONITA CONTENDO GLICOSE PARA FUTURA APLICAÇÃO NA
REGENERAÇÃO ÓSSEA**

CAMPINA GRANDE-PB

2023

NAARA FELIPE DA FONSÊCA

MEMBRANAS BASEADAS EM MATERIAIS DO TIPO UREASIL-POLIÉTER E
ARGILA LAPONITA CONTENDO GLICOSE PARA FUTURA APLICAÇÃO NA
REGENERAÇÃO ÓSSEA

Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da
Paraíba, como Requisito para Obtenção do Título de Mestre.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e Controle de
Farmacêuticos

Área Qualidade de Produtos de Concentração: Fármacos
e Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior

CAMPINA GRANDE-PB

2023

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

F676m Fonsêca, Naara Felipe da.

Membranas baseadas em materiais do tipo Ureasil-Poliéter e argila laponita contendo glicose para futura aplicação na regeneração óssea [manuscrito] / Naara Felipe da Fonsêca. - 2023.

70 p.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2023.

"Orientação : Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior , Departamento de Farmácia - CCBS. "

1. Lesões graves. 2. Sistemas híbridos. 3. Sistema polimérico. 4. Liberação de glicose. I. Título

21. ed. CDD 615.1

NAARA FELIPE DA FONSÊCA

MEMBRANAS BASEADAS EM MATERIAIS DO TIPO UREASIL-POLIÉTER E
ARGILA LAPONITA CONTENDO GLICOSE PARA FUTURA APLICAÇÃO NA
REGENERAÇÃO ÓSSEA

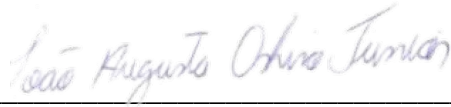
Dissertação Apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da
Paraíba, como Requisito Para Obtenção do Título de Mestre.

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e Controle de
Farmacêuticos

Área Qualidade de Produtos de Concentração: Fármacos
e Medicamentos

Aprovada em: 07/04/2023

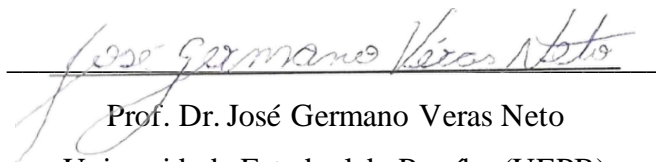
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. João Augusto Oshiro Junior (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Meiry Glauca Freire Rodrigues
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)



Prof. Dr. José Germano Veras Neto
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Louvai a fonte da fé e do saber
que à mente faiscando atçou,
de paixão por compreender,
como este mundo Ela desenhou.
O senso de maravilha fluindo
das maravilhas que investigamos,
nossa fé sempre progredindo
e renovando nossa vontade de orar:
Deus sábio, nós reconhecemos
que a nossa ciência e a nossa arte
e enquanto homens, tudo o que sabemos
da verdade toda é pequena parte.
Jaz muito além da especulação
insondável a nós, o profundo;
Ali guardas o plano da criação,
e o pulso de vida do mundo.
Como num rio uma e outra corrente,
submersas se dão em combate
até convergirem na mesma torrente,
na calma coerência de um curso constante,
ajunta ó Deus, nossa fé e saber!
que possam se unir numa só torrente,
e, enquanto se casam, a ti devolver
louvores e graças, pois, és a Nascente.

“Louvai a fonte da fé e do Saber”, por Thomas Troeger.
Tradução de Guilherme Carvalho, para o livro “O teste da fé” (2013).

Dedico a minha mãe Núbia Felipe (*in memoriam*) e ao meu pai Joselito Barbosa, que sempre foram meus maiores incentivadores na busca da fé e do saber.

"Se pude enxergar mais longe, foi porque me apoiei em ombros de gigantes".

Isaac Newton

Dedico ao meu professor João Oshiro, muito obrigada por me guiar por caminhos a meu ver inalcançáveis, você plantou em mim sementes de esperança e amor pela pesquisa, espero um dia ter a oportunidade de retribuir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo fôlego de vida e animo para seguir.

Agradeço a meu pai Joselito e minha irmã Nayara, pelo amor e apoio durante o desenvolvimento desse Mestrado.

Agradeço ao meu companheiro de vida e de laboratório Genil Dantas, meu muito obrigado pelo apoio, sem você esse caminho seria muito espinhoso, obrigada pelo suporte e ajuda, amo você.

Meus mais calorosos agradecimentos ao meu grupo de pesquisa I-Nano e ao Somos Todos Cientistas, na pessoa do Professor João e de José (meu PIBIC), sem vocês eu não teria conseguido concluir esse trabalho.

Meus agradecimentos aos meus amigos do laboratório LAFIT: Prof. Harley, Magna e Lorena, vocês deixaram meus dias mais divertidos.

Ao meu querido laboratório LabDem, na pessoa do Prof. Germano Veras e Profa. Ana Claudia, eu nunca vou conseguir agradecer o suficiente, obrigada por todas as oportunidades que eu recebi nesses seis anos, espero ter aproveitado cada uma delas.

Ao laboratório LDCPF, na pessoa da minha querida amiga Gabryella, obrigada pela companhia no café e as conversas depois das aulas.

Para Raul e Marli, obrigada pelos cafés e palavras de animo, a vendinha de vocês foi meu refúgio quando queria dar uma pausa em tudo.

Agradeço a Toinha pelos almoços, obrigada pelo cuidado comigo, nunca vou esquecer sua comemoração pela minha aprovação no doutorado, muito obrigada por tanta sensibilidade.

Não poderia deixar de agradecer as queridas (os): Mariana Sato, Leda Maria, Paulo, Geovana, Luana, Professor Felipe Hugo e todos meus colegas de laboratório, obrigada pelas conversas e cafés.

Agradeço ao secretário do PPGCF, Thiago, por toda paciência e ajuda.

Agradeço de forma especial, todos os professores e professoras que contribuíram para minha formação, obrigada por dedicarem suas vidas a ensinar.

De forma lúdica agradeço aos meus gatos: Enzo, Senna, Maria e Catarina, pela alegria, companhia e amor.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento em forma de bolsa.

Agradeço aos laboratórios de pesquisa que por meio de parcerias tornaram esse projeto possível, em especial ao Laboratório de Desenvolvimento de Novos Materiais (LABNOV).

Por fim, mas não menos importante, agradeço a todos e todas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho, e que contribuíram para minha conclusão do mestrado, agradeço o suporte, as orações e toda a ajuda, sem uma rede incontável de pessoas e fatores eu não estaria realizando essa conquista, por isso meu muito obrigada.

RESUMO

A cura de lesões ósseas graves com alta complexidade pode ocorrer de forma incompleta. Porém, estudos mostraram que, a glicose exógena aumenta a viabilidade e multiplicação das MSCs, inclusive em situações de hipoxia. Sendo um desafio clínico desenvolver um arcabouço que possa liberar de forma controlada e prolongada a glicose. Assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma membrana híbrida baseada no material ureasil-poliéter, argila Laponita e glicose, visando a liberação sustentada da glicose. Inicialmente foi realizada a produção solução coloidal de Laponita (SCL) e sua caracterização físico-química. Posteriormente, a síntese do precursor híbrido ureasil-poliéter utilizando polímero PEO500 e o IsoTrEOS. Durante o processo sol-gel, a glicose e o SCL foram incorporados ao precursor. Foram realizados testes de viscosidade em diferentes concentrações de gel de Laponita 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5%. Os resultados em mPa foram 4,8, 7, 1, 70, 8, 400, 8 e 1121,2, respectivamente. A proporção escolhida para a dispersão no material uresil-poliéter foi de 1,5%, já que proporcionou um gel estável, com características próximas de um fluido não newtoniano e maior estabilidade. As características visuais revelaram superfície homogênea, transparência e luminescência. Foram utilizadas diferentes técnicas de caracterização, onde os dados de espectroscopia de infravermelho apresentaram as bandas características dos componentes individuais e na formulação; para o PEO500, destaca-se a banda larga e de média intensidade entre 3695 e 3026 cm^{-1} referente ao estiramento O-H, presentes nos grupos silanóis localizados nas porções terminais. Para a amostra de Laponita, destaca-se a banda de média intensidade entre 3096 cm^{-1} e 3072 cm^{-1} referente ao estiramento O-H de hidroxilas presentes na molécula, observando que essa banda apresenta um pequeno “ombro” em 3621 cm^{-1} , sugestivo de ligação de hidrogênio intramolecular de hidroxilas. Para a Glicose, a banda de média intensidade situada em 916 cm^{-1} que foi assinalada ao estiramento assimétrico de anel glucopiranosil, e a banda em 850 é confirmatória da conformação α anomérica da glicose. O FTIR também não demonstrou alteração significativa nos espectros das misturas, sendo possível inferir que não existem interações químicas. Os difratogramas de DRX demonstram que o material PEO é amorfo, identificado pelo halo amorfo. A glicose revelou ter um sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial $P2_12_12_1$ 5.40(2) GPa, acima do qual passa por uma transição de fase isoestrutural. Pode-se observar que a Laponita apresenta padrões cristalinos amplos, possivelmente devido ao tamanho dos discos laponícos e sua baixa cristalinidade, foi observado apenas a reflexão em $2\theta:28^\circ$, o primeiro pico largo presente em torno de $2\theta = 5,0^\circ$ é atribuído ao seu plano cristalino (001) ou espaçamento basal. A formulação final demonstra que os domínios cristalinos desaparecem,

tornando o material amorfo. Esses resultados foram corroborados com os dados de DTA, que possibilitou a observação do caráter amorfo do u-PEO500, não apresentar eventos térmicos definidos e/ou visíveis, enquanto a Laponita, possuiu um evento endotérmico de pequena intensidade, visível na faixa de 99,66 °C provavelmente relacionado a perda de água fracamente ligada à sua estrutura, podendo ser evidenciada a sua resistência térmica. Para a glicose pode ser evidenciada em 161,81 °C um pico endotérmico intenso referente temperatura de fusão do equilíbrio de cristalino do composto. Os resultados de TG demonstram que, a glicose quando incorporada no material híbridos ureasil-poliéter e Laponita apresentou maior resistência térmica uma vez que o sistema iniciou sua degradação em 300 °C. Por fim, os resultados de liberação demonstram que, 20% de glicose foi liberada em 700 min, indicando que esses sistemas têm capacidade de liberar de forma prolongada a glicose. Conclui-se que foi possível o desenvolvimento de um sistema de entrega de glicose, baseado em u-PEO500 e Laponita, capaz de dar suporte ao tratamento de lesões ósseas graves.

Palavras-chave: sistemas híbridos; células mesenquimais; lesões graves; sistemas poliméricos.

ABSTRACT

The healing of severe bone lesions with high complexity may occur incompletely. However, studies have shown that exogenous glucose increases the viability and multiplication of MSCs, even in hypoxic situations. It is a clinical challenge to develop a framework that can release glucose in a controlled and prolonged manner. Thus, the objective of this work was to develop a hybrid membrane based on ureasil-polyether material, Laponite clay and glucose, aiming the sustained release of glucose. Initially, the production of Laponite colloidal solution (SCL) and its physicochemical characterization were performed. Subsequently, the synthesis of the ureasil-polyether hybrid precursor using PEO500 polymer and IsoTrEOS. During the sol-gel process, glucose and SCL were incorporated into the precursor. Viscosity tests were performed at different concentrations of Laponite gel 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5%. The results in mPa were 4.8, 7, 1, 70, 8, 400, 8 and 1121.2, respectively. The ratio chosen for dispersion in the ureasil-polyether material was 1.5%, as it provided a stable gel with characteristics close to a non-Newtonian fluid and greater stability. Visual characteristics revealed homogeneous surface, transparency and luminescence. Different characterization techniques were used, where the infrared spectroscopy data showed the characteristic bands of the individual components and in the formulation; for PEO500, the broad, medium intensity band between 3695 and 3026 cm^{-1} referring to the O-H stretching, present in the silanols groups located in the terminal portions, stands out. For the Laponite sample, the medium intensity band between 3096 cm^{-1} and 3072 cm^{-1} refers to the O-H stretching of hydroxyls present in the molecule, noting that this band presents a small "shoulder" at 3621 cm^{-1} , suggestive of intramolecular hydrogen bonding of hydroxyls. For Glucose, the medium intensity band located at 916 cm^{-1} that was assigned to the asymmetric stretching of glucopyranosyl ring, and the band at 850 is confirmatory of the α -anomeric conformation of glucose. FTIR also showed no significant change in the spectra of the mixtures, and it is possible to infer that there are no chemical interactions. The XRD diffractograms demonstrate that the PEO material is amorphous, identified by the amorphous halo. Glucose was found to have an orthorhombic crystalline system and space group P212121 5.40(2) GPa, above which it undergoes an isostructural phase transition. It can be observed that Laponite exhibits broad crystalline patterns, possibly due to the size of the laponic discs and its low crystallinity, only reflection at $2\theta:28^\circ$ was observed, the first broad peak present around $2\theta = 5.0^\circ$ is attributed to its crystalline plane (001) or basal spacing. The final formulation shows that the crystalline domains disappear, making the material amorphous. These results were corroborated with the

DTA data, which enabled the observation of the amorphous character of u-PEO500, not presenting defined and/or visible thermal events, while Laponite, possessed an endothermic event of small intensity, visible in the range of 99.66 °C probably related to the loss of water weakly linked to its structure, and its thermal resistance can be evidenced. For glucose an intense endothermic peak can be evidenced at 161.81 °C referring to the melting temperature of the crystalline equilibrium of the compound. The TG results demonstrate that glucose when incorporated into the ureasyl-polyether hybrid material and Laponite presented higher thermal resistance since the system started its degradation at 300 °C. Finally, the release results show that, 20% glucose was released in 700 min, indicating that these systems are capable of prolonged glucose release. It is concluded that the development of a glucose delivery system, based on u-PEO500 and Laponite, capable of supporting the treatment of severe bone injuries was possible.

Keywords: hybrid systems; mesenchymal cells; severe injuries; polymeric systems.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Proporções de Laponita nas diferentes soluções coloidais.	20
Tabela 2 – Proporções dos componentes da síntese do precursor.	22
Tabela 3 – Proporções dos componentes da síntese do material híbrido.....	23
Tabela 4 – Viscosidade por estresse mecânico das SCLs em reologia (mPa s) (continua)	29
Tabela 4 – Viscosidade por estresse mecânico das SCLs em reologia (mPa s) (conclusão).....	30
Tabela 5 – Leituras de 0,5 e 1,0% refeitas sem o estresse mecânico (continua).	30
Tabela 5 – Leituras de 0,5 e 1,0% refeitas sem o estresse mecânico (conclusão).	31
Tabela 6 – Viscosidade por variação de temperatura das SCL (aquecimento e resfriamento)...	33
Tabela 7 – Peso dos filmes híbridos após secagem	37
Tabela 8 – Parâmetros de TGA das amostras isoladas, e incorporadas em membranas (continua)	53
Tabela 8 – Parâmetros de TGA das amostras isoladas, e incorporadas em membranas (conclusão)	54
Tabela 9 – Perfil de ângulo de contato das diferentes membranas	55
Tabela 10 – Cinética de liberação (r^2) para Peppas, Higuchi, Weibull e 0 ordem (continua) ...	60
Tabela 10 – Cinética de liberação (r^2) para Peppas, Higuchi, Weibull e 0 ordem (conclusão) .	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sistema de refluxo	22
Figura 2 – Secagem das membranas em dessecador.....	24
Figura 3 – Monitoramento da viscosidade das SCLs durante um mês para visualização das diferentes fases sol-gel.	26
Figura 4 – Variações das formações do estado sol-gel nas diferentes concentrações de SCL...	28
Figura 5 – Teste de estresse mecânico: viscosidade/cisalhamento	32
Figura 6 – Gráficos termorreologicos das SCL	34
Figura 7 – Estrutura do u-PEO500 e seus principais sítios de interações.....	35
Figura 8 – Reações de hidrólise e condensação durante a formação do material híbrido	36
Figura 9 – Aspectos visuais dos materiais híbridos e precipitação observada.	38
Figura 10 – Aspectos visuais das membranas híbridas frente a luz UV.....	39
Figura 11 – Gráficos do tempo de secagem dos filmes híbridos	40
Figura 12 – Espectro obtido para o precursor híbrido u-PEO500	41
Figura 13 – Espectro obtido a partir da Laponita RD.....	42
Figura 14 – Espectro obtido para a glicose anidra	43
Figura 15 – Espectro obtido para a mistura u-PEO500-Laponita.....	44
Figura 16 – Comparação entre os espectros das substâncias isoladas e a formulação	45
Figura 17 – DRX da Glicose e sua comparação com o CIF: 1518432.	46
Figura 18 – DRX dos insumos, isolados e em combinação.....	47
Figura 19 – DRX dos filmes híbridos	48
Figura 20 – DTA das amostras isoladas e em combinação	49
Figura 21 – Curvas TG dos constituintes isolados (U-PEO 500, Laponita e D-Glicose).....	51
Figura 22 – Curvas TG das amostras de filme contendo todos os constituintes.....	53
Figura 23 – Características visuais da membrana U-PEO+GLIC 3% e seu ângulo de contato..	56
Figura 24 – Características visuais da membrana U-PEO- M1 0% e ângulo seu de contato	56
Figura 25 – Características visuais da membrana U-PEO- M2 0% e seu ângulo de contato	57

Figura 26 – Características visuais da membrana U-PEO- M3 0% e seu ângulo de contato	57
Figura 27 – Características visuais da membrana U-PEO- M1 3% e seu ângulo de contato	58
Figura 28 – Características visuais da membrana U-PEO- M2 3% e seu ângulo de contato	58
Figura 29 – Características visuais da membrana U-PEO- M3 3% e seu ângulo de contato	59
Figura 30 – Perfil de liberação das amostras M1, M2 e M3	60
Figura 31 – Perfil de liberação das amostras, em diferentes modelos matemáticos	62

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivos Gerais	19
2.2	Objetivos Específicos	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Síntese das Soluções Coloidais de Laponita (SCL).....	20
3.2	Caracterização dos perfis de viscosidade das SCL	20
3.2.1	<i>Teste de envelhecimento: tempo de formação dos diferentes estados sol-gel</i>	20
3.2.2	<i>Teste de desgaste mecânico</i>	21
3.2.3	<i>Avaliação Reológica das SCL em diferentes temperaturas.</i>	21
3.3	Obtenção do precursor híbrido ureasil-poliéter (u-PEO).....	21
3.4	Síntese do material híbrido	23
3.5	Caracterização Físico-Química das membranas.....	24
3.5.1	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	24
3.5.2	<i>Difração de raios-X (DRX)</i>	24
3.5.3	<i>Análise térmica diferencial (DTA)</i>	24
3.5.4	<i>Análise Termogravimétrica (TG)</i>	25
3.5.5	<i>Análise de Ângulo de Contato e Análise Microscópica das Membranas</i>	25
3.5.6	<i>Análise de Liberação in vitro de glicose</i>	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1	Síntese e Caracterização das Soluções Coloidais de Laponita	26
4.2	Síntese e Caracterização do Precursor Híbrido e Filmes Poliméricos.	35
4.3	Caracterização Físico-Química das membranas híbridas.	40
4.3.1	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	40
4.3.2	<i>Difração de raios-X (DRX)</i>	46
4.3.3	<i>Análise térmica diferencial (DTA)</i>	49

<i>4.3.4 Análise termogravimétrica (TG)</i>	51
<i>4.3.5 Teste de ângulo de contato e imagens microscópicas das membranas</i>	54
<i>4.3.6 Teste de liberação da D-glicose pelas membranas scaffolds M1-M3 3% in vitro</i>	59
5 CONCLUSÃO.....	63
REFERENCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

Através de uma cascata mediada por células, o osso dispõe de uma notável capacidade de regeneração. Essa ação coordenada envolve eventos que são regulados por citocinas e fatores de crescimento, destacando-se a importância da proteína-2 morfogênica óssea, do fator de crescimento endotelial vascular e do fator de crescimento fibroblástico-2. (KANG et al., 2021) Na condição de órgão, o tecido ósseo tem uma complexa composição celular de arquitetura orgânico- inorgânica especializada, podendo ser caracterizada como tecido micro e nanocomposto. (HENKEL et al., 2013).

Considerando suas características de regeneração, uma forma de melhorar o tratamento de lesões graves é a utilização de células e/ou marcadores como forma de tratamento. O osteoindutor BMP-2 é um exemplo a ser utilizado por desempenhar um papel central em grande parte das estratégias de regeneração óssea, iniciando a construção óssea através da proliferação e diferenciação de osteoblastos, osteoclastos e células mesenquimais. (NICKEL; MUELLER, 2019). Estudos indicam que a utilização do BMP para tratamento de fraturas ósseas pode promover um crescimento ósseo superior aos auto-enxertos, onde para evidenciar essa característica Seeherman e colaboradores (2019) desenvolveram híbridos baseadas no BMP-2 para expressar BMP-6 e ativar domínios de ligações de receptores A, que apresentassem uma potência melhorada, melhor afinidade de ligação e ativação dos genes alvos e uma otimização da matriz portadora. Nesse trabalho foi observado que os testes realizados em primatas não humanos que apresentavam fratura aberta tiveram uma cicatrização óssea completa, usando um sistema de transporte capaz de fornecer concentrações de BMP-híbridos menores do que as aprovadas para uso clínico. (SEEHERMAN et al., 2019).

Uma célula que apresenta grande potencial para regeneração óssea são as células tronco mesenquimais (MSCs), usualmente conhecidas como células estromais mesenquimais. Essa linhagem celular apresenta um grande potencial para iniciar e facilitar a cura óssea, por apresentar um papel putativo na homeostase de tecidos e tratamento de doenças. Essa linhagem celular apresenta alta plasticidade e capacidade de responder a sinais locais tão específicos a ponto de desafiar a categorização em árvore de linhagem. Podendo ser amplamente utilizadas para diferenciação em células da cascata de regeneração óssea, podendo otimizar os processos de regeneração. (KFOURY; SCADDEN, 2015)

Atrelado ao grande potencial das MSCs para tratamentos baseados em células tronco, pode-se destacar a característica de sobrevivência dessas células em microambientes hipóxicos (1% à 7% de O₂), pouco se sabe sobre os mecanismos de sobrevivência expressos

nesses ambientes, dessa forma LEE *et al* (2017), estudou o potencial mecanismo que envolve a proteína reguladora de glicose 78-kDa, que eventualmente poderia explicar o aumento da bioatividade e sobrevivência das células MSC em situações de isquemia. O grupo comprovou por meio de testes sob ambientes de 2% de O₂ característico de hipoxia, que a expressão da proteína foi significativamente aumentada via fator induzível de hipoxia (HIF)-1 α . Devido o ambiente de hipoxia a proteína reguladora de glicose promoveu a proliferação e a migração das MSCs através do eixo de sinal HIF-1 α -GRP78-Akt. (Lee et al., 2017)

Apesar do potencial na utilização dessas células MSC, existe uma grande dificuldade atrelado ao seu uso em tratamento de fraturas ósseas graves, onde há o comprometimento da rede de suprimentos celulares e de oxigênio para o local fraturado, tornando a sobrevivência pós transplantação dessas células pouco viáveis. Por muito tempo foi tido que a falta de oxigênio causada em regiões de trauma grave seria o responsável pela não viabilidade celular. Considerando o potencial de sobrevivências das MSC em ambientes de hipoxia Deschepper e colaboradores (2013), testaram a viabilidade celular das MSCs em ambientes com um baixíssimo nível de oxigênio (0,12%) sustentadas apenas pela presença de glicose, após os testes, o grupo concluiu que nesse modelo de célula *in vitro* as expressões proteicas de Hif-1 α e fatores angiogênicos foram superregulados devido a presença da glicose, que em condições equitópicas complementou a construção de tecidos implantados exibindo uma viabilidade entre quatro e cinco vezes maior e mais vascularizados, se comparados aos modelos testados sem glicose, após 14 dias do experimento(DESCHEPPER et al., 2013).

Considerando lesões ósseas graves, com perda de tecido vascular, a entrega da glicose, necessária para proliferação celular adequada para regeneração, pode ser insuficiente ou inexistente, a depender do dano causado a rede vascular local, sendo uma possibilidade de tratamento o desenvolvimento de sistemas capazes de entregar glicose em quantidades adequadas a suprir a cascata de regeneração óssea, diretamente no local fraturado.

Atualmente existe diversas tecnologias farmacêuticas desenvolvidas para transporte de moléculas, destacando-se a utilização de polímeros naturais e sintéticos. Uma estratégia é, a utilização de material híbrido com potencial para formação de revestimentos para utilização direta no local lesionado. Com essa finalidade pode-se considerar a utilização de membranas sintetizadas a partir do ureasil-poliéter, que são polímeros constituídos por cadeias de poli (óxido de etileno) (PEO) e poli (óxido de propileno) (PPO) e por duas espécies de siloxano (OSHIRO et al., 2015). A matriz dos chamados ureasils é uma rede de sílica na qual cadeias de oligopolioxi-etileno são enxertadas por meio de ligações cruzadas de uréia. (BERMUDEZ; CARLOS; ALCÁCER; 1999), o uso de PEO como polímero orgânico torna os materiais

híbridos mais hidrofílicos em comparação com os materiais híbridos formados com o uso de PPO. (SOUZA et al., 2013)

Os sistemas contendo ureasil-poliéter combinam as propriedades das fases orgânica e inorgânica no mesmo material (JUDEINSTEIN et al., 1994) resultando em características únicas como alta flexibilidade, resistência térmica, mecânica resistência e capacidade de incorporar várias substâncias (lipofílicas, hidrofílicas e metais), entre elas a glicose. (OSHIRO et al., 2015b; SOUZA et al., 2013). Porém, dependendo do peso molecular do precursor utilizado, essas características não são alcançadas e o sistema pode adquirir alta resistência e dureza mecânica, tornando inviável seu uso clínico, estudos apontam que o peso de $500 \frac{g}{mol}^{-1}$ é o mais viável para uso e incorporação de biomoléculas diversas. (OSHIRO et al., 2021).

Apesar disso, esses sistemas considerados nano-híbridos tem demonstrado ser uma plataforma atraente para entrega de fármacos e biomoléculas, podendo ser combinados com outros agentes para incremento de suas características a depender da sua aplicação, como o caso dos sistemas ureasil- polieter, que podem ter sua solubilidade aumentada se combinados com a argila Laponita ® RD, que é uma hectorita sintética, pertencente as argilas esmectita, que devido as suas características de criar hidrogéis com propriedades mecânicas robustas, pode oferecer maior flexibilidade aos sistemas que elas são incorporadas. Já foram descritos na literatura a capacidade de incorporação da argila Laponita pelo u-PEO500 (CÂMARA et al., 2021) Também foi observado que estruturalmente suas camadas em forma de placa possuem uma alta troca catiônica. Possibilitando que as moléculas catiônica e não iônica possam ser abundantemente adsorvidas na superfície da argila, enquanto moléculas não iônicas com ligações de hidrogênio podem intercalar-se entre as camadas de sua estrutura molecular (FRAILE et al., 2016; PARK et al., 2008; SILVA et al., 2019). Foi observado na literatura, que quando a Laponita é incorporada a diferentes sistemas de entrega de droga, ela promove eficiência de encapsulamento, mudanças positivas no comportamento de liberação, e propriedades físico-químicas desse sistema. (HERAGH et al., 2021).

Considerado o potencial de regeneração óssea das MSC quando suplementadas com glicose, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma membrana híbrida do tipo ureasil-polieter contendo PEO500 e Laponita em sua composição, para carreamento de glicose em revestimentos aplicados a lesões ósseas graves, para suplementação local de glicose, a fim de melhorar o potencial regenerativo das células locais ou transplantadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Como objetivo geral esse projeto buscou desenvolver uma membrana híbrida do tipo ureasil-poliéter e, argila Laponita RD, carregadas com glicose anidra, visando a liberação controlada para o futuro tratamento de lesões ósseas.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram descritos nas alíneas a seguir:

- a) sintetizar diferentes concentrações de uma solução coloidal de Laponita, e caracterizá-la, segundo suas características de viscosidade e desgaste mecânico, para identificação da melhor concentração para incorporação na formulação proposta no trabalho;
- b) obter um precursor híbrido do tipo ureasil-poliéter, utilizando um sistema de refluxo, utilizando PEO500 funcionalizado com o alcóxido modificado IsoTrEOS;
- c) sintetizar membranas híbridas, contendo o precursor híbrido e a solução coloidal de Laponita, e diferentes concentrações de glicose;
- d) obter a caracterização físico-química da membrana com melhor estabilidade em relação a proporção de glicose, por meios das técnicas de FTIR, DRX, DTA, TG e AC;
- c) realizar o teste de liberação *in vitro* de glicose para a membrana desenvolvida.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Síntese das Soluções Coloidais de Laponita (SCL).

Foi utilizado a argila sintética Laponita® RD (BYK Additives & Instruments, Estados Unidos, lote: 0001603372), em soluções coloidais utilizando como solvente 100 ml de água destilada ultrapura (SPLABOR, Brasil, modelo Pilsen - série: 03616/116). As reações foram preparadas em um béquer e homogeneizadas com um bastão de vidro. Todo o material utilizado na análise foi pesado em balança analítica.

Considerando os estudos de Câmara *et al* (2021), foi selecionado as proporções entre 0,5 e 2,5% de argila Laponita (tabela 1). Após o preparo, as soluções foram reservadas para observação dos diferentes estados sol-gel.

Tabela 1 – Proporções de Laponita nas diferentes soluções coloidais.

PROPORÇÃO	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%
Massa (g)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5

Fonte: dados da pesquisa

3.2 Caracterização dos perfis de viscosidade das SCL

Para realização da técnica, foi utilizado um viscosímetro de Brookfield (Gehaka Ltda, Brasil, modelo *viscolead one*, série: IMP1927760100), acoplado de um *spindler* tamanho R4 e uma placa de agitação mecânica com aquecimento (Labnet, Brasil, modelo *analog hotplate stirrer*).

Foi utilizado um cálice de vidro (125 ml) contendo ± 75 ml de SCL, em quantidade suficiente para aferir a alça de rotação do equipamento. Foi padronizado com uma régua uma distância de 03 cm entre a lateral do recipiente e a alça, e a análise foi feita em um total de 01 min à 50 rpm, utilizando uma temperatura padronizada de $\pm 25^\circ\text{C}$, para que a fase sol-gel fosse observada.

3.2.1 Teste de envelhecimento: tempo de formação dos diferentes estados sol-gel

Utilizando a metodologia descrita no item 3.2, foi realizado o monitoramento do tempo de formação dos diferentes estados sol-gel nas SCL.

As soluções antes de serem submetidas a análise de viscosidade, foram agitadas com uma barra magnética à 340 rpm durante o tempo de 01 min, e posteriormente deixadas em repouso por 01 min, para após esse tempo serem submetidas a metodologia descrita no item anteriormente citado.

3.2.2 Teste de desgaste mecânico

Utilizando o equipamento e metodologia citados no item 3.2, o teste de desgaste mecânico foi realizado por meio da avaliação de mudanças na viscosidade das SCL, geradas pelo desgaste exercido pelo equipamento.

Para análise as diferentes SCL, foram dispostas em cálices individuais, e realizadas ensaios em diferentes rotações por minuto (rpm), de forma a submeter as amostras a rotação de forma crescente, até o limite máximo do equipamento (0,5; 0,6; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 10; 12; 20; 30; 50; 60;100), para posteriormente serem submetidas ao desgaste de forma decrescente. As leituras foram realizadas após um minuto em rotação em cada ponto da análise.

3.2.3 Avaliação Reológica das SCL em diferentes temperaturas.

Utilizando o viscosímetro descrito no item 4.2, programado a 50 rpm, as SCL foram submetidas a um ciclo de aquecimento e resfriamento a fim de ter seu perfil reológico em função da temperatura definidos. Para isso foi utilizado uma chapa magnética com aquecimento acoplada ao viscosímetro, onde o cálice utilizado durante a análise foi colocado dentro de um becker de 250 ml contendo água destilada, a fim de aquecer as SCL até a temperatura máxima de 80 °C sem danificar a vidraria que as continham.

Inicialmente as SCL foram resfriadas em banho de gelo até a temperatura de aproximadamente 8°C, e submetidas a aquecimento, até a temperatura de 10° C, para início da análise. As leituras foram realizadas em uma razão de aquecimento de 10°C, na faixa de temperatura entre 10 à 80° C.

Posteriormente foram realizadas leituras em uma razão decrescente de temperatura em razão de resfriamento de 10° C, entre a faixa de resfriamento de 80° C à 10° C. O resfriamento das SCL, foi realizado utilizando um banho de gelo em substituição à chapa de aquecimento.

3.3 Obtenção do precursor híbrido ureasil-poliéter (u-PEO)

Considerando os estudos de Oshiro e colaboradores (2021) foi sintetizado o precursor híbrido do tipo ureasil-poli (óxido de etileno) com massa molar de 500 g/mol (u-PEO 500).

Para a síntese foi utilizado o “O,O’-Bis (2-aminopropyl) polypropylene glycol-block-polyethylene glycol-block-polypropylene glycol 500” (PEO500) (Sigma Aldrich; Estados Unidos, Lote BCBH5375V), que foi funcionalizado com o alcóxido modificado “3-isocianatopropiltrióxissilano” (IsoTrEOS). As proporções para a síntese do precursor foram demonstradas na tabela 2, enquanto a figura 1 ilustra o sistema de refluxo utilizado.

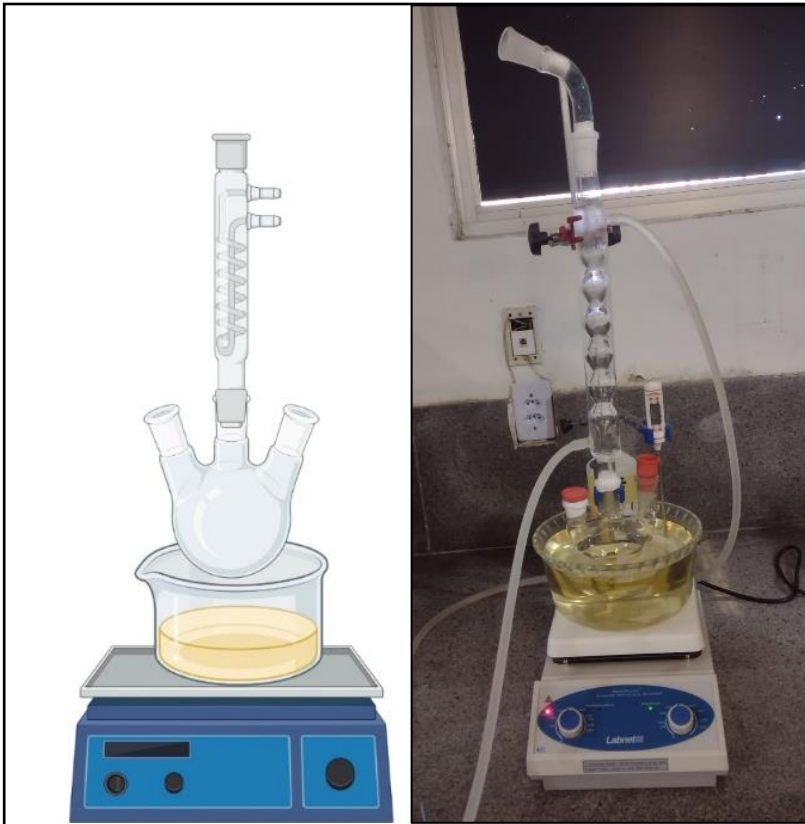
Tabela 2 – Proporções dos componentes da síntese do precursor.

Reagente	PEO 500	Álcool Etílico	IsoTrEOS
Massa/Volume (g/ml)	40,096 g	50 ml	33 g

Fonte: dados da pesquisa

A síntese ocorreu sob um sistema de refluxo em etanol 99% a uma temperatura de 80 °C em banho de glicerina, durante um total de 24h. Inicialmente o PEO500 foi homogeneizado com o álcool etílico. Foi utilizado uma barra magnética para formação de um vórtex. Após a estabilização da temperatura o IsoTrEOS foi gotejado sobre o sistema com o auxílio de uma pipeta. Em seguida o sistema foi selado e o tempo para síntese foi cumprido. Ao final o solvente foi retirado por rotoevaporação.

Figura 1– Sistema de refluxo



Fonte: dados da pesquisa

3.4 Síntese do material híbrido

Partindo do precursor híbrido, citado no item 3.3 foi feita a síntese do material híbrido por meio de etapas de hidrólise e condensação. Para realização da reação foram utilizados Etanol P.A., água ultrapurificada e HCL 2,0 mol/L, como catalizador da reação.

As proporções dos componentes utilizados estão listadas na tabela 3, que foram adicionados na sequência listada com um intervalo de ± 3 min entre eles. A síntese foi feita em um pote cristal de 10 ml contendo uma barra magnética de agitação, sobre uma chapa de agitação magnética. Nas amostras no qual houve a incorporação da glicose foi usada uma proporção de 3% (0,0225 g), após a adição do etanol, durante o processo de síntese. Foram sintetizadas amostras contendo 3% de glicose (triplicata) e 0% de glicose (triplicata), PEO isolado e PEO-glicose 3%.

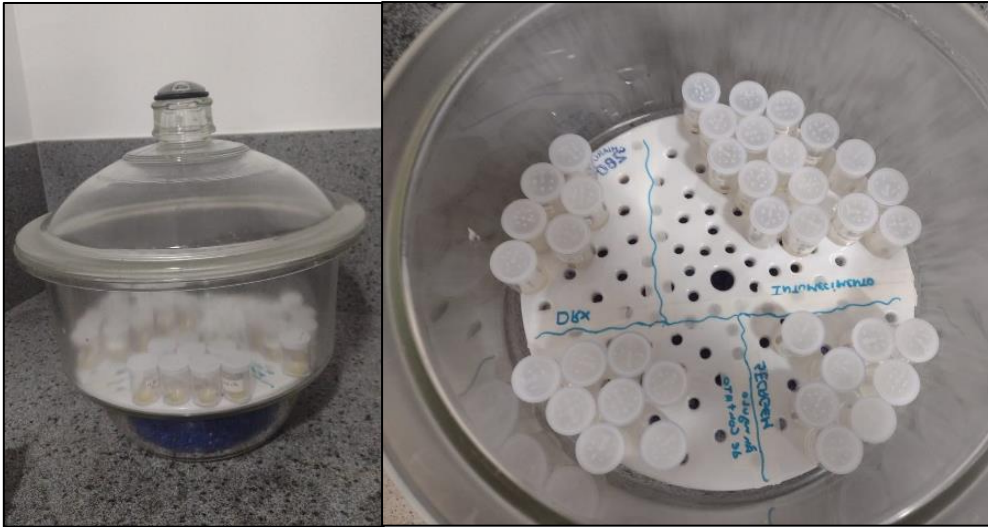
Tabela 3 – Proporções dos componentes da síntese do material híbrido.

	M1	M2	M3	PEO Isolado	PEO+Glic 3%
Precursor híbrido (g)	0,750	0,750	0,750	0,750	0,750
Água (μl)	-	250	500	750	750
SCL 1% (μl)	750	500	250	-	-
Etanol (μl)	500	500	500	500	500
HCl (μl)	50	50	50	50	50

Fonte: dados da pesquisa

Após a síntese, as amostras foram colocadas em dessecador, como mostrado na figura 2, e tiveram seu peso monitorado até sua completa secagem e formação das membranas, o perfil de secagem das amostras foi registrado e comentado nos resultados do item 4.2. Ao final da secagem as membranas foram submetidas a irradiação de luz ultravioleta 365 nm, para caracterização da sua luminescência.

Figura 2 – Secagem das membranas em dessecador



Fonte: dados da pesquisa

3.5 Caracterização Físico-Química das membranas

3.5.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Foi observado o comportamento espectrofotométrico das amostras sintetizadas no item 4.4, para isso foi utilizado um espectrômetro de infravermelho (Spectrum 400, Perkin Elmer, Estados Unidos) utilizando a faixa de varredura de 400 à 650 cm^{-1} em uma faixa de resolução de 4 cm^{-1} com o auxílio do acessório de reflectância total atenuada (ATR), compensando o não uso de pastilhas do KBr.

3.5.2 Difração de raios-X (DRX)

A cristalinidade das amostras, foram observadas utilizando um difratômetro de raios-X (XDR 6000, Shimadzu®, Japão) sob radiação $\text{CuK}\alpha$, com uma varredura angular 50° por montagem do tipo Bragg-Bretano, sistema θ - 2θ , constando varredura na região $0,02$ (2θ) com intervalo de aproximadamente 0,6 segundos por amostra individualizada.

3.5.3 Análise térmica diferencial (DTA)

As curvas do DTA foram geradas pelo analisador térmico simultâneo DTA-TG (DTA-60, Shimadzu®, Japão) utilizando atmosfera de nitrogênio na razão de fluxo de 100 mL/min, tendo com razão de aquecimento de 10 $^\circ\text{C min}^{-1}$, a leitura foi feita em uma faixa de temperatura de 40 à 400 $^\circ\text{C}$. Foi utilizada 2 mg das amostras em cadinho de alumínio selado. Como padrão de calibração do equipamento foi utilizada cadinhos contendo Alumina.

3.5.4 Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas do TG foram geradas pelo analisador térmico simultâneo DTA-TG (DTA-60, Shimadzu®, Japão) utilizando atmosfera de nitrogênio na razão de fluxo de 100 mL/min, tendo com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, a leitura foi feita em uma faixa de temperatura de 40 à 900 °C. Foi utilizada 10 mg das amostras em cadinho de alumina abertos. Como padrão, foi utilizado um cadinho de alumina.

3.5.5 Análise de Ângulo de Contato e Análise Microscópica das Membranas

Para realização dos testes de molhabilidade (hidrofóbico/hidrófilo), foi utilizado como base o ângulo de contato das gotas de água sob os filmes híbridos de ureasil-poliéter.

Para análise as membranas foram cortadas em quadrados de aproximadamente 1 cm, que foram analisados com uma gota de 20 µl, utilizando um goniômetro cinético (AGC 002, Alcalitech, Brasil) com o fator de calibração de 0,017. As medidas foram avaliadas após aproximadamente 15 seg. Os experimentos foram realizados à temperatura ambiente.

Utilizando a câmera acoplada ao equipamento, que possui um aumento de 50x, foi possível a realização da avaliação microscópicas das membranas íntegras e após o corte, para isso, a membrana foi posicionada em um suporte fornecido pela empresa produtora do equipamento.

3.5.6 Análise de Liberação in vitro de glicose

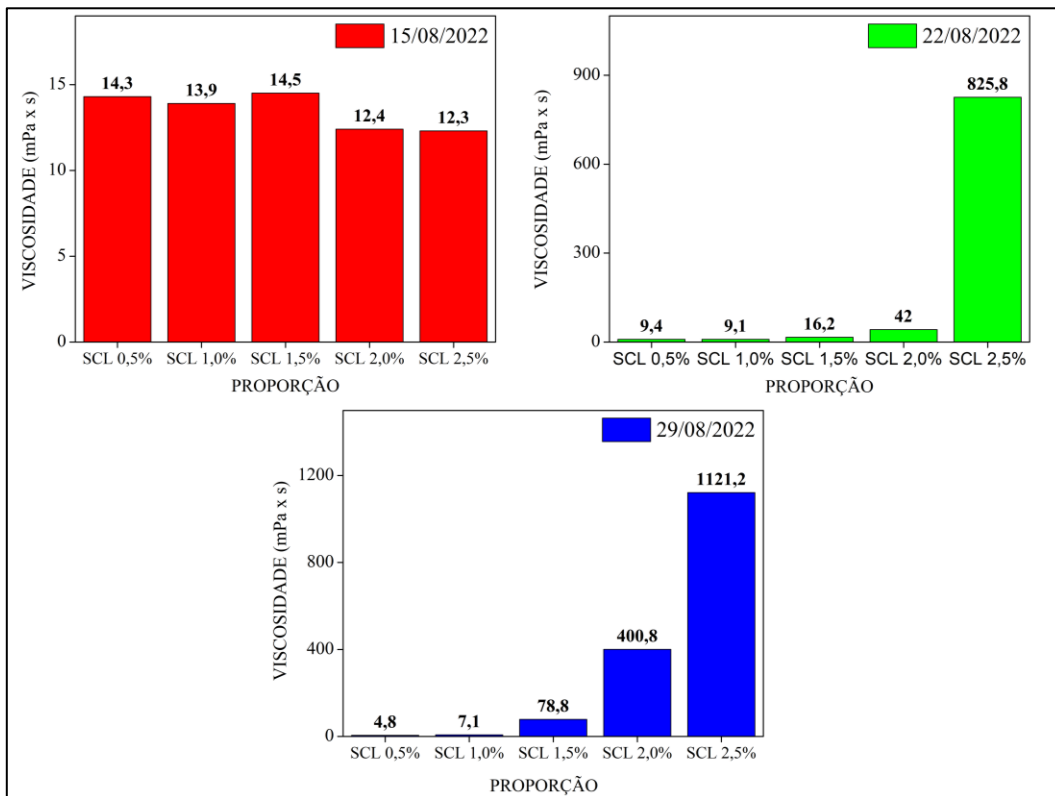
As amostras, foram posicionados em béquer de 25 mL com água ultrapura, com pH em torno de 7,0, a 36,5 ± 1 °C, e colocadas sob agitação à 60 rpm. A faixa de tempo trabalhada foi de 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240 e 360 min. O líquido foi coletado com auxílio de uma micropipeta, sendo retirada 2 mL de amostra e o volume repostado com água ultrapura em seguida, para manter o volume no meio reacional. A glicose foi quantificada utilizando um reagente enzimático (Glicose Liquiform, Labtest®, Brasil), seguindo o preconizado no manual de instruções. Em um eppendorf foi colocado 10 µL da amostra e 1 mL do agente enzimático, após 10 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro para análises clínicas Metrolab 2300 Plus (Wiener lab, Brasil).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e Caracterização das Soluções Coloidais de Laponita

A figura 3 mostra os gráficos referentes aos diferentes tempos de análise para formação da solução coloidal. A primeira leitura (15/08/2022) dia do preparo das soluções, não mostrou variação na viscosidade em diferentes concentrações da argila. Essas características podem ser observadas porque, após ser hidratada, a Laponita intumescce para formação de uma dispersão coloidal, utilizando os íons Na^+ presentes em sua estrutura para formação de camadas duplas em suas faces, sendo necessário tempo para que essa reação ocorra. (Cummins, 2007).

Figura 3 – Monitoramento da viscosidade das SCLs durante um mês para visualização das diferentes fases sol-gel.



Fonte: dados da pesquisa

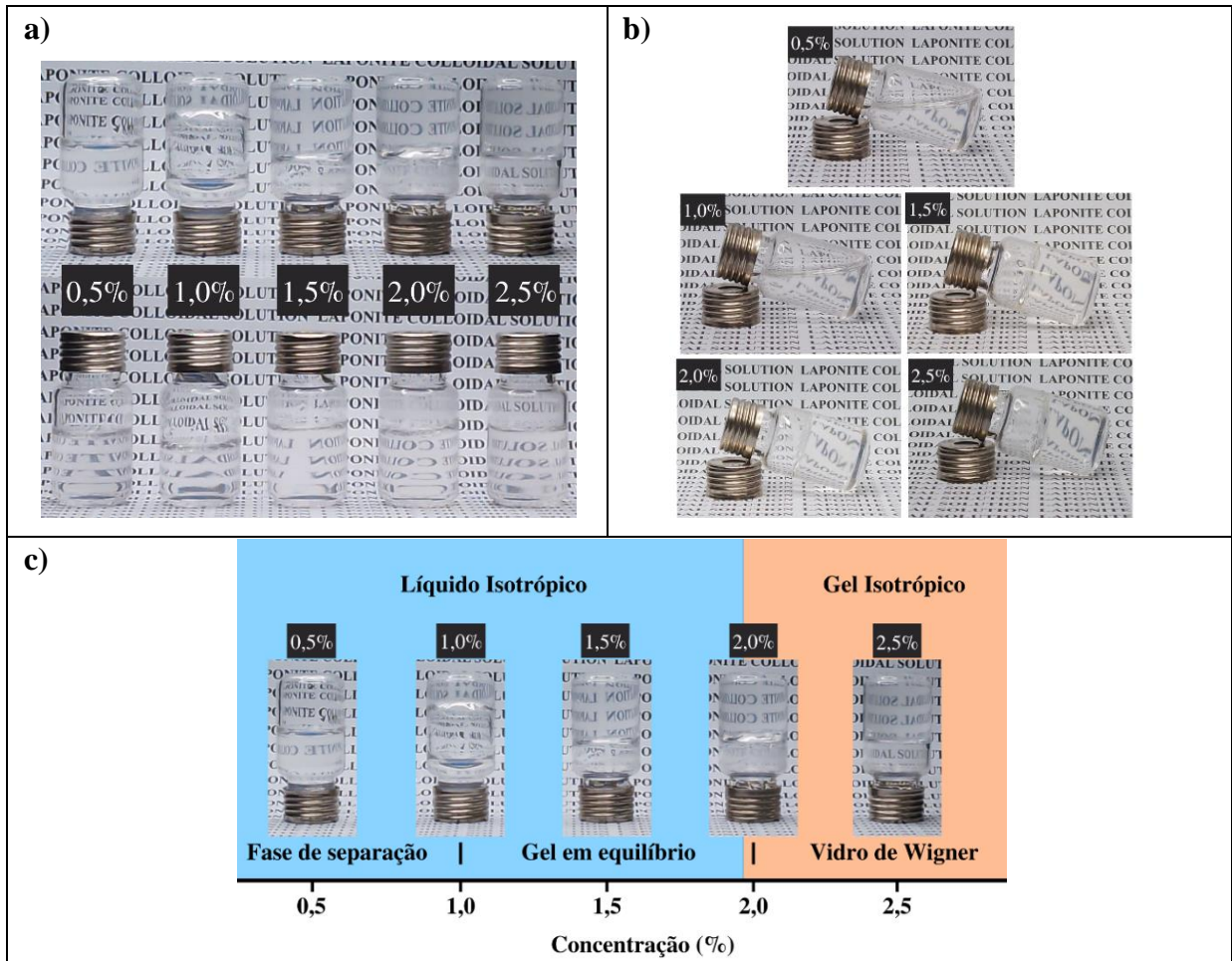
A partir da segunda e terceira semana de observação, as proporções de 0,5 e 1,0% tiveram uma redução da viscosidade, justificado pela tendência a se manterem em fase de solução, devido as baixas concentrações de argila em suas composições, enquanto a proporção de 1,5% apresentou aumento da viscosidade, com a formação de uma fase gel estável. Nas proporções de 2,0 e 2,5% apresentam acelerada formação da fase gel. Ao

observar os perfis de formação das SCL, pode-se concluir que os resultados obtidos nas proporções de 0,5 e 2,5% demonstram que a concentração de sólidos interfere tanto no grau de viscosidade, devido a formação da fase gel, quanto no seu tempo de formação.

Macroscopicamente, a proporção de 0,5 apresenta tendência em permanecer na fase de solução. A partir das concentrações de 1,5% havia uma maior permanência na fase gel, caracterizada pela perda da capacidade do coloide de mover-se pelo espaço do recipiente. Isso ocorre porque a Laponita possui um complexo diagrama de fases relacionado a sua viscosidade dependente da quantidade de argila na solução (RUZICKA; ZACCARELLI, 2011) essa argila não exhibe apenas dois estados distintos sendo diferente apenas em concentração coloidais, mas também mostra um cenário contraintuitivo que envolve estruturas semelhantes a gel em concentrações mais baixas e a um vidro fortemente desconectado em maiores concentrações ($\geq 2\%$). (RUZICKA et al., 2010).

A figura 4 ilustra os diferentes estados sol-gel obtidos nas diferentes amostras de SCLs e a proposição por um diagrama de fases.

Figura 4 – Variações das formações do estado sol-gel nas diferentes concentrações de SCL.



Fonte: dados da pesquisa

Notas: diferentes gelificações obtidas nas proporções de SCLs (A e B); possível diagrama de fases (C).

Em baixa força iônica é notado a presença de dois estados isotrópicos, líquido e gel, que variam com a concentração da argila Laponita disponível em solução. Em concentrações até 1,0% há prevalência de uma separação de fases que, para completar-se plenamente, pode demorar um longo período (perpassando meses); na faixa de concentração de Laponita entre 1,4 a 4%, o sistema formado demonstra de forma expressiva toda a características reológicas da transição sol-gel levando uma rede percolada, que é caracterizada pelas interações entre as cadeias poliméricas da matriz e as superfícies das lamelas da argila, onde estas estão uniformemente dispersas na matriz (JATAV; JOSHI, 2017). Essa formação é evidenciada em concentrações acima de 2% na forma de um vidro fortemente desconectado chamado de vidro de Wigner.

Os estados estruturais das dispersões de Laponita dependem fortemente da concentração e da força iônica, características que interferem no comportamento mecânico das SCL, principalmente na sua variação frente ao desgaste o estresse. Em concentrações

abaixo de 0,75% os SCL são soluções do tipo Newtonianas ou levemente cisalhadas e suas propriedades viscoelásticas são praticamente indetectáveis com instrumentos e métodos convencionais. Nessas concentrações a SCL tende a se manter no estado sol, onde existe a interação repulsiva entre partículas da rede. Em concentrações mais altas, o comportamento é decididamente plástico, resultando na queda da viscosidade com aumento da tensão, estresse e/ou cisalhamento (AU et al., 2015; LAPASIN et al., 2017). Os estudos de Au e colaboradores (2015) apontam que a proporção de 1,5% pode ser considerada como concentração crítica (ponto de viragem) do comportamento newtoniano para o mais próximo do não newtoniano, pelo surgimento da fase gel estável. (AU et al., 2015).

A tabela 4 demonstra os resultados obtidos com as leituras de viscosidade no teste de desgaste mecânico e a tabela 5 mostra as leituras 0,5 e 1,0% refeitas sem o estresse com a finalidade de monitorar seu comportamento mecânico de forma mais satisfatória, enquanto a figura 5 demonstra, em gráficos, os resultados das tabelas.

Tabela 4 – Viscosidade por estresse mecânico das SCLs em reologia (mPa)

(continua)

RPM	SCL 0,5%	SCL 1,0%	SCL 1,5%	SCL 2,0%	SCL 2,5%
100	24,5	42,1	419,5	1028,6	1612,1
60	23,2	33,8	623,7	1662,7	2553,7
50	15,0	32,8	900,0	2388,6	3766,2
30	19,4	38,2	1440,0	3872,2	6244,6
20	19,7	30,7	1652,0	4701,6	7589,2,0
12	48,7	54,7	2640,5	7646,3	12694,0
10	48,6	51,8	3050,6	9105,4	15302,0
6	33,5	53,7	3691,8	12270,0	18778,0
5	72,4	69,1	4708,3	15678,0	25797,0
4	1,6	62,4	5540,4	20645,0	30663,0
3	27,1	80,0	6563,6	24098,0	38852,0
2,5	128,2	46,9	8446,2	31175,0	51039,0
2	7,5	99,0	13210,0	46650,0	72042,0
1,5	107,5	62,2	12189,0	51198,0	80984,0
1	48,6	86,8	8952,7	34162,0	50760,0
1	0,0	6,7	7043,2	26730,0	38100,0

Tabela 4 – Viscosidade por estresse mecânico das SCLs em reologia (mPa s)

(conclusão)					
1,5	67,4	35,1	5650,1	22037,0	31365,0
2	32,8	0,0	4840,5	18502,0	26562,0
2,5	4,0	8,1	4193,0	14146,0	20921,1
3	21,9	32,1	3875,8	11403,0	16713,0
4	37,6	14,4	3087,2	9081,5	13688,0
5	17,5	13,2	1864,6	5384,0	8319,4
6	18,0	16,3	1510,6	4264,6	6704,4
10	14,1	16,6	1064,0	2670,7	4218,1
12	16,7	17,1	673,8	1834,3	2986,5
20	19,5	25,5	399,3	1167,4	1784,3
30	21,2	27,3	341,8	962,1	1459,9
50	25,9	32,7	232,8	623,1	930,8
60	24,5	42,1	419,5	1028,6	1612,1
100	23,2	33,8	623,7	1662,7	2553,7

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 5 – Leituras de 0,5 e 1,0% refeitas sem o estresse mecânico.

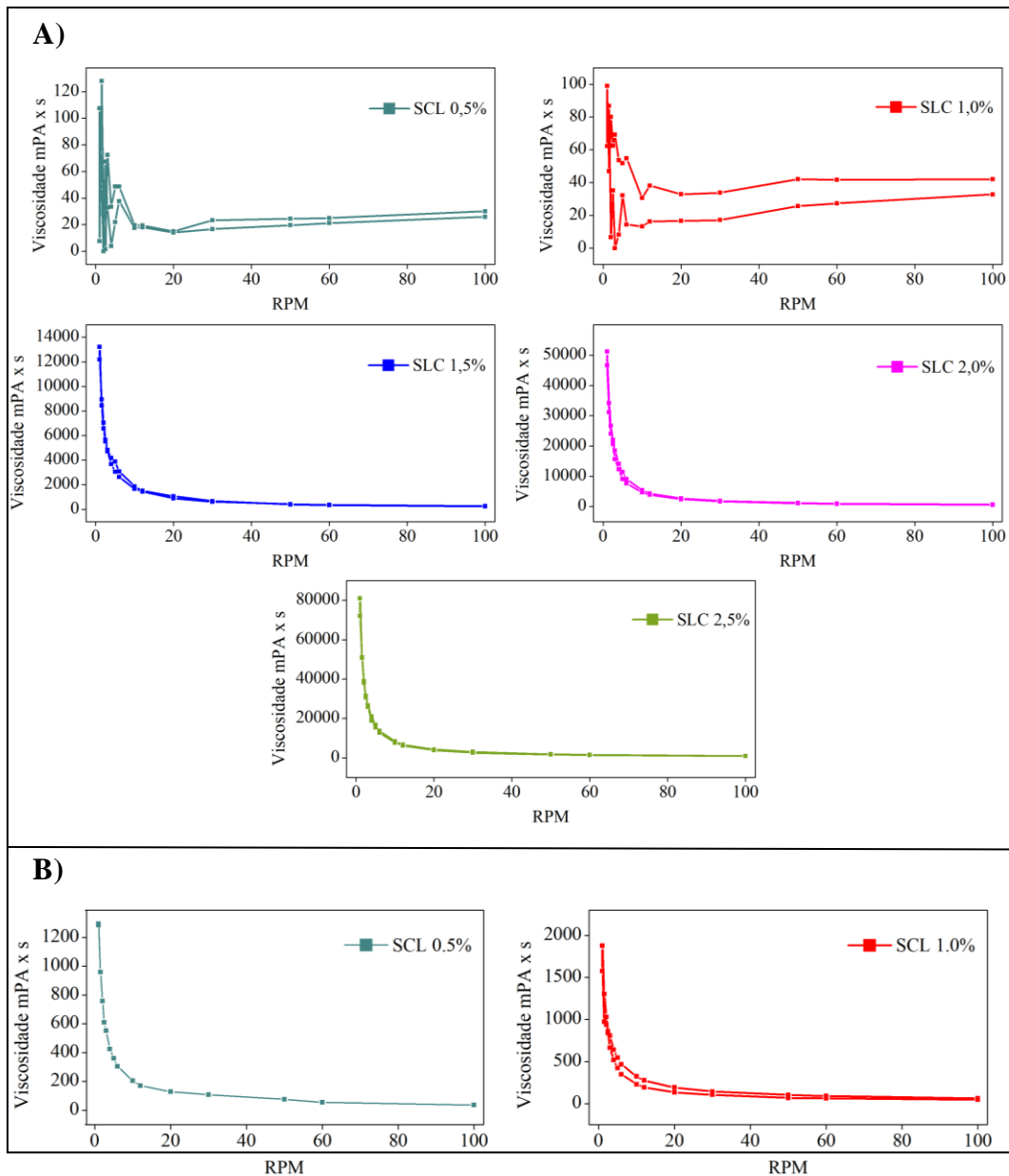
(continua)		
RPM	SCL 0,5% (mPa s)	SCL 1,0% (mPa s)
100	36,0	49,5
60	55,2	61,6
50	75,3	68,9
30	109,4	105,7
20	128,6	134,0
12	171,1	193,8
10	204,8	230,0
6	304,8	349,4
5	361,0	422,8
4	424,3	517,4

Tabela 5 – Leituras de 0,5 e 1,0% refeitas sem o estresse mecânico.

		(conclusão)
3	552,6	666,6
2,5	609,6	839,2
2	757,3	1029,0
1,5	959,9	1300,0
1	1296,8	1878,0
1	1286,8	1574,6
1,5	958,9	972,2
2	757,3	936,4
2,5	609,6	857,0
3	552,6	806,5
4	424,3	639,3
5	361,0	546,9
6	304,8	468,6
10	204,8	324,5
12	171,1	276,2
20	128,6	192,2
30	109,4	143,2
50	75,3	104,2
60	55,2	90,4
100	36,0	63,7

Fonte: dados da pesquisa

Figura 5 – Teste de estresse mecânico: viscosidade/cisalhamento.



Fonte: dados da pesquisa

Notas: teste de estresse mecânico: viscosidade/cisalhamento (A); proporções de 0,5 e 1,0% refeitas sem o estresse (B).

No que se diz respeito ao teste de viscosidade pela variação da temperatura, foi possível observar um perfil de estabilidade da viscosidade das soluções frente ao aquecimento ou resfriamento, concluindo que o composto permanece íntegro nessas condições divergentes.

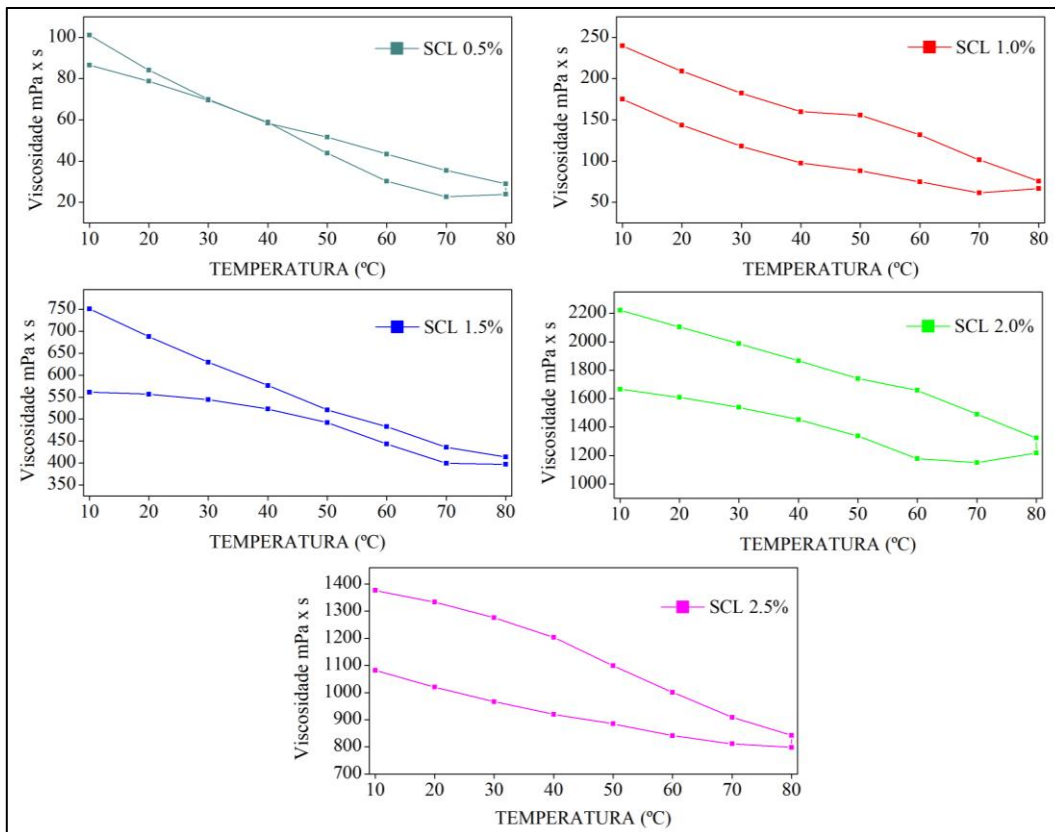
Na tabela 6, pode-se observar os resultados das análises feitas com o aumento de temperatura e posterior resfriamento das diferentes SCL. A figura 6 mostra a representação desses dados em gráficos.

Tabela 6 – Viscosidade por variação de temperatura das SCL (aquecimento e resfriamento).

TEMPERATURA (°C)	SCL 0,5% (mPa s)	SCL 1,0% (mPa s)	SCL 1,5% (mPa s)	SCL 2,0% (mPa s)	SCL 2,5% (mPa s)
10,00	83,6	185,5	560,5	1083,0	1652,4
20,00	80,5	128,7	554,7	1025,3	1602,4
30,00	74,6	111,0	535,7	954,3	1593,0
40,00	59,0	108,0	553,8	918,5	1458,8
50,00	41,1	84,9	485,9	889,4	1300,5
60,00	32,3	77,0	427,5	851,9	1234,8
70,00	21,3	64,0	424,9	819,4	1133,5
80,00	21,4	59,6	363,7	768,2	1077,9
80,00	28,0	71,3	414,8	847,3	1459,6
70,00	41,9	113,8	463,1	899,4	1510,2
60,00	42,0	115,6	470,9	1042,1	1567,9
50,00	45,9	168,2	508,0	1060,0	1795,1
40,00	64,0	171,5	587,5	1195,5	1893,4
30,00	71,8	172,2	632,3	1312,0	1943,5
20,00	79,0	173,6	711,0	1351,4	2096,1
10,00	102,9	263,4	734,1	1355,5	2236,9

Fonte: dados da pesquisa

Figura 6 – Gráficos termorreológicos das SCL



Fonte: dados da pesquisa

De forma geral, a viscosidade de todas as soluções diminuiu com o aumento da temperatura, e sofreram aumento da viscosidade proporcional ao resfriamento, esses resultados evidenciam o caráter plástico da Laponita. Pode ser observado que em proporções menores (0,5 e 1,0%) as SCL não sofreram uma variação abrupta de sua viscosidade em relação a temperatura, enquanto proporções mais altas (1,5 e 2,5%) apresentaram uma variação mais expressiva, demonstrando que a concentração de Laponita interfere diretamente no comportamento da fase gel, influenciando na estabilidade dessa solução coloidal em diferentes temperaturas

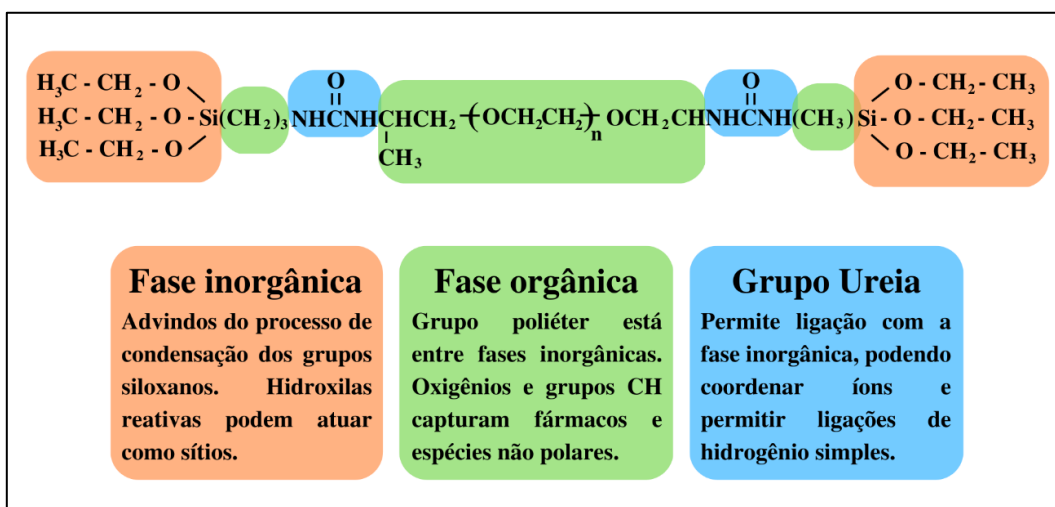
Sistemas binários utilizando a Laponita em outro composto foi utilizado nos estudos de Huang e colaboradores (2019) e Wang e colaboradores (2022) discutem que os sistemas contendo Laponita apresentaram uma maior viscosidade e estabilidade de seus sistemas de incorporação em diferentes variações de temperaturas, promovendo uma maior estabilidade e aproveitamento de suas características, garantindo maior funcionalidade e boa manutenção mecânica. Sendo assim, avaliando as condições reológicas dos testes realizados foi selecionado a SCL à 1,5%, por ter se mostrado um gel estável e com um favorável tempo de

formação, sendo adequado para composição dos sistemas de incorporação de glicose, descritos nesse trabalho, considerando que eles necessitam de flexibilidade, integridade e um perfil de liberação controlada. Um sistema parecido de incorporação envolvendo a Laponita e poli (óxido de etileno) com a mesma proporção de SCL utilizada foi desenvolvido por Daga e Wagner (2006) mostrando a capacidade do PEO de adsorver compostos, tal qual a Laponita, existindo a possibilidade de formação de novas redes que aprimorem o encapsulamento de diferentes substâncias, orgânicas e inorgânicas.

4.2 Síntese e Caracterização do Precursor Híbrido e Filmes Poliméricos.

O ureasil-poliéter forma uma rede híbrida que sofre variação hidrofílica ou hidrofóbica a depender da sua massa molecular, podendo ser otimizado com o uso de outros materiais em conjunto como por exemplo a argila Laponita. A rede híbrida formada possui diferentes sítios localizados na sua matriz, em que a fase orgânica pode ser manipulada para a variedade de massa molar ou outra finalidade desejada, enquanto a fase inorgânica pode sofrer alteração quanto ao número de grupamentos de radicais ligados permitindo o surgimento de novos sítios reativos para otimizar a incorporação. A presença do grupamento de ureia em sua estrutura possibilita essa diversidade de interações por ligar a estrutura formada com sua parte inorgânica de forma estável, permitindo que a extensão de cadeia exista. (MOLINA et al., 2013; OSHIRO et al., 2015, 2017, 2021a; 2021b) A figura 7 mostra a estrutura de u-PEO500, seus sítios de interações das fases orgânicas, inorgânicas, e a disposição dos grupamentos ureia.

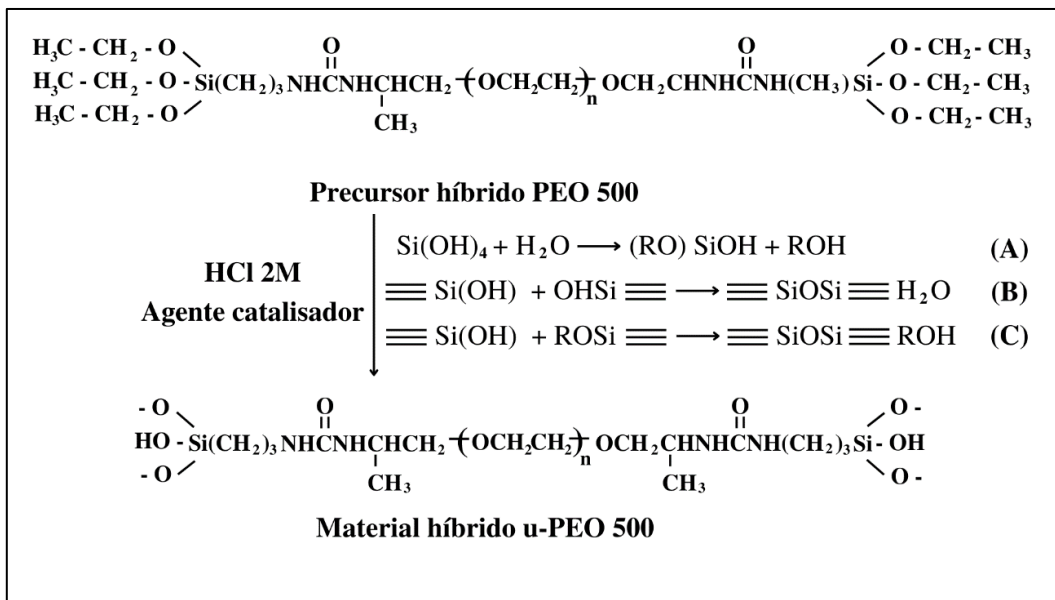
Figura 7 – Estrutura do u-PEO500 e seus principais sítios de interações.



Fonte: dados da pesquisa

Na reação de formação dos filmes híbridos, a adição do catalisador (HCl 2 mol/L) em conjunto com o etanol e a água, auxiliaram na redução progressiva dos grupos OH, mantendo as redes orgânicas e inorgânicas unidas de forma covalente, aumentando, não só a velocidade de transição entre as fases sol-gel, como também a otimização dos sítios de interação e reação com demais substâncias (OSHIRO et al., 2015; 2017). Possibilitando que após a transição entre as fases sol-gel, as diferentes membranas sintetizadas adquiriram uniformidade e gelificação em um tempo de aproximadamente 24h com secagem absoluta em um tempo de observação de 22 dias. A Figura 8 demonstra as reações químicas de hidrólise e condensação após a adição do catalisador, possibilitando a formação do material híbrido.

Figura 8 – Reações de hidrólise e condensação durante a formação do material híbrido.



Fonte: dados da pesquisa

Notas: reação de hidrólise (A), reações de condensação (B e C).

Uma proporção incorreta entre o polímero e a argila pode diminuir a efetividade de formação da fase gel desse modo, a correta síntese e secagem total dos filmes demonstra que a proporção escolhida foi estruturalmente ideal, inclusive no volume máximo adicionado de SCL (1,5%).

Baghdadi, Sardinha e Bhati (2005) afirmam que o PEO de baixa a moderada massa molar desacelera significativamente a gelificação, diminuindo a viscosidade e a característica elástica das SCL, provavelmente pela formação de um impedimento estérico pelo PEO, impedindo a formação do gel, possivelmente pela indução de uma atração de depleção entre as partículas, evitando ou retardando a formação de um vidro coloidal. Em pesos moleculares

altos, as cadeias PEO são longas o suficiente para a formação de pontes entre as partículas, possibilitando a formação de uma rede associativa, que resulta no aumento da viscosidade e elasticidade.

Apesar de aprimorar a capacidade mecânica do sistema, a Laponita possui alto potencial hidrofílico, somada as interações moleculares com o PEO descritas anteriormente, pode refletir em uma saturação do sistema devido ao composto aprisionado em altas concentrações. Esse fenômeno foi observado nas membranas com adição de Glicose nas concentrações de 5 e 10% após três meses de observação, sendo considerado uma característica de instabilidade do sistema assim foi selecionado a proporção de 3% de glicose para os testes de caracterização dependentes de massa.

Pode-se observar na figura 9 os diferentes filmes sintetizados e a precipitação da glicose nas concentrações mais altas após 3 meses da síntese. No entanto, é notável que a integridade do sistema foi mantida em todas as proporções mesmo com as precipitações, o que destaca o aprimoramento das propriedades mecânicas das membranas com adição da SCL, corroborando para que a glicose incorporada seja liberada da maneira desejada. Foi observado também, que para os filmes com glicose 3% a estabilidade física do sistema se manteve durante nove meses, em uma análise a longo prazo, sem nenhuma característica visual de perda da sua forma elástica e de saturação do seu sistema.

Posteriormente foram sintetizados novos filmes contendo glicose 3% e SCL 1,5%, que apresentaram uma secagem gradativa, que se estabilizou após 22 dias de análise. A tabela 7 mostra o peso final das amostras, após a secagem, enquanto os gráficos referentes ao perfil de secagem dessas amostras podem ser observados na figura 11.

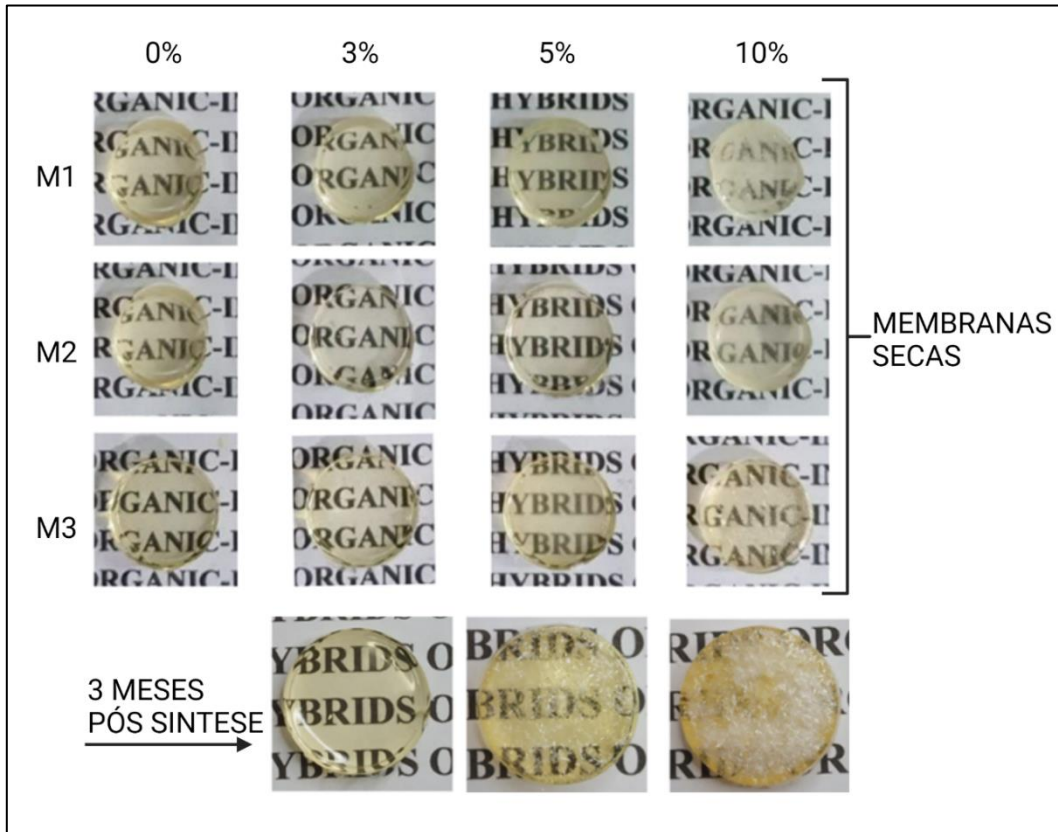
Tabela 7 – Massa dos filmes híbridos após secagem

	M1	M2	M3	M1	M2	M2	PEO	PEO+Glic
	0%	0%	0%	3%	3%	3%	Isolado	3%
Massa Final	0,56	0,55	0,56	0,58	0,56	0,56	0,54	0,57

Fonte: dados da pesquisa

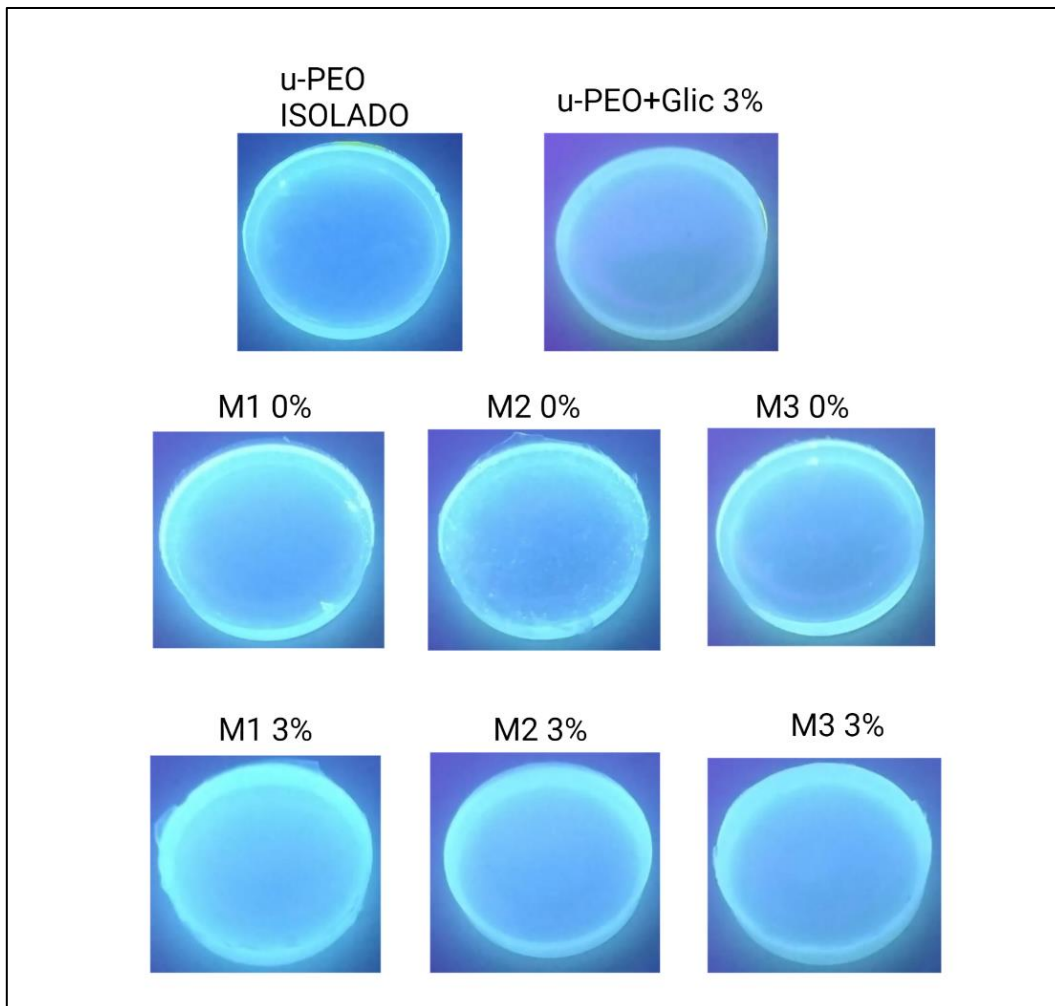
Para as membranas preparadas por processo sol-gel, e SCL 1,5%, independentemente do carregamento com glicose, foram obtidas as mesmas características, tais como, superfície homogênea (sem a presença de fissuras), transparência e luminescência como observado na figura 10.

Figura 9 – Aspectos visuais dos materiais híbridos e precipitação observada.



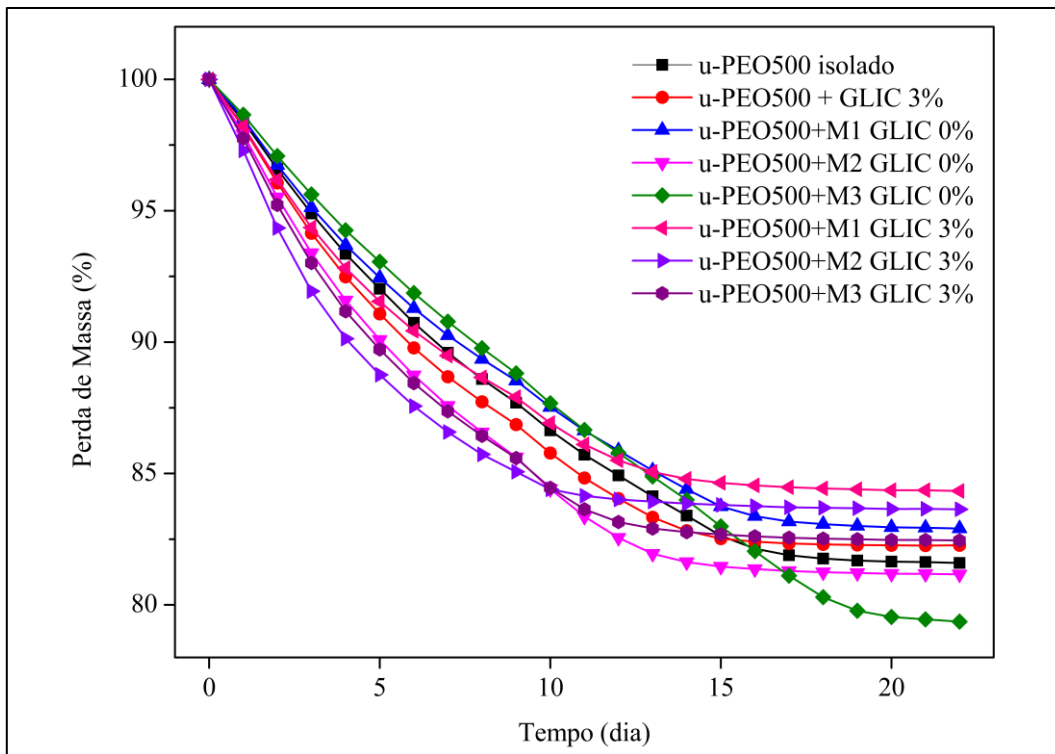
Fonte: dados da pesquisa

Figura 10 – Aspectos visuais das membranas híbridas frente a luz UV.



Fonte: dados da pesquisa

Figura 11 – Gráficos do tempo de secagem dos filmes híbridos.



Fonte: dados da pesquisa

4.3 Caracterização Físico-Química das membranas híbridas.

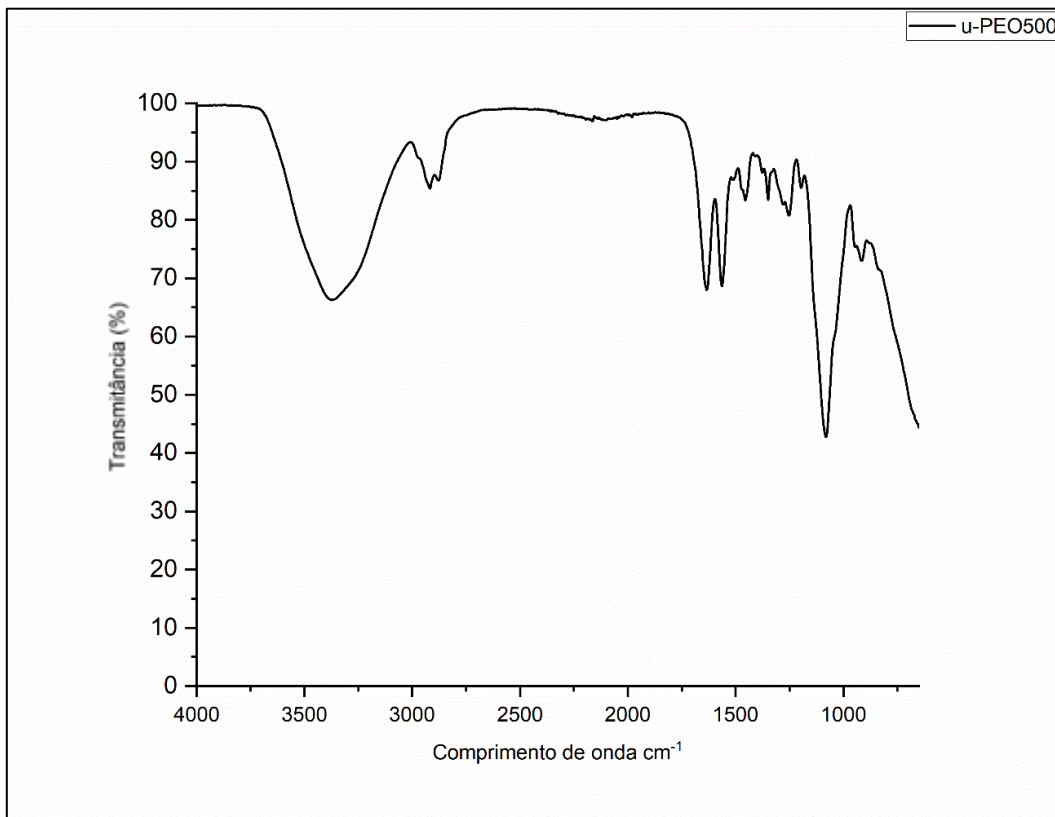
4.3.1 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As medidas espectroscópicas na região do Infravermelho (IR) na região próxima para a determinação das bandas dos Excipientes U-PEO500, Laponita pura, Glicose pura e para a formulação.

A avaliação do u-PEO500 resultou no espectro representado pela figura 12. Foi observada uma banda larga e de média intensidade entre 3695 e 3026 cm^{-1} referente ao estiramento de ligações entre Oxigênios e Hidrogênios das hidroxilas, que se mostram presentes nos grupos silanóis localizados nas porções terminais da molécula de U-PEO500. Bandas referentes aos estiramentos C-H de carbonos sp^3 foram avistadas em 2917 e 2878 cm^{-1} (PAVIA *et al*, 2015). Em 1632 cm^{-1} foi possível encontrar uma banda fina e de média intensidade, que foi atribuída a estiramento C=O de carbonila de amins secundárias presentes na molécula (CHAN-CHAN *et al.*, 2017; MENDES *et al*, 2021). A presença de uma banda fina e de média intensidade em 1567 cm^{-1} é atribuída ao dobramento N-H de amidas secundárias e estiramento C-N (Oshiro *et al.*, 2021b) presentes na molécula do u-PEO500. Os dobramentos referentes aos carbonos sp^3 metilênicos foram vistos em 1458 cm^{-1} e metílicos

em 1352 cm^{-1} , em adição, uma banda larga e de baixa intensidade foi localizada em 1246 cm^{-1} e é atribuída a deformação angular de balanço no plano de carbono CH_2 (BERMUDEZ; CARLOS; ALCÁCER, 1999). A banda intensa e larga avistada em 1080 cm^{-1} foi atribuída a estiramento C-O. Ademais, a banda característica de amins secundárias que pode ser tipicamente encontrada entre 3500 e 3100 cm^{-1} não pôde ser encontrada no espectro obtido. É suposto que tenha ocorrido uma sobreposição de bandas, levando a aparição apenas da banda de estiramento O-H (PAVIA *et al.*, 2015).

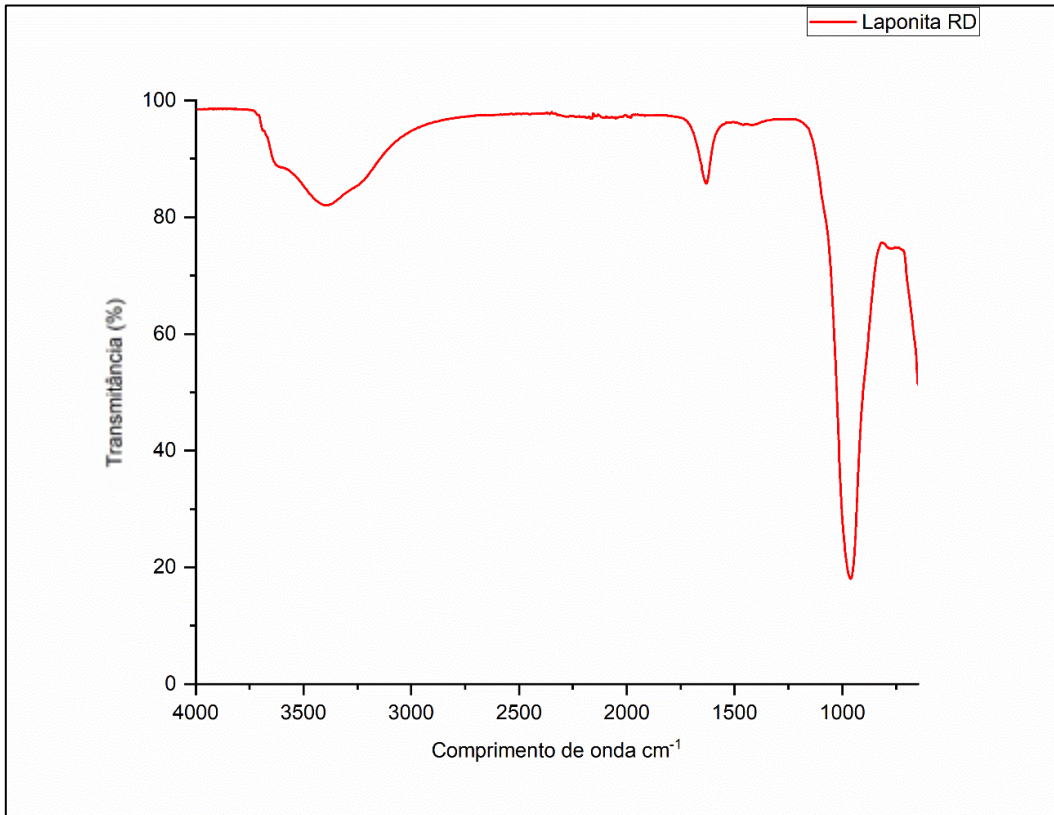
Figura 12 – Espectro obtido para o precursor híbrido u-PEO500.



Fonte: dados da pesquisa

A análise conduzida para a Laponita RD originou o espectro contido na figura 13. Analisando o espectro obtido tornou-se possível notar a aparição de uma banda de média intensidade entre 3096 e 3072 cm^{-1} referente ao estiramento O-H de hidroxilas presentes na molécula. Esta banda apresenta um pequeno “ombro” em 3621 cm^{-1} , sugestivo de ligação de hidrogênio intramolecular de hidroxilas. A banda pouco intensa observada em 1635 cm^{-1} é referente ao dobramento O-H (PAVIA *et al.*, 2015), enquanto a banda intensa e fina situada em 965 cm^{-1} é referente ao estiramento Si-O (PÁLKOVÁ *et al.*, 2010).

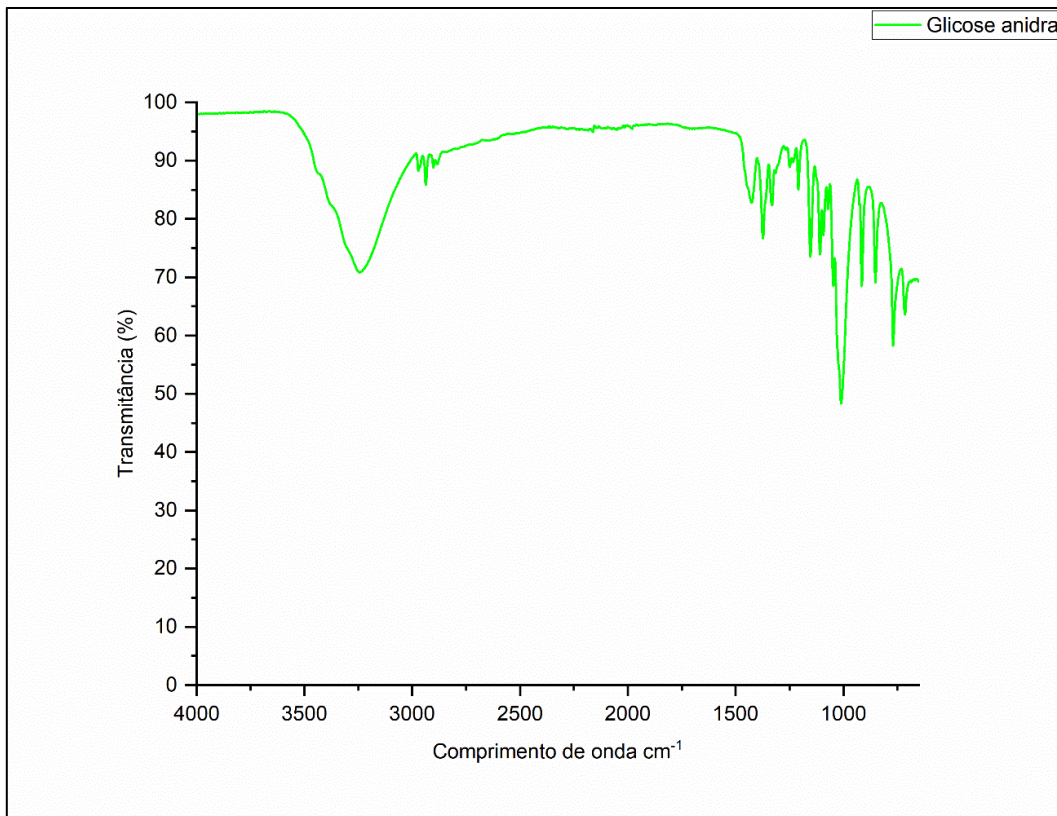
Figura 13 – Espectro obtido a partir da Laponita RD



Fonte: dados da pesquisa

Para o espectro da glicose Anidra (figura 14) foi possível notar a presença de banda intensa e larga entre 3450 e 3024 cm^{-1} referente ao estiramento O-H de hidroxilas. A região entre 2975 e 2881 cm^{-1} apresentou a presença de quatro bandas finas e de baixa intensidade, em 2971, 2937, 2903 e 2883 cm^{-1} , todas referentes a estiramentos C-H de carbonos sp^3 metínicos e metilênicos. Os dobramentos referentes aos carbonos metínicos, metilênicos e as ligações C-O-H e O-H no plano encontram-se na região compreendida entre 1469 e 1211 cm^{-1} (IBRAHIM et al., 2006). O estiramento C-O foi localizado sob forma de banda fina e intensa e em 1008 cm^{-1} . A banda de média intensidade situada em 916 cm^{-1} foi assinalada ao estiramento assimétrico de anel glucopiranosil, e a banda em 850 cm^{-1} é confirmatória da conformação α anomérica da glicose. (Chen et al., 2013). Além destes, a banda pouco intensa em 717 cm^{-1} é sugestiva de piranose em açúcares. (SAHRAGARD; JAHANBIN, 2017).

Figura 14 – Espectro obtido para a glicose anidra

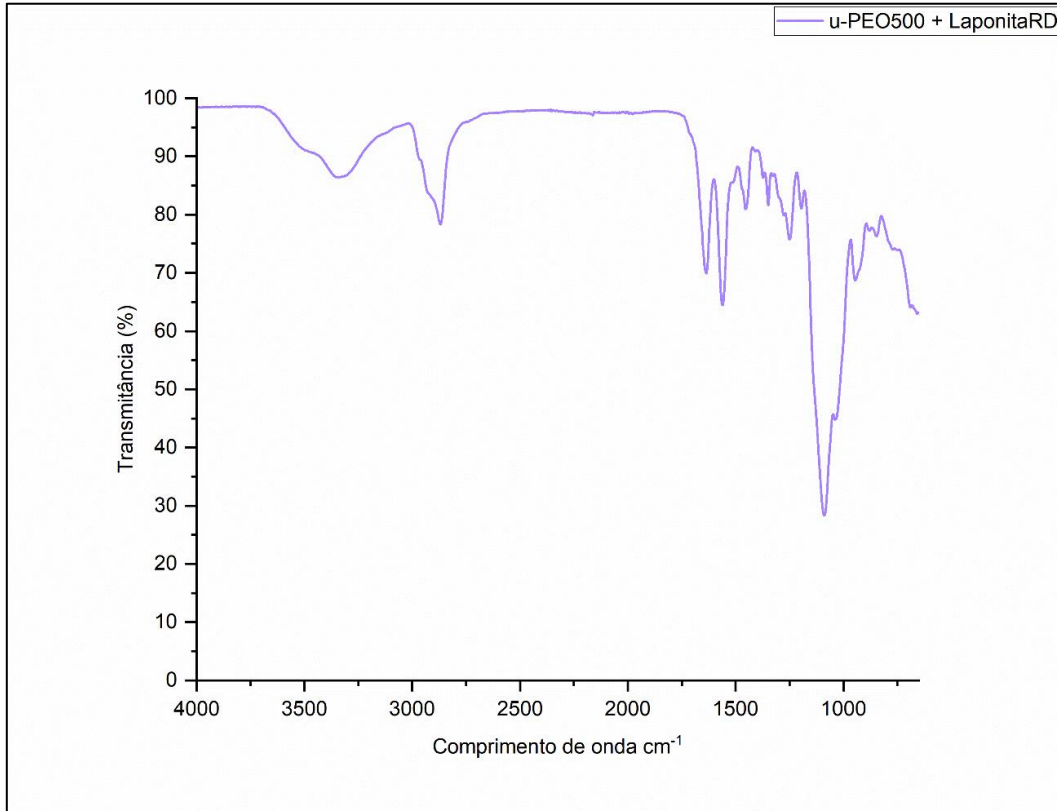


Fonte: dados da pesquisa

A formulação contendo u-PEO500 e Laponita RD foi avaliada via FTIR e o espectro pode ser visto na figura 15. A análise do espectro revela uma banda de estiramento O-H, entre 3639 e 3114 cm^{-1} , com a presença de um “ombro” em 3508 cm^{-1} , símile a da Laponita. Foi observado também, um evento em que as bandas C-H de carbonos sp^3 avistadas anteriormente na figura 15 em 2917 e 2878 cm^{-1} sofreram uma alteração em sua forma, permitindo supor que os heteroátomos constituintes da Laponita exercem influência sobre os carbonos ou hidrogênios ligados a eles, na molécula de u-PEO500. Ademais não foram observadas mudanças significativas em bandas referentes aos estiramentos C=O, N-H e C-N de amidas secundárias originadas da molécula do u-PEO500, tornando possível deduzir que não há interação entre esses grupamentos e os heteroátomos da Laponita. Além destas, os dobramentos de carbono sp^3 localizados em 1449 e 1347 cm^{-1} também não apresentaram mudanças significativas. O estiramento C-O, presente na molécula do u-PEO500 foi localizado tipicamente em 1089 cm^{-1} , com um discreto ombro em 1037 cm^{-1} , que pode ser atribuído ao estiramento Si-O presente na Laponita. A banda em 950 cm^{-1} pode ser encontrada tanto no espectro do u-PEO500, quanto na formulação com Laponita. A avaliação desse

espectro é conclusiva de que não há interações químicas relevantes para provocar alterações significativas na formulação.

Figura 15 – Espectro obtido para a mistura u-PEO500-Laponita

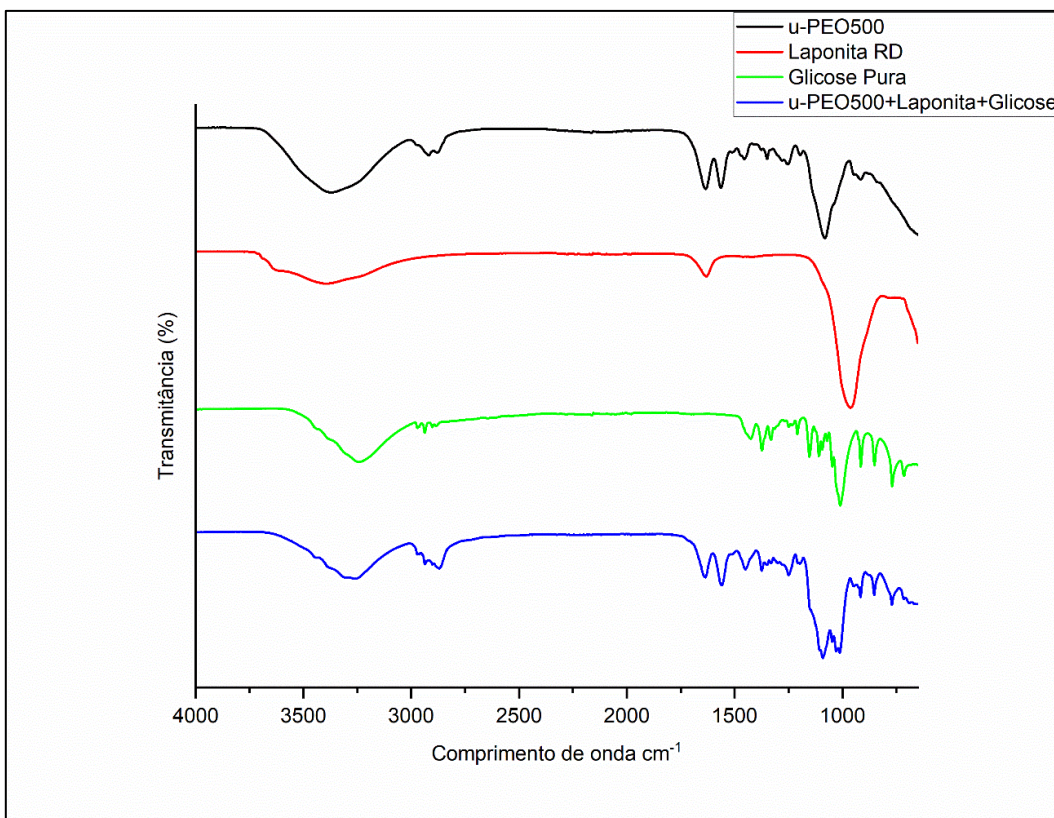


Fonte: dados da pesquisa

A formulação realizada visando a incorporação da Glicose ao u-PEO500 e a Laponita RD foi avaliada via FTIR, conforme a figura 16. Foi avistada a banda de estiramento O-H de hidroxilas entre 3688 e 3024 cm^{-1} . A região entre 2978 e 2836 cm^{-1} apresentou os estiramentos típicos de ligações C-H de carbonos sp^3 presentes no u-PEO500 e Glicose. A banda de carbonila característica de amidas secundárias do u-PEO500 foi avistada em 1633 cm^{-1} , sem deslocamento sugestivo de interação entre os demais componentes da formulação. A banda em 1563 cm^{-1} , referente ao dobramento N-H de amidas secundárias e estiramento C-N e as bandas em 1454 e 1373 cm^{-1} de dobramentos de carbonos sp^3 presentes no u-PEO500 e Glicose também não sofreram alterações significativas, bem como a banda referente a deformação angular de carbonos metilênicos em 1248 cm^{-1} presentes no u-PEO500. A região compreendida entre 1162 e 971 cm^{-1} apresentou uma banda intensa e larga, que apresenta quatro picos, estando localizados em: 1091, 1047, 1028 e 1012 cm^{-1} . A banda larga e os diversos picos podem ser relacionados aos diferentes tipos de estiramentos C-O presentes no u-PEO500 e na Glicose. Não é possível concluir a presença do estiramento Si-O, que pode

estar sobreposto pelos demais estiramentos entre carbono e oxigênio (BERMUDEZ et al., 1999). Em 946 cm^{-1} foi possível observar o aparecimento de uma banda discreta presente apenas na formulação e ausentes nos componentes individuais. A banda em questão pode estar relacionada a interação entre os estiramentos C-O e C-C presentes na molécula de glicose (IBRAHIM et al., 2006). A fina banda localizada em 916 cm^{-1} é comum aos espectros da glicose e U-PEO500 (CHEN et al., 2013; BERMUDEZ et al., 1999b). Enquanto as bandas entre 851 e 688 cm^{-1} são referentes as diferentes vibrações da molécula de Glicose. (CHEN et al., 2013; BERMUDEZ et al., 1999b).

Figura 16 – Comparação entre os espectros das substâncias isoladas e a formulação



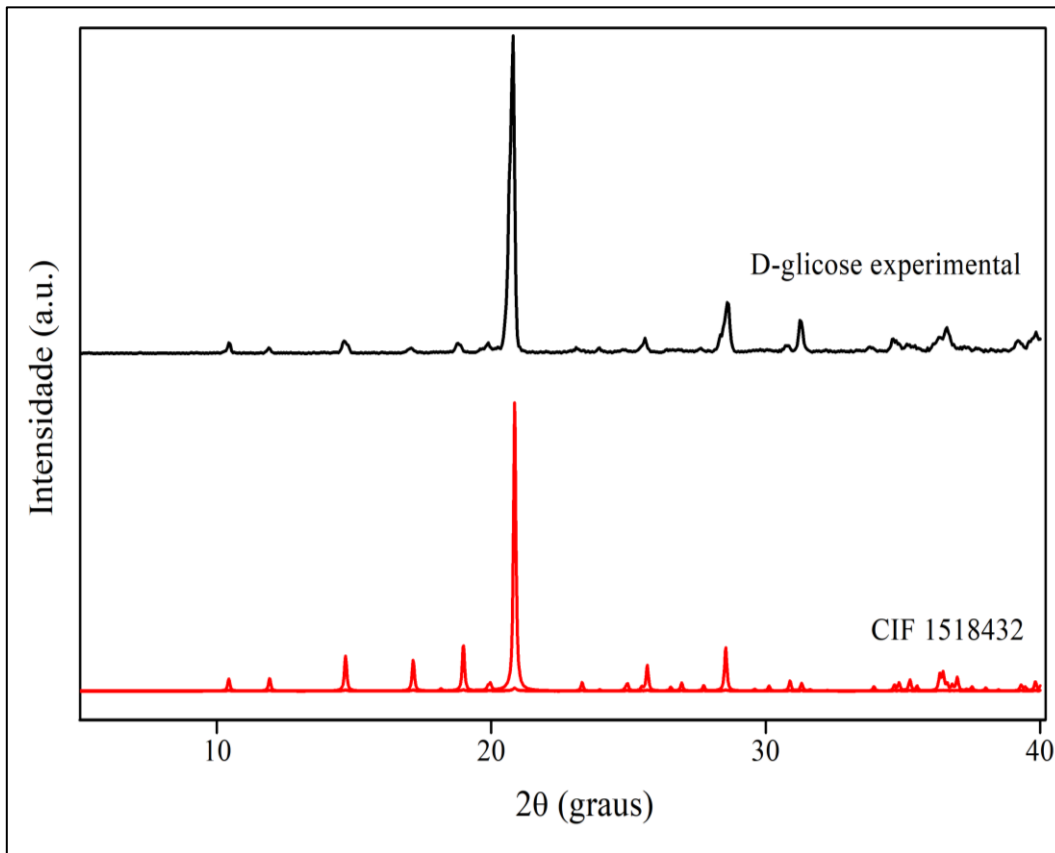
Fonte: dados da pesquisa

Através da comparação entre os espectros de FTIR obtidos dos componentes individuais e da formulação, e ainda com o auxílio da literatura consultada, é possível deduzir que não há interação significativa entre os demais componentes na formulação que possam ocasionar instabilidades, alterações físico-químicas ou alterações farmacocinéticas. Ademais, são necessárias outras técnicas espectroscópicas para confirmar a hipótese, como: a espectroscopia no infravermelho próximo e a ressonância magnética nuclear.

4.3.2 Difração de raios-X (DRX)

A Figura 17 mostra os gráficos experimentais do DRX da glicose utilizada na incorporação nos materiais híbridos em comparação com o gráfico de cristalografia registrado no *database* (CIF 1518432) apresentada pelo estudo de (PATYK; KATRUSIAK, 2015). Segundo os autores, a D-glicose é um composto por sistema cristalina ortorrômbico e grupo espacial $P2_12_12_1$ 5.40(2) GPa, acima do qual passa por uma transição de fase isoestrutural.

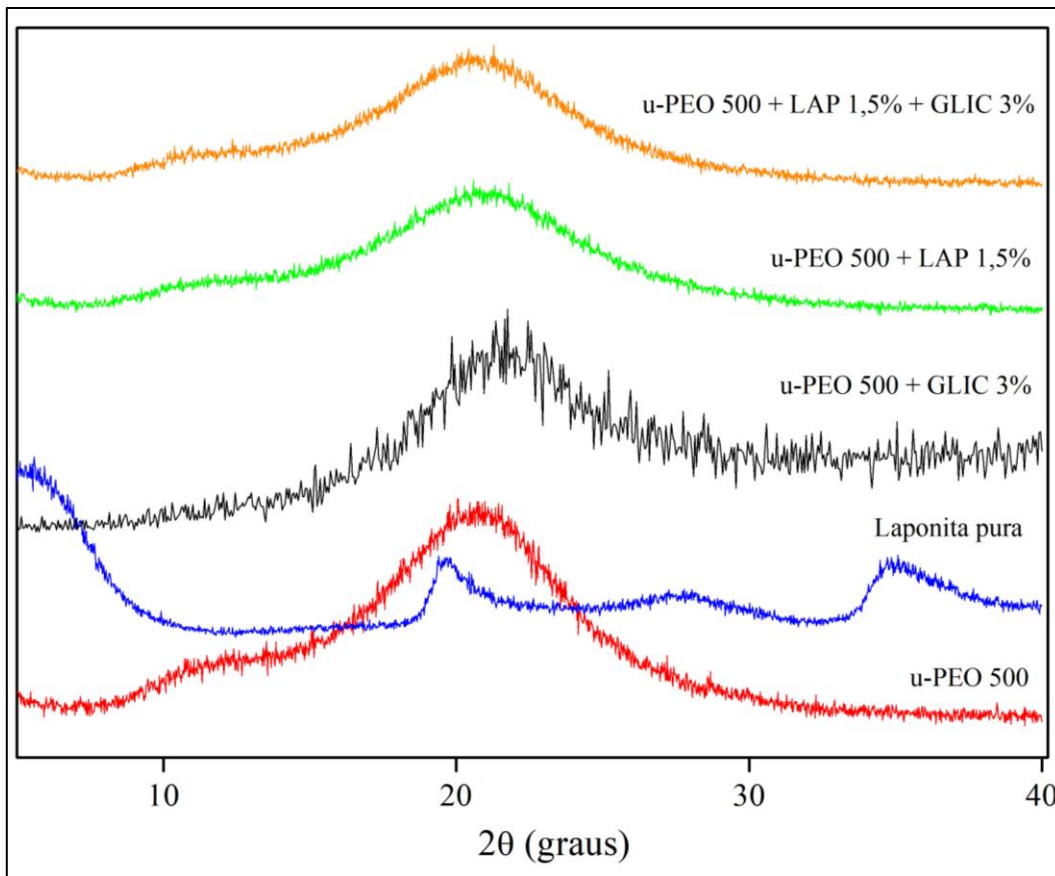
Figura 17 – DRX da Glicose e sua comparação com o CIF: 1518432.



Fonte: dados da pesquisa e CIF 1518432

A figura 18 mostra o gráfico de DRX dos insumos, isolados e em combinação, utilizados para o experimento. Pode-se observar que a Laponita apresenta padrões cristalinos amplos, possivelmente devido ao tamanho dos discos laponícos e sua baixa cristalinidade, foi observado apenas a reflexão em $2\theta:28^\circ$ mostrando alguma perda de definição (GUIMARÃES; GUIMARÃES; CIMINELLI, 2007) como também, o primeiro pico largo presente em torno de $2\theta = 5,0^\circ$ é atribuído ao seu plano cristalino (001) ou espaçamento basal (LI et al., 2014).

Figura 18 – DRX dos insumos, isolados e em combinação

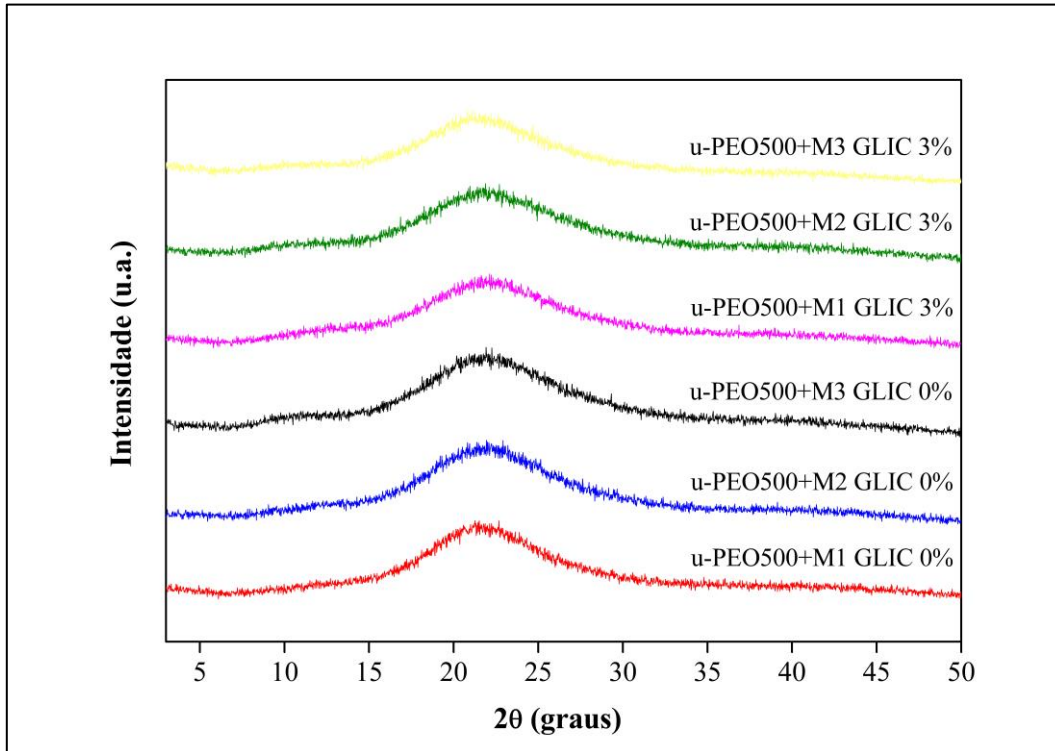


Fonte: dados da pesquisa

Devido seu caráter amorfo do u-PEO500, apresentou apenas um pico largo característico, com seu máximo localizado em $2\theta = 21,6$. (OSHIRO et al., 2021a) A primeira associação, u-PEO 500 + Laponita 1,5% evidenciaram a prevalência do precursor amorfo, visto a baixa cristalinidade, menor tamanho e maior disposição dos cristais da argila, o que demonstra que o material híbrido possui capacidade de adsorver a Laponita na proporção utilizada. Para a segunda, combinação u-PEO500 + D-glicose anidra, houve maior vibração ao longo da leitura devido ao padrão cristalino da glicose dispersa no material, mas a prevalência do comportamento do híbrido demonstra que a glicose foi adequadamente aprisionada corroborando assim com as características visuais. (COSTA et al., 2021). A terceira combinação, simulando uma composição geral das membranas, u-PEO500 + Laponita 1,5% + D-glicose 3% (u-PEO500 + LAP 1,5% + GLIC 3%) evidenciou prevalência do caráter amorfo do u-PEO500, dessa vez com menor prevalência do padrão vibracional da glicose. Na figura 19 essas características foram observadas nos gráficos de DRX referentes as diferentes amostras contendo a SCL, u-PEO500 e glicose, onde o pico característico da composição

amorfa do u-PEO500 na região de $2\theta=20-25^\circ$, foi mantido em todas as proporções formuladas.

Figura 19 – DRX dos filmes híbridos.

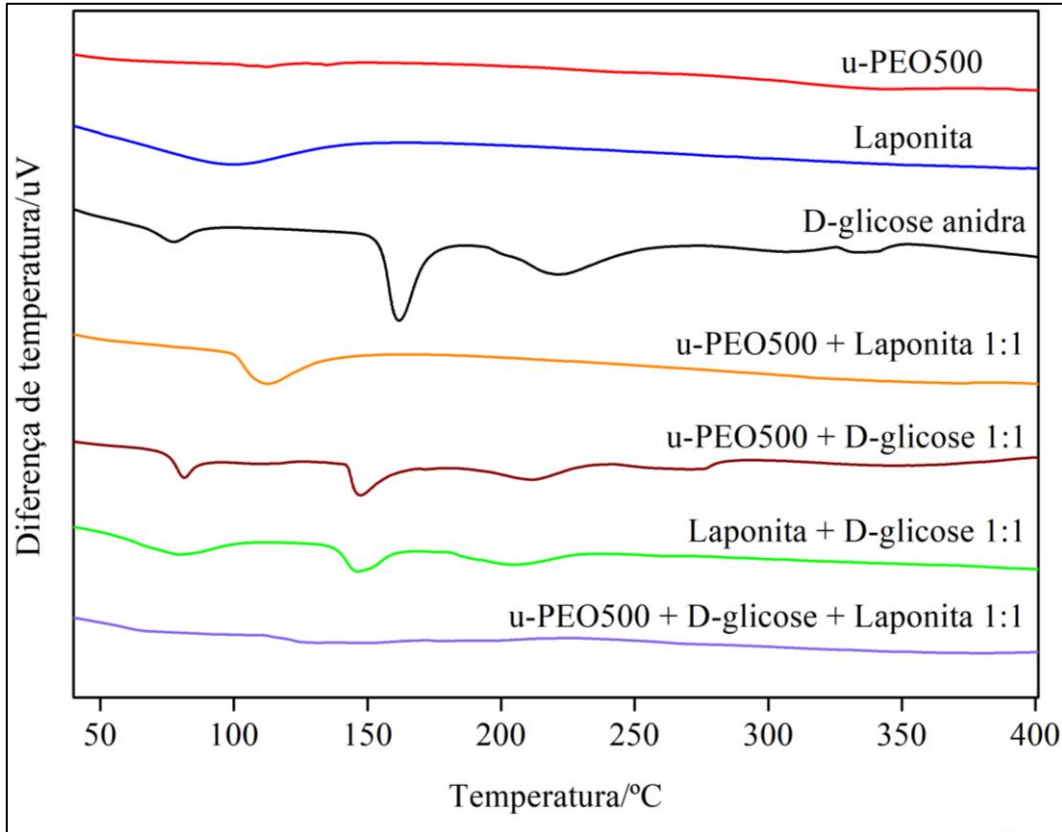


Fonte: dados da pesquisa

4.3.3. Análise térmica diferencial (DTA)

Na figura 20 pode-se observar as curvas térmicas referente a Análise térmica diferencial, das amostras e componentes isolados.

Figura 20 – DTA das amostras isoladas e em combinação.



Fonte: dados da pesquisa

A avaliação das curvas de DTA, possibilitou a observação do caráter amorfo do u-PEO500 (curva vermelha) que por sua vez, condiz para a sua análise não apresentar eventos térmicos definidos e/ou visíveis assim só foi possível avaliar seu perfil térmico em associação com outro composto. A Laponita (curva azul) possui um evento endotérmico de pequena intensidade, visível na faixa de 99,66 °C provavelmente relacionado a perda de água fracamente ligada a sua estrutura. Relatos na literatura atribuem a Laponita uma resistência e estabilidade térmica de até 700 °C, onde após essa temperatura ocorre a perda dos grupamentos de hidroxilas em sua estrutura. (GHADIRI et al., 2013). Os perfis de ambos os componentes foram mantidos na curva da mistura binária entre o U-PEO 500 e a Laponita (curva amarela), onde só pode ser observado um pico endotérmico acima de 100 °C, podendo ser proveniente da perda de água ligada a estrutura da Laponita.

Já a glicose (curva preta) apresenta um pico endotérmico de baixa intensidade localizado em 77,37 °C, eventos como esse já foram descritos na literatura, em faixas de temperatura próximas a observadas, sendo referenciado que o evento térmico pode ser devido à perda de água associada à presença de uma pequena quantidade de monohidrato de α -D-glicose na glicose anidra. (LEE; THOMAS; SCHMIDT, 2011). Pode ser evidenciado em 161,81 °C um pico endotérmico intenso referente temperatura de fusão do equilíbrio de cristalino do composto, valores nessa faixa de temperatura também foram observados para a α -D-glicose. Pode ser observado um evento endotérmico de baixa intensidade em 220,70 °C, que pode ser referenciado ao início da degradação do composto, podendo ser evidenciada uma perda de massa nessa temperatura. (MAGONÍ; PYDA, 2011). O evento endotérmico observado em 334,13 °C pode estar relacionado a degradação por pirólise de compostos voláteis produzidos durante a decomposição por aquecimento excessivo da glicose. (FAGERSON, 1969.)

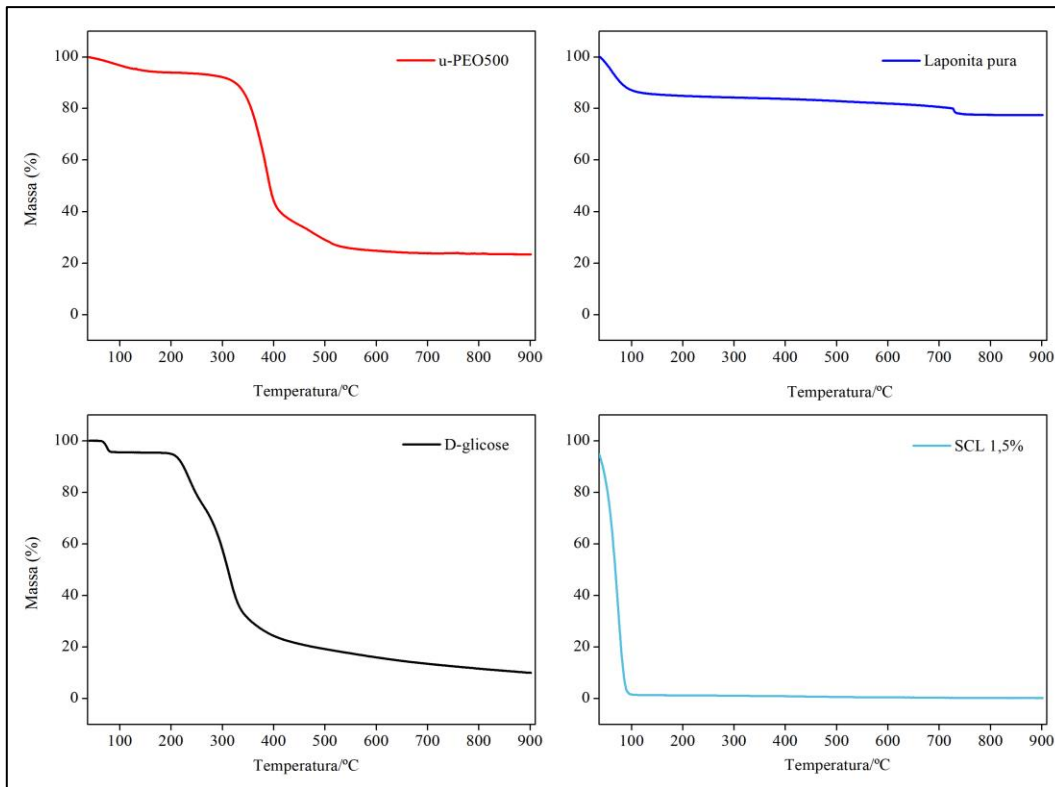
Considerando a curva dos compostos isolados, pode-se observar que na mistura binária entre o U-PEO 500 e a Glicose (curva marrom), e da Laponita e a Glicose (curva verde) pode-se observar que os picos característicos da glicose se mantêm em suas devidas faixas de aquecimento, porém com uma perda de intensidade, evidenciando a incorporação da glicose ao precursor híbrido e a argila, respectivamente, mas de forma a não se ter a estabilidade térmica ideal.

Essas características térmicas são suprimidas quando observado a mistura entre os três componentes U-PEO 500-LAPONITA-GLICOSE (curva lilás), onde pode ser observado o caráter amorfo do precursor híbrido e estabilidade térmica da Laponita, não sendo observados os eventos térmicos de degradação da glicose. Já foi observado que a presença de Laponita pode ser relacionada a mudanças na estabilidade térmica dos componentes intercalados em sua estrutura em camadas. No caso do presente estudo a glicose, que pode ter apresentado uma maior resistência térmica, por estar intercalada entre os discos de Laponita, que por sua vez está contida na estrutura híbrida do u-PEO 500. (GHADIRI et al., 2013).

4.3.4 Análise termogravimétrica (TG)

Na figura 21 é possível observar as curvas de análise termogravimétrica dos constituintes do filme híbrido em sua individualidade.

Figura 21 – Curvas TG dos constituintes isolados (U-PEO 500, Laponita e D-Glicose).



Fonte: dados da pesquisa

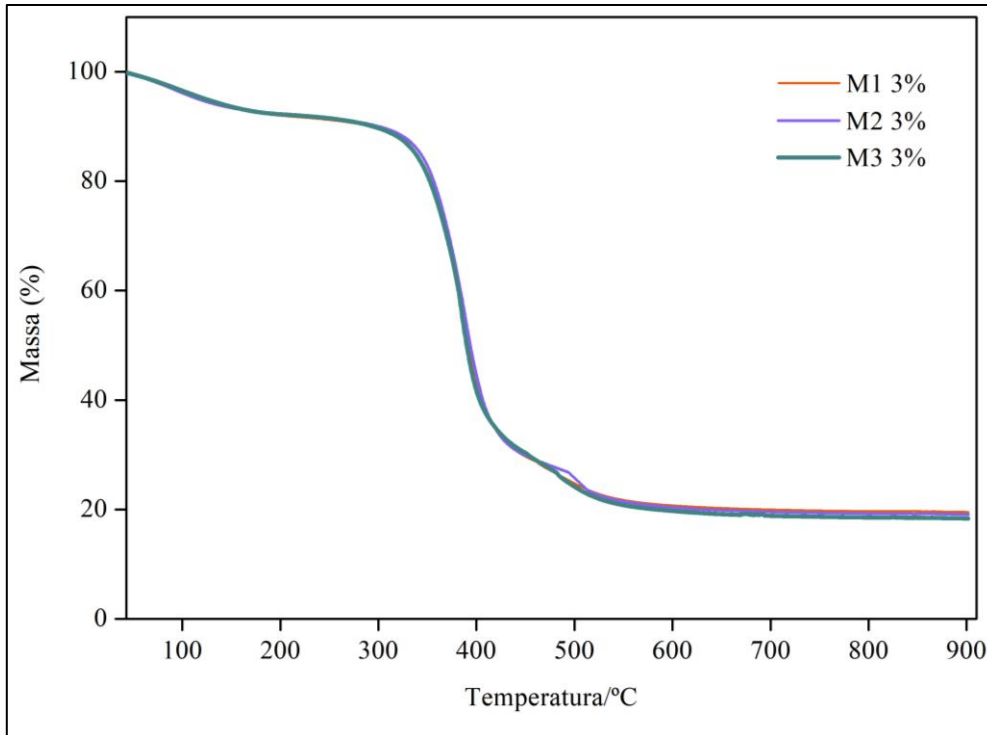
Na curva do U- PEO 500 (curva vermelha), é possível observar uma perda de massa inicial acima de 150 °C, com uma perda de 7,03%, podendo ser atribuída a perda de umidade e componentes voláteis, residuais de seu processo de síntese, como por exemplo o ácido clorídrico e o álcool. Posteriormente pode ser observada uma expressiva perda de massa, ocorrendo entre a faixa de 300 e 400 °C, com uma perda de 67,20%, que pode ser atribuída a perda do grupamento ureasil (BARBOSA et al., 2011). Na faixa acima de 400 °C pode se observar um último evento térmico de degradação dos grupamentos siloxanos, que ocorreu em uma faixa de temperatura mais elevada possivelmente devido a utilização de HCl como catalisador da reação, onde de acordo com relatos da literatura a utilização do ácido em questão, proporciona uma melhor formação de agregados mais compactos de siloxano dispersos na matriz. (ZALDIVAR et al., 2017).

Na curva termogravimétrica da Laponita (curva azul) pode-se observar uma perda de massa na faixa de 100 °C, característico da perda de umidade pela água fracamente ligada a sua estrutura, que devido a sua termo estabilidade se mantém inalterada até a temperatura de 700 °C. Corroborando com os dados observados no DTA dessa substância, que entre 700 °C e 900 °C há uma degradação que pode ser atribuída a desidroxilação da malha de silicato lamelar da argila. (SIQUEIRA et al., 2014). Considerando esse perfil térmico, na curva TG da SCL 1,5% (curva verde) pode-se observar uma perda de massa intensa na faixa de 100 °C, podendo ser atribuído a perda de água. Ademais, uma vez que a amostra apresenta uma baixa concentração de argila em sua composição, não foi possível observar os eventos característicos acima de 700 °C.

Os eventos térmicos observados na curva termogravimétrica da Glicose tiveram início na faixa de 100 °C, que podem ser relacionados a perda de umidade e água ligada fracamente em sua estrutura. Posteriormente o evento iniciado na faixa de 200 °C pode ser relacionado a perda da sua estrutura cristalina, seguida pela pirólise desse açúcar formando componentes voláteis e proporcionando uma maior perda de massa, o evento foi finalizado na faixa de 350 °C, com uma perda de mais de 60% da amostra. (FAGERSON, 1969).

Considerando o perfil térmico dos componentes isolados, as membranas formuladas a partir de misturas entre eles, apresentaram padrões de perda de massa semelhantes aos componentes isolados. As curvas apresentaram uma perda de massa discreta na temperatura de 100 °C, característico de perda de umidade pela amostra, seguindo por uma perda de massa entre 300 °C e 400 °C, semelhantes a perda de massa observado para o U-PEO 500, característico da perda dos grupamentos ureasil. Não foi possível observar os eventos térmicos característicos da Laponita, acima de 700 °C, possivelmente pela pequena concentração da SCL usada na síntese das membranas ou pela alocação dessas SCL dentro da estrutura híbrida do ureasil- poliéter, conferindo a elas uma maior resistência térmica. Na figura 17 é possível observar as curvas referentes as amostras contendo diferentes proporções de U-PEO 500, Laponita e glicose (M1, M2 e M3). Na tabela 8 é possível observar a referência numérica para todos os eventos observados nas figuras 21 e 22, sendo a temperatura de início e término de cada evento (°C), a perda de massa (%) e a quantidade de cinzas gerada após a análise (%).

Figura 22 – Curvas TG das amostras de filme contendo todos os constituintes.



Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 8 – Parâmetros de TGA das amostras isoladas, e incorporadas em membranas
(continua)

Amostra	Evento	T _{inicial} – T _{final} (°C)	Perda de Massa (%)	Resíduo de Cinzas (%)
u- PEO500	Primeiro	39,54 – 277,23	7,03	23,22
	Segundo	277,23 – 408,39	52,04	
	Terceiro	408,39 – 545,82	15,16	
	Quarto	545,82 – 901,71	2,55	
Laponita	Primeiro	38,52 – 120,99	13,99	77,41
	Segundo	120,99 – 725,69	6,01	
	Terceiro	725,69 – 901,85	2,59	
Glicose	Primeiro	39,99 – 87,42	4,34	9,90
	Segundo	87,42 – 349,60	64,48	
	Terceiro	349,60 – 901,71	21,28	
SCL 1,5%	Primeiro	28,20 – 98,27	98,29	0,21
	Segundo	98,27 – 901,90	1,50	

Tabela 8 – Parâmetros de TGA das amostras isoladas, e incorporadas em membranas
(conclusão)

M1 3%	Primeiro	40,02 – 278,53	9,48	19,30
	Segundo	278,53 – 426,65	57,67	
	Terceiro	426,65 – 522,86	10,08	
	Quarto	522,86 – 901,89	3,47	
M2 3%	Primeiro	40,62 – 278,93	9,15	18,91
	Segundo	278,93 – 426,93	57,95	
	Terceiro	426,93 – 523,06	10,35	
	Quarto	523,06 – 901,78	3,64	
M3 3%	Primeiro	40,63 – 278,80	9,29	18,15
	Segundo	278,80 – 426,80	57,28	
	Terceiro	426,80 – 523,83	11,54	
	Quarto	523,83 – 901,65	3,74	

Fonte: dados da pesquisa

4.3.5 Teste de ângulo de contato e imagens microscópicas das membranas

As imagens 23 a 29 mostram a estrutura das membranas sem o corte (A) sob um aumento de 50x, onde pode ser observado a estrutura lisa e sem ranhuras das membranas, destacando a presença de bolhas nas amostras M1 e M2 0%. Apesar disso, pode ser observado que ao ser submetidas ao corte com uma lâmina, nenhuma das amostras apresentou-se quebradiça ou partiu-se após a perturbação na sua estrutura, podendo ser observado nas imagens das membranas pós corte (B), evidenciando a resistência mecânica desses sistemas híbridos.

Na análise de ângulo de contato das amostras, foi observado um baixo ângulo de contato e uma maior tendência a dispersão da gota, apresentando valores entre 40 e 45°, resultados semelhantes para o precursor híbrido u-PEO 500 foi observado por Oshiro et al., (2021a). Esse tipo de situação ocorre em sistemas que possuem a característica de umedecimento parcial, que ocorre quando o equilíbrio do ângulo de contato é finito. (GRUNDKE et al., 2015). Na tabela 9 é possível observar que em todas as amostras os valores de diâmetro do centro e diâmetro da base das gotas foram iguais, podendo ser observado a formação de uma gota rasa (figuras: 23c a 29c), com um ângulo menor do que 90° ($\theta < 90^\circ$) caracterizando a superfície das membranas como hidrofílica. (DE GENNES,

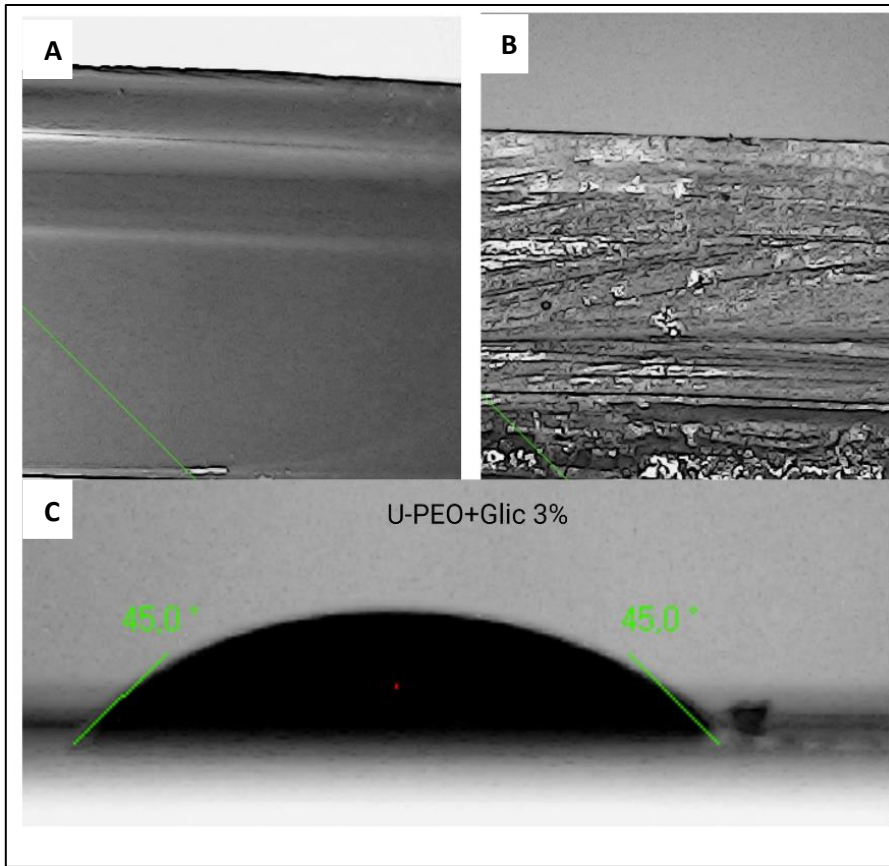
1985). Essa característica se mostra favorável para a membrana desenvolvida, uma vez que no ambiente de lesão óssea existe uma diversidade de líquidos que vão interagir com a membrana, causando seu entumescimento e posterior liberação da Glicose no meio, a fim de dar suporte a regeneração óssea de grandes fraturas.

Tabela 9 – Perfil de ângulo de contato das diferentes membranas

	u-PEO + Glic 3%	u-PEO M1 0%	u-PEO M2 0%	u-PEO M3 0%	u-PEO M1 3%	u-PEO M2 3%	u-PEO M3 3%
Diâmetro do centro (mm)	7,0	7,5	7,0	7,1	7,5	7,2	7,6
Diâmetro da base (mm)	7,0	7,5	7,0	7,1	7,5	7,2	7,6
Altura (mm)	1,4	1,4	1,3	1,5	1,4	1,5	1,5
Raio (mm)	3,5	3,7	3,5	3,6	3,7	3,6	3,8
Área de contato (mm ²)	6,9	7,1	6,2	7,2	7,4	7,2	7,6
Volume (µl)	19,7	19,9	16,1	20,5	21,2	20,8	22,1
Ângulo de contato (°)	45,0	40,9	40,3	44,4	42,2	44,0	41,8

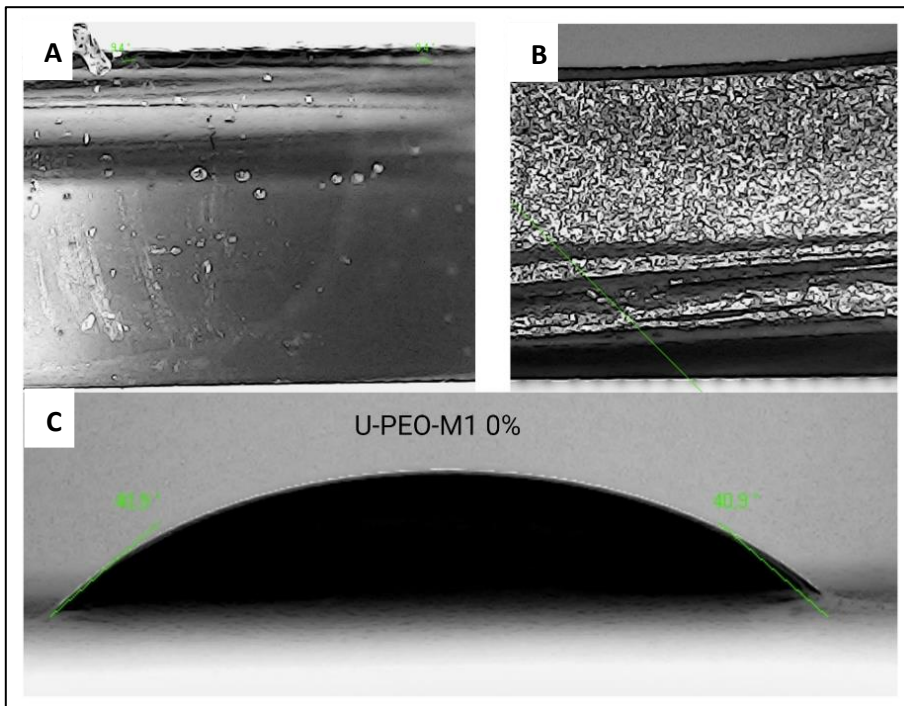
Fonte: dados da pesquisa

Figura 23 – Características visuais da membrana U-PEO+GLIC 3% e seu ângulo de contato



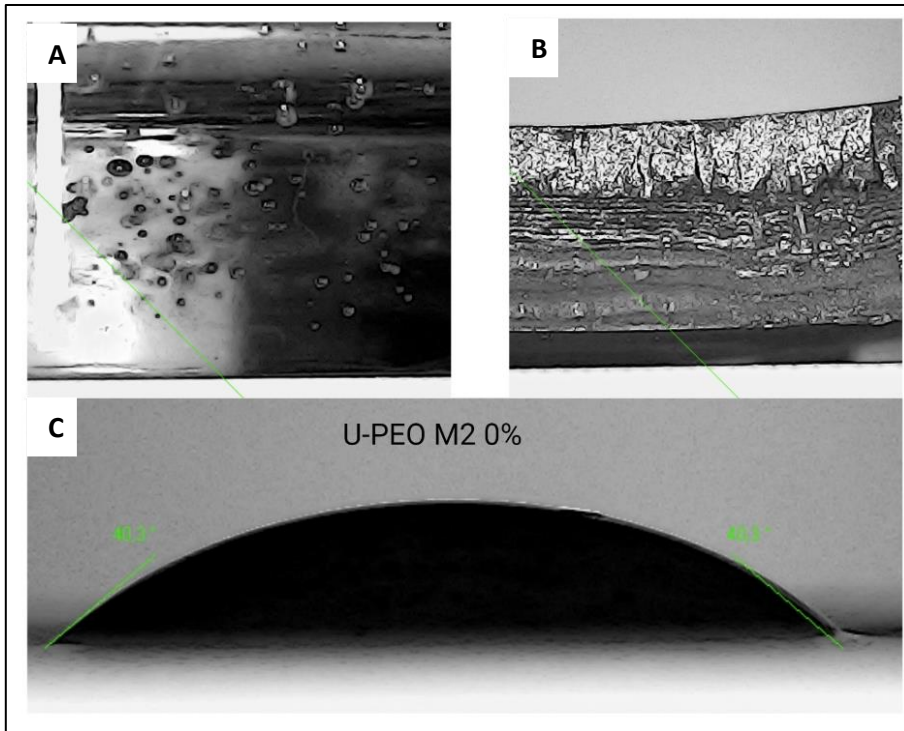
Fonte: dados da pesquisa

Figura 24 – Características visuais da membrana U-PEO- M1 0% e ângulo seu de contato



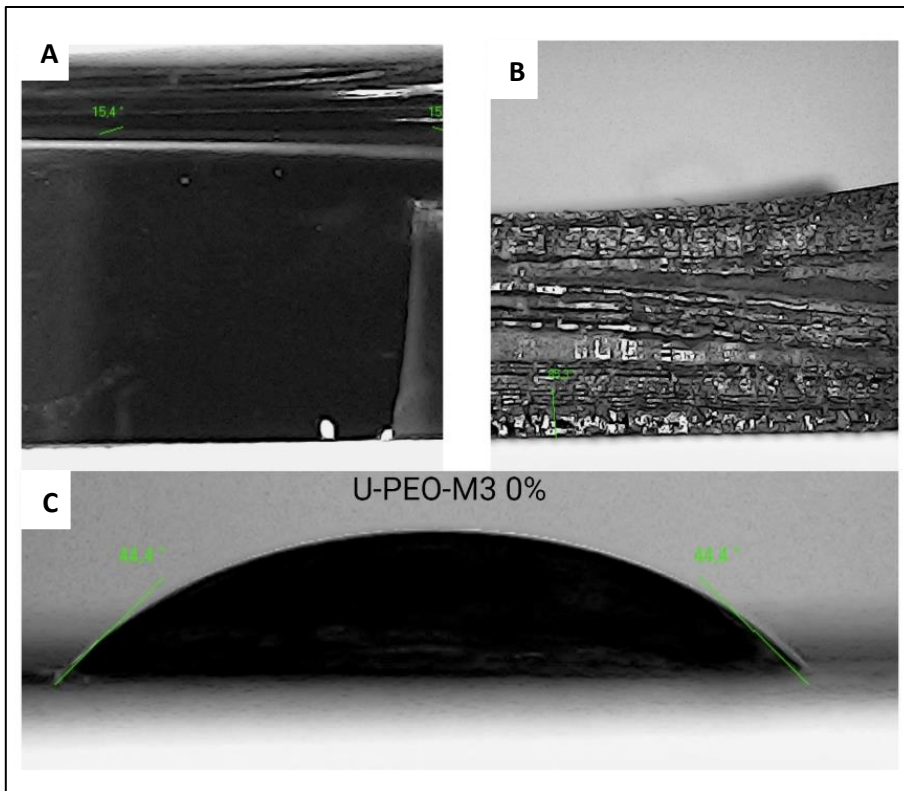
Fonte: dados da pesquisa

Figura 25 – Características visuais da membrana U-PEO- M2 0% e seu ângulo de contato



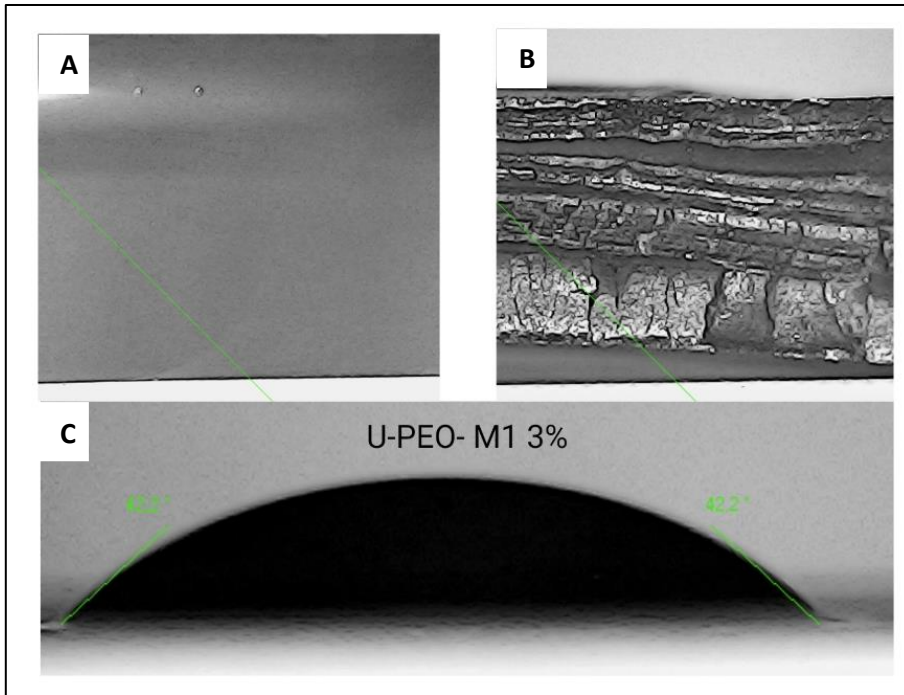
Fonte: dados da pesquisa

Figura 26 – Características visuais da membrana U-PEO- M3 0% e seu ângulo de contato



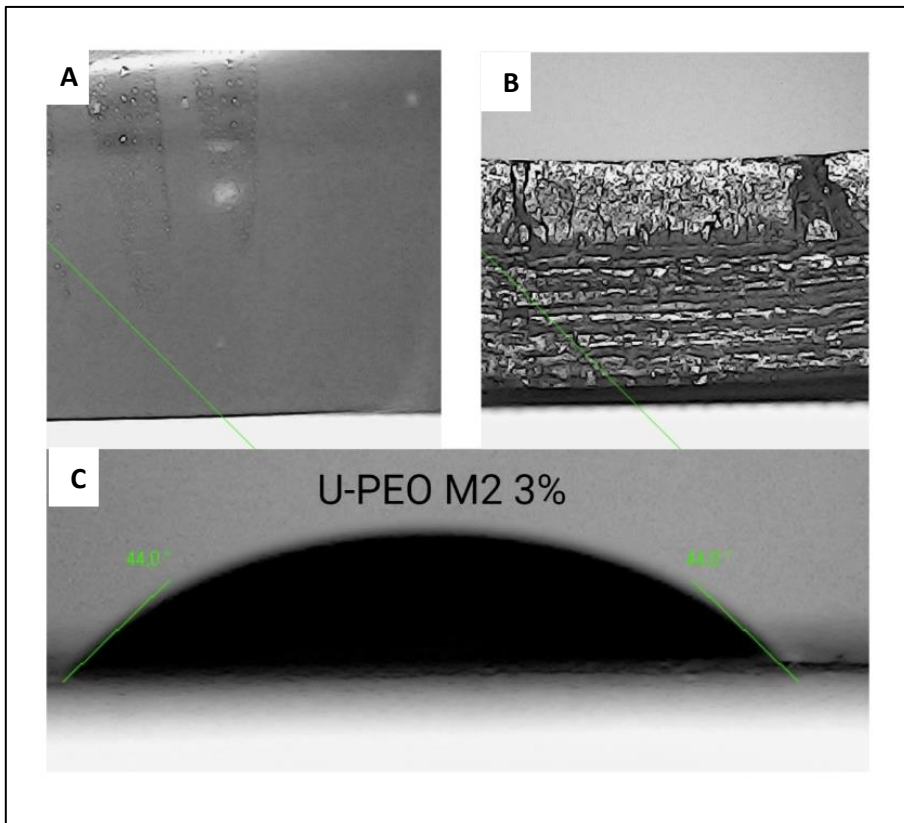
Fonte: dados da pesquisa

Figura 27 – Características visuais da membrana U-PEO- M1 3% e seu ângulo de contato



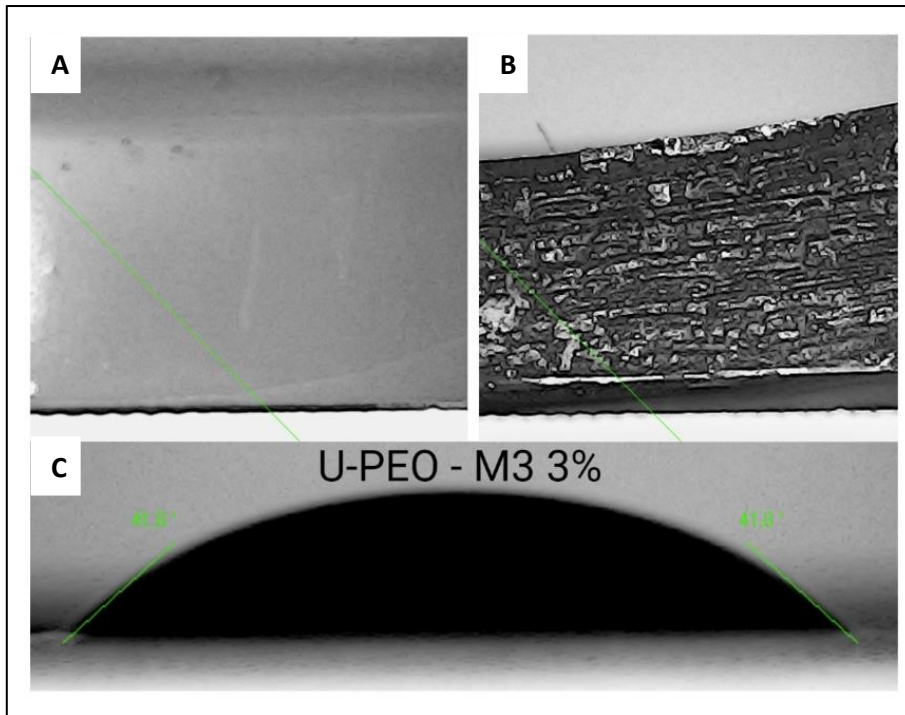
Fonte: dados da pesquisa

Figura 28 – Características visuais da membrana U-PEO- M2 3% e seu ângulo de contato



Fonte: dados da pesquisa

Figura 29 – Características visuais da membrana U-PEO- M3 3% e seu ângulo de contato

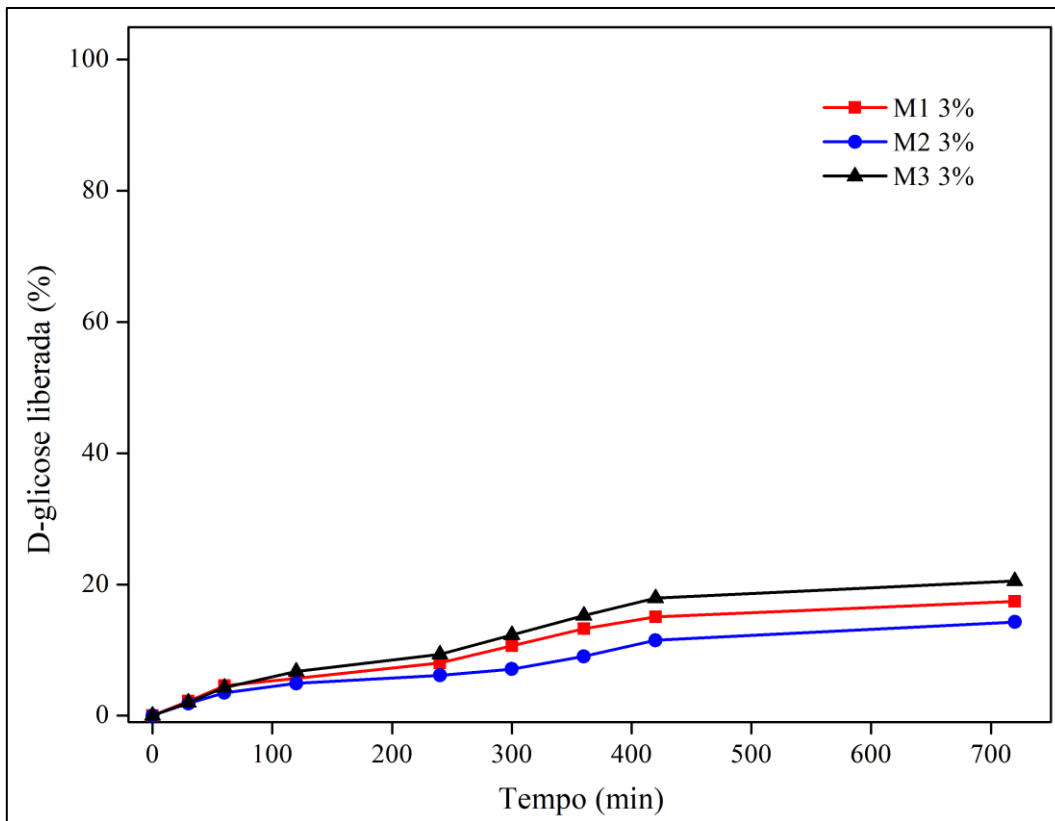


Fonte: dados da pesquisa

4.3.6 Teste de liberação da D-glicose pelas membranas scaffolds M1-M3 3% in vitro

A figura 30 demonstra os resultados obtidos com a liberação das diferentes scaffolds (M1, M2 e M3) contendo 3% de glicose, variando apenas na concentração de SCL 1,5% em sua composição. A presença da argila Laponita em materiais poliméricos pode agir como componente regulador da liberação de forma a retardar o desprendimento da droga da matriz polimérica. Essa característica pode ser observada no perfil de liberação das amostras testadas, uma vez que a membrana M3 3% apresentou um perfil de liberação mais rápido, visto sua menor proporção da argila em solução, enquanto que as membranas M2 e M1 apresentaram um perfil de liberação mais lento, que pode ser relacionado com a maior quantidade de argila em sua composição. Ao final do teste de liberação as membranas aparentavam-se integras, sem a presença de trincas, bolhas, furos ou quaisquer erosões, o que demonstra sua resistência ao desgaste frente a água.

Figura 30 – Perfil de liberação das amostras M1, M2 e M3.



Fonte: dados da pesquisa

Para caracterização do perfil de liberação da glicose e fazer a classificação do sistema utilizado, foi realizado uma comparação entre modelos matemáticos baseados em leis que consideram a influência de fatores inerentes ao sistema, como concentração do ativo e tempo de liberação. (KORSMQER et al., 1983; SIEPMANN; PEPPAS, 2011; SUN; ZHANG; LI, 2012).

Os principais modelos utilizados foram os de Korsmeyer-Peppas, Higuchi, Weibull e ordem 0, considerando o coeficiente de determinação estatístico (r^2) para determinar o modelo adequado ao tipo de liberação da matriz (tabela 10).

Tabela 10 – Cinética de liberação (r^2) para Peppas, Higuchi, Weibull e 0 ordem

(continua)

MODELO	EXPRESSÃO	M1 3% (r^2)	M2 3% (r^2)	M3 3% (r^2)
Korsmeyer- Peppas	$F = k \times t^n$	0,9668	0,9703	0,9660

Tabela 10 – Cinética de liberação (r^2) para Peppas, Higuchi, Weibull e 0 ordem

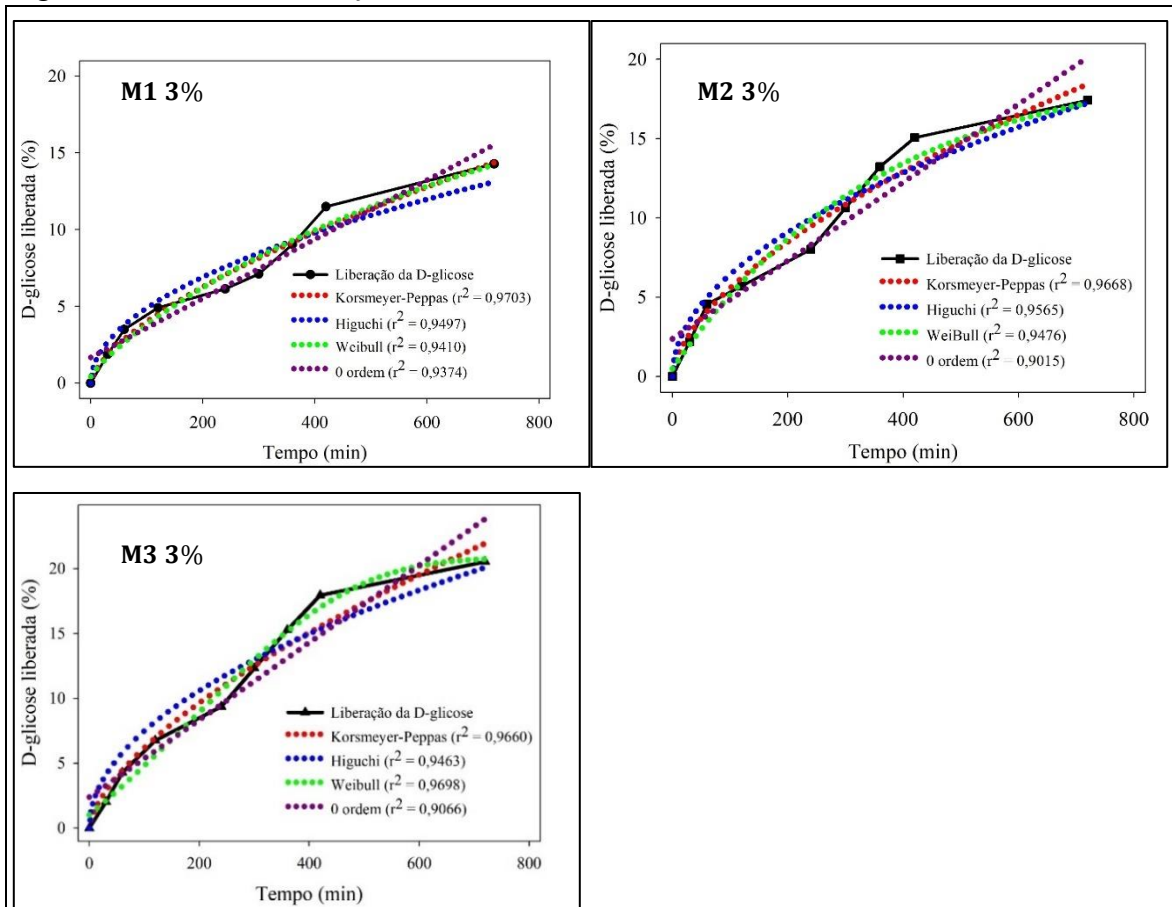
		(conclusão)		
Higuchi	$F = k \times \text{sqr}(t)$	0,9565	0,9497	0,9463
WeiBull	$F = 1 - \exp[-\text{constant} \times (\text{time})^t]$	0,9476	0,9410	0,9698
Ordem 0	$F = y_0 + a \times x$	0,9015	0,9374	0,9066

Fonte: dados da pesquisa

O modelo de ordem zero descreve a liberação de ativo de forma constante e independente de concentração. Diferente do modelo de primeira ordem em que o gradiente de liberação depende da concentração, como também, o modelo de Hixson-Crowel descreve uma liberação em sistema cujo sua superfície é alterada com o tempo através da relação entre a raiz cúbica da quantidade liberada do ativo e a linearidade do tempo do tempo estimado. O modelo de Weibull considera o logaritmo da droga liberada e o logaritmo do tempo e assume uma relação linear entre esses dois, enquanto o modelo de Korsmeyer-Peppas segue como modelo semiempírico que descreve fenômenos de liberação com intumescimento e difusão ao meio. (OSHIRO et al., 2021a; JAHROMI et al., 2020).

Dentre os modelos selecionado para calcular o comportamento da liberação da glicose, a expressão de Korsmeyer-Peppas se destacou para maior parte das scaffolds (M1 – M3 3%) utilizadas (figura 31). Para esse modelo matemático, o expoente n possui capacidade de determinar o mecanismo de transporte do ativo aprisionado fora da matriz polimérica. Para valores de n menores ou iguais a aproximadamente 0,45 é previsto que a liberação ocorra por difusão seguindo a lei fickiana, enquanto valores $0,45 < n < 0,89$ sugerem liberação segundo transporte anômalo, normalmente de início rápido e progressão lenta, e para n maiores que 0,89 indicam liberação seguida de erosão da cadeia polimérica.

Figura 31 – Perfil de liberação das amostras, em diferentes modelos matemáticos



Fonte: dados da pesquisa

A scaffolds M1 – M2 e M3 3% obtiveram valores de n na faixa de $0,45 < n < 0,89$ (0,6065; 0,6475 e 0,6415, respectivamente), o que indica transporte anômalo de acordo com o descrito na fórmula de Peppas. Esse comportamento pode estar ligado ao perfil hidrofílico das matrizes de U-PEO500, a depender da passagem do solvente pela estrutura do corpo polimérico, pode haver facilidade do ativo ser adsorvido e liberado para o meio com maior facilidade. Além disso, a argila Laponita presente na estrutura da membrana pode auxiliar na otimização da difusão do composto para o meio, uma vez que as membranas com maior proporção de Laponita (M1 e M2 3%) apresentaram valor estatístico (r^2) mais próximos a 1, o que é indicativo de uma melhor difusão. (OSHIRO et al., 2021a).

5 CONCLUSÃO

Este estudo apresenta um avanço na área de regeneração óssea guiada por meio do desenvolvimento de uma membrana à base de polímero ureasil-poliéter, solução coloidal de Laponita e glicose. Os resultados obtidos mostraram que a formulação é estável estruturalmente e que a glicose pode ser incorporada com sucesso na concentração de 3%. Além disso, a caracterização físico-química da membrana por meio de DRX, DTA, FTIR e TG mostrou que a matriz é amorfa e que não há interação física entre os componentes, conferindo melhor estabilidade térmica. Por fim, a liberação da glicose foi com perfil sustentado e prolongado, o que indica a potencial aplicação da membrana em processos de regeneração óssea guiada. Esse estudo representa um avanço significativo no desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento de lesões ósseas graves, e abre caminho para futuras pesquisas sobre a utilização de membranas híbridas em outras aplicações biomédicas.

REFERENCIAS

- AU, P. I.; HASSAN, S.; LIU, J.; LEONG, Y. K. Behaviour of laponite gels: Rheology, ageing, pH effect and phase state in the presence of dispersant. *Chemical Engineering Research and Design*, 101, 65–73. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2015.07.023>.
- BAGHDADI, H. A.; SARDINHA, H.; BHATIA, S. R. Rheology and gelation kinetics in laponite dispersions containing poly(ethylene oxide). *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, 43(2), 233–240. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/polb.20317>.
- BARBOSA, P. C.; FERNANDES, M.; VILELA, S. M. F.; GONÇALVES, A.; OLIVEIRA, M. C.; FORTUNATO, E.; SILVA, M. M.; SMITH, M. J.; REGO, R.; DE ZEA BERMUDEZ, V. Di-Ureasil Hybrids Doped with LiBF₄: Attractive Candidates as Electrolytes for “Smart Windows”. *Int. J. Electrochem. Sci.* 6. 2011. Disponível em: www.electrochemsci.org. Acesso em: 28 mar. 2023.
- BERMUDEZ D. Z. V.; CARLOS, L. D.; ALCÁCER, L. Sol-gel derived urea cross-linked organically modified silicates. 1. Room temperature mid-infrared spectra. *Chemistry of Materials*, 11(3), 569–580. 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cm980372v>.
- CÂMARA, G. B. M.; BARBOSA, R. DE M.; GARCÍA-VILLÉN, F.; VISERAS, C., ALMEIDA JÚNIOR, R. F.; DE, MACHADO, P. R. L.; CÂMARA, C. A.; FARIAS, K. J. S.; DE LIMA E MOURA, T. F. A.; DREISS, C. A.; RAFFIN, F. N. Nanocomposite gels of poloxamine and Laponite for β -Lapachone release in anticancer therapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 163. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105861>.
- CHAN-CHAN, L. H.; GONZÁLEZ-GARCÍA, G.; VARGAS-CORONADO, R. F.; CERVANTES-UC, J. M.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, F.; MARCOS-FERNANDEZ, A.; CAUICH-RODRÍGUEZ, J. V. Characterization of model compounds and poly(amide-urea) urethanes based on amino acids by FTIR, NMR and other analytical techniques. *European Polymer Journal*, 92, 27–39. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.04.014>.
- CHEN, Y.; MAO, W.; GAO, Y.; TENG, X.; ZHU, W.; CHEN, Y.; ZHAO, C.; LI, N.; WANG, C.; YAN, M.; SHAN, J.; LIN, C.; GUO, T. Structural elucidation of an extracellular polysaccharide produced by the marine fungus *Aspergillus versicolor*. *Carbohydrate Polymers*, 93(2), 478–483. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.12.047>.

COSTA, K. M. N.; SATO, M. R.; BARBOSA, T. L. A.; RODRIGUES, M. G. F.; MEDEIROS, A. C. D.; DAMASCENO, B. P. G. DE L.; OSHIRO, J. A. Curcumin-loaded micelles dispersed in ureasil-polyether materials for a novel sustained-release formulation. *Pharmaceutics*, 13, 5, 1-10.2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050675>.

CUMMINS, H. Z. Liquid, glass, gel: The phases of colloidal Laponite. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 353(41–43), 3891–3905.2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2007.02.066>.

DAGA, V. K.; WAGNER, N. J. Linear viscoelastic master curves of neat and laponite-filled poly(ethylene oxide)-water solutions. *Rheologica Acta*, 45(6), 813–824. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00397-005-0059-x>.

DESCHEPPER, M.; MANASSERO, M.; OUDINA, K.; PAQUET, J. Tissue-Specific Stem Cells Proangiogenic and Prosurvival Functions of Glucose in Human Mesenchymal Stem Cells Upon Transplantation. *Stem Cells*, 31, 526–535. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/stem>.

FAGERSON, I. S. *Thermal Degradation of Carbohydrates A Review*. *J. Agr. Food Chem.*, 17, 747-750. 1969.

FRAILE, J. M.; GARCIA-MARTIN, E.; GIL, C.; MAYORAL, J. A.; PABLO, L. E.; POLO, V.; PRIETO, E.; VISPE, E. Laponite as carrier for controlled in vitro delivery of dexamethasone in vitreous humor models. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 108, 83–90. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.08.015>.

GUIMARÃES D. A. F. M.; SAMPAIO, V.; CIMINELLI, T. Surface Modification of Synthetic Clay Aimed at Biomolecule Adsorption: Synthesis and Characterization. *Materials Research*. 10, 1. 37-41.2007.

GENNES, P. G.D. *Wetting: statics and dynamics*. *The American Physical Society*, 57, 3, 827-861. 1985.

GHADIRI, M.; HAU, H.; CHRZANOWSKI, W.; AGUS, H.; ROHANIZADEH, R. Laponite clay as a carrier for in situ delivery of tetracycline. *RSC Advances*, 3(43), 20193–20201. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c3ra43217c>.

GRUNDKE, K.; PÖSCHEL, K.; SYNITSKA, A.; FRENZEL, R.; DRECHSLER, A., NITSCHKE, M.; CORDEIRO, A. L.; UHLMANN, P.; WELZEL, P. B. 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*. 222, 350–376. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.012>.

HENKEL, J.; WOODRUFF, M. A.; EPARI, D. R.; STECK, R.; GLATT, V.; DICKINSON, I. C.; CHOONG, P. F. M.; SCHUETZ, M. A.; HUTMACHER, DI. W. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions-A 21st Century Perspective. *Bone Research*. Sichuan University. 1, pp. 216–248. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4248/BR201303002>.

HERAGH, B. K.; JAVANSHIR, S.; MAHDAVINIA, G. R.; JAMAL, M. R. N. Hydroxyapatite grafted chitosan/laponite RD hydrogel: Evaluation of the encapsulation capacity, pH-responsivity, and controlled release behavior. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 351–359. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.220>.

HUANG, X.; LV, K.; SUN, J.; LU, Z.; BAI, Y.; SHEN, H.; WANG, J. Enhancement of thermal stability of drilling fluid using laponite nanoparticles under extreme temperature conditions. *Materials Letters*, 248, 146–149. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.04.005>.

IBRAHIM, M.; ALAAM M.; EL-HAES, H.; JALBOU, A. F.; LEON, A. Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose. *Eclética Química*, 31, 15–21. 2006.

JAHROMI, L. P.; GHAZALI, M.; ASHRAFI, H.; AZADI, A. A comparison of models for the analysis of the kinetics of drug release from PLGA-based nanoparticles. *Heliyon*, 6, 2. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03451>.

JATAV, S.; JOSHI, Y. M. *Phase Behavior of Aqueous Suspension of Laponite: New Insights with Microscopic Evidence*. *Langmuir*. 33, 9, 2370-2377. 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.7b00151>.

JUDEINSTEIN, P.; BRIK, M. E.; BAYLE, J. P.; COURTIEU, J.; RAULT, J. *Mobility Range In Hybrid Materials*. *Materials Research Society*.346, 937-942. 1994.

KANG, F.; YI, Q.; GU, P.; DONG, Y.; ZHANG, Z.; ZHANG, L.; BAI, Y. Controlled growth factor delivery system with osteogenic-angiogenic coupling effect for bone

regeneration. *Journal of Orthopaedic Translation*, 31, 110–125.2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jot.2021.11.004>.

KFOURY, Y.; SCADDEN, D. T. Mesenchymal cell contributions to the stem cell niche. In *Cell Stem Cell*. **Cell Press**. 16, 3, 239–253. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.02.019>.

KORSMQER, R. W.; GUMY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N. A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *international Journal of Pharmaceutics*. 15, 25-35. 1983.

LAPASIN, R.; ABRAMI, M.; GRASSI, M.; ŠEBENIK, U. Rheology of Laponite-scleroglucan hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 168, 290–300. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.068>.

LEE, J. H.; YOON, Y. M.; LEE, S. H. Hypoxic preconditioning promotes the bioactivities of mesenchymal stem cells via the HIF-1 α -GRP78-Akt axis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 6. 1-14. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms18061320>.

LEE, J. W.; THOMAS, L. C.; SCHMIDT, S. J. Investigation of the heating rate dependency associated with the loss of crystalline structure in sucrose, glucose, and fructose using a thermal analysis approach (Part I). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 2, 684–701. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf1042344>.

LI, H.; LI, M.; WANG, Y.; ZHANG, W. Luminescent hybrid materials based on laponite clay. *Chemistry: a european journal*, 20, 33, 10392–10396. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/chem.201402794>.

MAGOŃ, A.; PYDA, M. Melting, glass transition, and apparent heat capacity of α -d-glucose by thermal analysis. *Carbohydrate Research*, 346, 16, 2558–2566. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.08.022>.

MENDES J.F.; OSHIRO J.A.; DA SILVA C. G.; CHIAVACCIL. A. Synthesis of ureasil-polyether film forming materials by using environmentally friendly solvent. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 42, 1–10. 2021. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/730>. Acessado em: 28 mar. 2023.

MOLINA, E. F.; MARÇAL, L.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W.; NASSAR, E. J.; CIUFFI, K. J. Tri-ureasil gel as a multifunctional organic-inorganic hybrid matrix.

Polymer Chemistry, 4, 5, 1575–1582. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c2py21049e>.

NICKEL, J.; MUELLER, T. D. Specification of BMP signaling. 8, 12. 1-29. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells8121579>.

OSHIRO, J. A.; LUSUARDI, A.; BEAMUD, E. M.; CHIAVACCI, L. A.; CUBERES, M. T. Nanostructural arrangements and surface morphology on ureasil-polyether films loaded with dexamethasone acetate. *Nanomaterials*, 11, 6, 1-19. 2021a. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nano11061362>.

OSHIRO, J. A.; SCARDUELI, C. R.; DE OLIVEIRA, G. J. P. L.; MARCANTONIO, R. A. C.; CHIAVACCI, L. A. Development of ureasil-polyether membranes for guided bone regeneration. *Biomedical Physics and Engineering Express*, 3, 1, 1-10. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aa56a6>.

OSHIRO, J. A.; CARVALHO, F. C.; SOARES, C. P.; CHORILLI, M.; CHIAVACCI, L. A. Development of cutaneous bioadhesive ureasil-polyether hybrid films. *International Journal of Polymer Science*, 1-7. 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/727324>

OSHIRO, J. A.; BARROS, R. M.; DA SILVA, C. G.; DE SOUZA, C. C.; SCARDUELI, C. R.; MARCANTONIO, C. C.; DA SILVA SACHES, P. R.; MENDES, L.; CILLI, E. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; CHIAVACCI, L. A. In vivo effectiveness of hybrid membranes with osteogenic growth peptide for bone regeneration. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 15, 8, 722–731. 2021b. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/term.3226>.

PÁLKOVÁ, H.; MADEJOVÁ, J.; ZIMOWSKA, M.; SERWICKA, E. M. Laponite-derived porous clay heterostructures: II. FTIR study of the structure evolution. *Microporous and Mesoporous Materials*, 127, 3, 237–244. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2009.07.012>.

PARK, J. K.; CHOY, Y.; BIN OH, J. M.; KIM, J. Y.; HWANG, S. J.; CHOY, J. H. Controlled release of donepezil intercalated in smectite clays. *International Journal of Pharmaceutics*, 359, 1–2, 198–204. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.04.012>.

PATYK, E.; KATRUSIAK, A. Transformable H-bonds and conformation in compressed glucose. *Chemical Science*, 6, 3, 1991–1995. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c4sc03588g>.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. 5. ed. Brasil: *Cengage Learning*, 2015.

RUZICKA, B.; ZACCARELLI, E. A fresh look at the Laponite phase diagram. *Soft Matter*, 7, 4, 1268–1286. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c0sm00590h>.

RUZICKA, B.; ZULIAN, L.; ZACCARELLI, E.; ANGELINI, R.; SZTUCKI, M.; MOUSSAÏD, A.; RUOCCO, G. Competing interactions in arrested states of colloidal clays. *Physical Review Letters*, 104, 8. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.104.085701>.

SAHRAGARD, N.; JAHANBIN, K. Structural elucidation of the main water-soluble polysaccharide from *Rubus anatolicus* roots. *Carbohydrate Polymers*, 175, 610–617. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.042>.

SEEHERMAN, H. J.; BERASI, S. P.; BROWN, C. T.; MARTINEZ, R. X.; JUO, Z. S.; JELINSKY, S.; CAIN, M. J.; GRODE, J.; TUMELTY, K. E.; BOHNER, M.; GRINBERG, O.; ORR, N.; SHOSEYOV, O.; EYCKMANS, J.; CHEN, C.; MORALES, P. R.; WILSON, C. G.; VANDERPLOEG, E. J.; WOZNEY, J. M. *A BMP/activin A chimera is superior to native BMPs and induces bone repair in nonhuman primates when delivered in a composite matrix*. *Sci. Transl. Med.* 11. 2019. Disponível em: <http://stm.sciencemag.org/>. Acesso em: 28 mar. 2023.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Higuchi equation: *Derivation, applications, use and misuse*. *International Journal of Pharmaceutics*. 418, 1, 6–12. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.051>.

SILVA, J. M.; BARUD, H. S.; MENEGUIN, A. B.; CONSTANTINO, V. R. L.; RIBEIRO, S. J. L. *Inorganic-organic bio-nanocomposite films based on Laponite and Cellulose Nanofibers (CNF)*. *Applied Clay Science*, 168, 428–435. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.12.003>.

SIQUEIRA, L. J. A.; CONSTANTINO, V. R. L.; CAMILO, F. F.; TORRESI, R. M.; TEMPERINI, M. L. A.; RIBEIRO, M. C. C.; IZUMI, C. M. S. *Probing the local environment of hybrid materials designed from ionic liquids and synthetic clay by Raman spectroscopy*. *Spectrochimica Acta - Part A: molecular and biomolecular spectroscopy*, 122, 469–475. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.11.084>.

SOUZA, L. K.; BRUNO, C. H.; LOPES, L.; PULCINELLI, S. H.; SANTILLI, C. V.; CHIAVACCI, L. A. *Ureasil-polyether hybrid film-forming materials. Colloids and Surfaces B: biointerfaces*, 101, 156–161. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.06.009>.

SUN, W.; ZHANG, N.; LI, X. *Release mechanism studies on TFu nanoparticles-in-microparticles system. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95, 115–120. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.02.019>.

WANG, J.; SUN, J.; WANG, R.; RUI, Z.; CHENG, R.; WANG, Q.; WANG, J.; LV, K. *Impact of laponite on the formation of NGHs and its adaptability for use in NGH drilling fluids. Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 107. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2022.104799>.

ZALDIVAR, M. P.; SANTILLI, C. V.; PENICHE COVAS, C. A.; PULCINELLI, S. H. *Thermal properties, nanoscopic structure and swelling behavior of chitosan/(ureasil–polyethylene oxide hybrid) blends. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130, 2, 791–798. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6454-6>.