

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (UFSCar)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

JULIA HELENA DE PAULA

Obtenção de um híbrido de sílica e colágeno pelo processo sol-gel visando regeneração
óssea

SOROCABA

2023

JULIA HELENA DE PAULA

OBTENÇÃO DE UM HÍBRIDO DE SÍLICA E COLÁGENO PELO PROCESSO
SOL-GEL VISANDO REGENERAÇÃO ÓSSEA

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência dos
Materiais para obtenção do título de
Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientação: Prof. Dr. Eliana
Aparecida de Rezende Duek.

Financiamento: Coordenação de
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior – Brasil (CAPES).

SOROCABA

2023

de Paula, Julia H.

Obtenção de um híbrido de sílica e colágeno pelo processo sol-gel visando regeneração óssea: obtenção de um híbrido de sílica e colágeno pelo processo sol-gel visando regeneração óssea / Julia H. de Paula -- 2023. 89f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Eliana Aparecida de Rezende Duek
Banca Examinadora: Sandra Helena Pulcinelli, Marystela Ferreira, Bruno Campos Janegitz, Marcelo Nalin
Bibliografia

1. Processo sol-gel. 2. Colágeno. 3. Regeneração óssea..
I. de Paula, Julia H.. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Julia Helena de Paula, realizada em 21/03/2023.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek (PUC-SP)

Profa. Dra. Sandra Helena Pulcinelli (UNESP)

Profa. Dra. Marystela Ferreira (UFSCar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Edenilza e Jorge, pelo apoio e amor incondicional. Ao Felipe, pelo incentivo e cuidado.

RESUMO

A busca por materiais que auxiliam na regeneração óssea está em constante progresso, pois lesões ósseas envolvem traumas, infecções, doenças e envelhecimento, podendo causar complicações graves e perda de funcionalidade. Os biomateriais são utilizados com a finalidade de estimular a formação de tecido ósseo, melhorar a cicatrização óssea e reestruturar os tecidos ao redor dos implantes. O processo sol-gel é uma técnica de síntese de materiais que utiliza a hidrólise e condensação de precursores inorgânicos em solução aquosa, que se apresenta como um método promissor para obtenção de biomaterias. Assim, o objetivo desse estudo foi sintetizar híbridos de sílica contendo colágeno e trietil-citrato (TEC), através do processo sol-gel, seguido da adição de sinvastatina (SIN), buscando obter um material com propriedades físico químicas adequadas para aplicação na regeneração óssea. Além disso, este propósito ainda não foi reportado na literatura em trabalhos envolvendo a obtenção deste sistema através do processo sol-gel. Por isso, os híbridos de sílica contendo variações de 2%, 5% e 8% de colágeno foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), ensaio mecânico de compressão, difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Macroscopicamente e pelas imagens MEV, verificou-se que a presença de diferentes concentrações de colágeno interferiu na distribuição morfológica dos híbridos de sílica, onde foi possível observar irregularidades e heterogeneidade na superfície dos híbridos, mais pronunciado na amostra contendo 2% de colágeno. O TEC contribuiu para que a degradação térmica ocorresse em maiores temperaturas e a sua incorporação foi comprovada através dos espectros de FTIR, porém o caráter amorfo do xerogel de sílica não foi alterado mesmo após esta incorporação. O colágeno também influenciou na estabilidade térmica dos híbridos de modo que, em maiores concentrações, maior estabilidade térmica era observada. As fibras dispersas do colágeno influenciaram na falta de homogeneidade e regularidades, que foram comprovadas através das curvas de DSC, ensaio mecânico de compressão e MEV. A adição de SIN foi realizada no híbrido de sílica com melhores propriedades térmicas e mecânicas, o qual continha 8% de colágeno. Este fármaco foi liberado por completo logo nos minutos iniciais ao ensaio de liberação controlada, não sendo possível definir um perfil de liberação. Todavia, o ensaio foi influenciado pela absorção de colágeno no mesmo comprimento de onda selecionado para a análise e os valores de concentração de SIN liberada foram extrapolados. Portanto, os híbridos de sílica contendo colágeno e SIN podem ser aplicados em regiões em que a resistência de compressão mecânica exigida é baixa, como em defeitos ósseos, lesões, desgastes e em preenchimentos como osteoindutor. A periodontite, uma doença bucal que leva a perda de massa óssea, é uma sugestão de aplicação.

Palavras-chave: *Processo Sol-Gel. Colágeno. Regeneração Óssea. Trietil-Citrato.*

ABSTRACT

The bone regeneration materials exploring is constantly increasing due to the lesions from traumas, illness and aging, that can cause serious complications and functionality loss. Biomaterials are used in order to stimulate bone tissue formation, improve bone healing and restructure tissues around the implants. The sol-gel process is a material synthesis technique promoted by the hydrolysis and condensation reactions of inorganic precursors in aqueous solution and it can be effective method for obtaining biomaterials. Thus, the main of this study was to synthesize silica hybrids containing collagen and triethyl citrate (TEC), through the sol-gel process, followed by the addition of simvastatin (SIN), looking for a material with suitable physical and chemical properties for bone regeneration. Furthermore, this system through the sol-gel process has not been reported in the literature yet. Therefore, the silica hybrids containing variations of 2%, 5% and 8% of collagen were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TG), differential scanning calorimetry (DSC), assay amplitude mechanics, X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). Macroscopically and through the SEM images it was verified the presence of different concentrations of collagen that interfered in the morphological distribution of the silica hybrids, where irregularities and heterogeneity on the surface of the hybrids was observed, moreover in the sample containing 2% of collagen. TEC contributed to the thermal degradation occurring at higher temperatures and its incorporation was confirmed by FTIR spectra, however the amorphous character of the silica xerogel was not modified even after this incorporation. Collagen also influenced the thermal stability of the hybrids, at higher concentrations greater thermal stability was observed. Collagen dispersive fibers influenced the lack of homogeneity and regularities, which were proven through the DSC curves, mechanical test of mechanics and SEM. The addition of SIN was performed on the silica hybrid with better thermal and mechanical properties, which contained 8% collagen. This drug was completely released in the initial minutes of the controlled release test, and it was not possible to define a release profile. However, the assay was influenced by collagen absorption at the same wavelength selected for the analysis and the released SIN concentration values were extrapolated. Therefore, silica hybrids containing collagen and SIN can be applied in low mechanical strength regions, such as in bone defects, injuries, wear and in fillings as an osteoinducer. Periodontitis, an oral disease that leads to loss of bone mass, is an application suggested.

Keywords: *sol-gel process, collagen, bone regeneration, triethyl-citrate.*

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Dados dos eventos referente às amostras de xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e dos híbridos de sílica com as variações de colágeno..... 43
- Tabela 2. Tabela referente aos valores em porcentagem de peso de cada elemento identificado por EDS para as amostras de xerogel de sílica e xerogel de sílica com TEC..... 65
- Tabela 3. Tabela referente as porcentagens de peso dos elementos O, Si, C e N, encontrados na amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno. 67
- Tabela 4. Tabela referente as porcentagens de peso dos elementos O, Si, C e N, encontrados na amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e 2,0% de SIN. 68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração que representa a transição do sistema sol para gel, em meio ácido, formando espécies de sílica lineares ou fracamente ramificadas.....	17
Figura 2. Representação das etapas do processo sol-gel até a formação do xerogel.....	17
Figura 3. Imagem que diferencia os híbridos de sílica sintetizados em meio (a) ácido e (b) básico, extraído da literatura.....	19
Figura 4. Estrutura química de TEOS.	20
Figura 5. Estrutura química do TEC.	21
Figura 6. Representação da estrutura do colágeno em (a) tripla hélice formada por combinações de aminoácidos e (b) representação de um segmento e hélice tripla de colágeno, conectadas por ligações de hidrogênio.....	23
Figura 7. Representação da (a) estrutura química de SIN e do (b) esquema de hidrólise com a formação do hidroxilado biologicamente ativo.	25
Figura 8. Etapas do procedimento de obtenção (1) da mistura sol-gel, (2) adição do TEC à solução, (3) incorporação do colágeno.....	28
Figura 9. Fotografias obtidas após a evaporação do solvente e formação dos híbridos de sílica contendo (A) 2%, (B) 5% e (C) 8% de colágeno.	33
Figura 10. Fotografia do híbrido de sílica contendo 2% de colágeno evidenciando a heterogeneidade do material.....	33
Figura 11. Fotografia do xerogel de sílica contendo TEC após a evaporação total do solvente.	34
Figura 12. Representação das estruturas de (A) TEOS, (B) TEC e (C) colágeno.....	36
Figura 13. Espectros de FTIR referente ao xerogel de sílica, colágeno e do plastificante TEC puro.	38
Figura 14. Espectros de FTIR que correspondem ao xerogel de sílica com TEC e do híbrido de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.....	39
Figura 15. Termogramas referentes ao (A) xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e (B) xerogel de sílica com TEC, híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.....	41
Figura 16. Curvas derivadas dos termogramas referentes ao (A) xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e (B) xerogel de sílica com TEC e após obtenção do híbrido de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.....	42
Figura 17. Curvas de DSC referente as amostras de xerogel de sílica, xerogel de sílica com TEC e colágeno em fibras.....	45
Figura 18. Curvas de DSC referente aos híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.	46

Figura 19. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos espécimes do híbrido contendo 2% de colágeno.	48
Figura 20. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos espécimes do híbrido contendo 5% de colágeno.	48
Figura 21. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos espécimes do híbrido contendo 8% de colágeno.	49
Figura 22. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) referentes a média dos espécimes dos híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.....	50
Figura 23. Média e desvio padrão correspondente ao módulo de Young (MPa) em função da quantidade de colágeno dos híbridos de sílica.	51
Figura 24. Difratoograma de raios X referente ao xerogel de sílica, colágeno e xerogel de sílica com TEC.	53
Figura 25. Difratoogramas de DRX referentes as amostras de xerogel de sílica com TEC e após a formação do híbrido de sílica contendo 2%; 5% e 8% de colágeno.	54
Figura 26. Fotografias referentes à (A) superfície e (B) espessura lateral do material híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, o qual foi escolhido para realizar a incorporação de SIN.	55
Figura 27. FTIR dos híbridos de sílica com 8% de colágeno e as variações de SIN.	56
Figura 28. Curvas de DSC referente ao híbrido de sílica com 8% de colágeno e as variações de SIN incorporado.	57
Figura 29. Difratoograma de raios X referente a amostra do híbrido de sílica com 8% de colágeno e as variações das concentrações de SIN incorporado.	58
Figura 30. Curva de calibração da absorvância versus concentração de SIN.	59
Figura 31. Perfil de liberação de SIN do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e (A) 0,1%, (B) 1,0% e (C) 2,0% de SIN.....	60
Figura 32. Perfil de liberação controlada correspondente ao híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, sem a adição de SIN.....	62
Figura 33. Imagens de MEV das amostras de xerogel de sílica puro nas ampliações de (A) 500x e (B) 1000x; bem como imagens das amostras de xerogel de sílica com TEC nas ampliações de (C) 500x e (D) 1000x.	63
Figura 34. Microanálise elementar por EDS para (A) xerogel de sílica puro e (B) xerogel de sílica com TEC, indicando a presença dos elementos O, Si e C.....	64
Figura 35. Imagens de MEV da amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno referentes a (A) superfície em ampliação de 500x; (B) superfície em ampliação de 1000x; e (C) superfície da fratura em ampliação de 50x.	66
Figura 36. Microanálise elementar por EDS para amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, indicando a presença dos elementos O, Si, N e C.....	67

Figura 37. Imagens de MEV da amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno após a incorporação de 2,0% de SIN, em que (A) é referente a superfície do material com ampliação em 500x; (B) superfície com ampliação de 1000x e aparecimento de poros em escala micrométrica; e (C) a superfície de fratura em ampliação de 19x..... 69

Figura 38. Microanálise elementar por EDS para amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno após a incorporação de 2,0% de SIN, indicando a presença dos elementos O, Si, N e C. 70

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DRX	Difração de raios X
EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão em energia
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
SIN	Sinvastatina
<i>Tendset</i>	Temperatura de final de perda de massa
TEC	Trietil-citrato
TEOS	Tetraetilortossilicato
TG	Termogravimetria
<i>Tmáx</i>	Temperatura máxima de perda de massa
<i>Tonset</i>	Temperatura de início de perda de massa
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1. Introdução e justificativa.....	10
2. Objetivos	14
a. <i>Objetivos gerais</i>	14
b. <i>Objetivos específicos</i>	14
3. Fundamentação teórica.....	15
a. <i>Materiais híbridos e o processo sol-gel</i>	15
i. <i>Tetraetilortosilicato (TEOS)</i>	19
b. <i>Trietil-Citrato</i>	20
c. <i>Colágeno</i>	23
d. <i>Sinvastatina</i>	25
4. Parte experimental.....	27
a. <i>Materiais</i>	27
b. <i>Síntese do xerogel de sílica e do híbrido de sílica contendo colágeno</i>	27
c. <i>Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	28
d. <i>Termogravimetria (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	29
e. <i>Ensaio mecânico de compressão</i>	29
f. <i>Difração de raios-x (DRX)</i>	30
g. <i>Incorporação da Sinvastatina e ensaio de liberação controlada</i>	30
h. <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS)</i>	31
5. Resultados e discussões.....	33
a. <i>Análise macroscópica dos híbridos de sílica contendo colágeno</i>	33
b. <i>Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	36
c. <i>Termogravimetria (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	40
d. <i>Ensaio mecânico de compressão</i>	47
e. <i>Difração de raios-x</i>	52
f. <i>Incorporação de sinvastatina e ensaio de liberação controlada</i>	55
i. <i>Caraterização do híbrido de sílica contendo colágeno e SIN por FTIR, TG, DSC e DRX</i> 55	
ii. <i>Perfil de liberação de SIN nos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno</i>	59
g. <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS)</i>	63
6. Conclusões	71
7. Referências.....	71

1. Introdução e justificativa

A demanda em pesquisas para obtenção de novos biomateriais vem crescendo em virtude da busca por tecidos regenerativos ou de substituição, onde a engenharia tecidual apresenta uma abordagem promissora para cumprir este propósito. A incidência de traumas, infecções e doenças, pode ser mensurada pelos 2,2 milhões de enxertos ósseos utilizados em procedimentos ortopédicos em todo mundo (GIRÓN et al., 2021). Os materiais utilizados para esta finalidade são destinados a estimular a formação de um novo osso, substituindo e regenerando o osso perdido, melhorando a cicatrização óssea e reestruturando os tecidos ao redor dos implantes.

A regeneração óssea é o processo pelo qual o organismo repara e reconstrói tecidos ósseos danificados ou perdidos. O tecido ósseo é um dos tecidos mais importantes do corpo, já que é o responsável por suportar o peso do corpo, proteger órgãos vitais, e ajudar na locomoção. Este processo requer um tipo de material que serve de suporte para ocorrer fixação, proliferação e diferenciação celular. A capacidade de regeneração de enxertos é dimensionada em termos de potencial osteogênico, osteocondutor e osteoindutor. O potencial osteogênico envolve as células que promovem formação óssea, enquanto o osteocondutor se refere ao estímulo do crescimento de células ósseas em superfície. Já o potencial osteoindutor é atribuído à estimulação de células-tronco mesenquimais, para que ocorra diferenciação em pré-osteoblastos e iniciar o processo de formação óssea (ANTONIO et al., 2010).

Os tratamentos médicos para regeneração óssea incluem a aplicação de cimentos ósseos, enxertos ósseos, terapia gênica, entre outros. O objetivo é ajudar o organismo a reconstruir o tecido ósseo danificado ou perdido de forma mais eficiente e rápida, e reestabelecer sua função. Os materiais mais utilizados para esta finalidade são os biocompósitos de cerâmica e polímeros, hidroxiapatita sintética, nanotubos de carbono, entre outros. Estes materiais são usados para auxiliar a regeneração óssea e promover a cura, além de proporcionar suporte mecânico temporário durante o processo de cicatrização. Geralmente, estes materiais são combinados com células-tronco ou outros fatores de crescimento para melhorar sua eficácia.

A necessidade de usar materiais para suprir lesões causadas em ossos decorre da natureza das mesmas. O osso é uma parte vital do corpo humano, que desempenha várias funções importantes, incluindo o suporte da estrutura corporal, a proteção de órgãos vitais

e a participação na produção de células sanguíneas. Quando o osso é lesionado é difícil repará-lo naturalmente, especialmente se a lesão for grande ou se houver uma falta de suprimento de sangue na área afetada. Dessa forma, os materiais para substituição óssea são usados para suprir a lesão, ajudando a restaurar a estrutura e a função do osso. Além disso, esses materiais também podem ser usados para preencher lacunas ósseas ou para sustentar o osso durante o processo de cicatrização. Ao usar materiais de substituição óssea, é possível acelerar o tempo de recuperação e melhorar os resultados a longo prazo para o paciente.

Por conta da necessidade de tratamentos dessas lesões degenerativas, anteriormente citadas, as pesquisas impulsionam o desenvolvimento de novos métodos para obtenção de biomateriais. Consequentemente, novas rotas de sínteses estão sendo consideradas, em especial, o uso da ciência do sol-gel para atrair aplicações biomédicas.

O processo sol-gel implica na síntese de materiais em condições brandas, sendo possível gerar produtos de diferentes tamanhos e formas, devido à obtenção direta de materiais com multicomponentes e sem utilizar tecnologias de processamento de alto custo. Esta metodologia permite o processamento direto da solução de vidros, monólitos, cerâmicas, filmes finos ou fibras, onde ocorre a mistura, ao nível molecular, em condições de temperaturas mais baixas comparado com outros métodos tradicionais de preparação. Aliás, há uma facilidade de fabricação e controle na estrutura química, o que proporciona ao material biocompatibilidade considerável, área superficial elevada (podendo ser aplicado no carregamento de fármacos) e superfície externa com facilidade de funcionalização por biomoléculas (RIBEIRO et al., 2014).

O sol-gel necessita do uso de um precursor para sequenciar a série de reações de hidrólise e condensação, ocorrendo a sinergia das propriedades dos componentes orgânicos e inorgânicos. Geralmente, é utilizado o tetraetilortossilicato (TEOS) como agente principal de formação de rede. O TEOS é pertinente para a formação de redes robustas, possui reatividade moderada, desenvolvendo alto grau de controle de síntese, mesmo em variações de condições de pH, temperatura e outros aditivos. A facilidade de incorporação de moléculas orgânicas, polímeros, biomoléculas ou células em baixas temperaturas, são razões pelas quais o TEOS é atrativo (CURLEY; HOLMES; FLYNN, 2021). Estas características de TEOS facilitam a inserção de moléculas como, por exemplo, o colágeno, cujas propriedades de adesão, proliferação, diferenciação celular,

biocompatibilidade e biodegradabilidade são de extrema importância para regeneração óssea.

Apesar de haver inúmeros polímeros sintéticos e de fácil disponibilidade, o colágeno é muito utilizado pois compõe cerca de 85 a 90% da matriz extracelular. O colágeno do tipo I é um dos responsáveis pelas características biofísicas e funcionais do tecido ósseo, é constituído por numerosos fatores de crescimento e é altamente permeável a agentes terapêuticos e células. Esta proteína apresenta alta similaridade estrutural entre as espécies, baixa imunogenicidade e pode ser produzido em diferentes formas farmacêuticas (VEREMEEV et al., 2020).

Com a finalidade de melhorar as propriedades mecânicas do material aqui estudado, o trietil-citrato (TEC) foi selecionado para atuar como ferramenta plastificante. Geralmente o TEC é aplicado em materiais poliméricos devido às suas características biodegradáveis e também por não ser tóxico. Não obstante, existem menções na literatura de que o TEC pode contribuir com promovendo propriedades fundamentais para um material ser utilizado na regeneração óssea (SILVA et al., 2006).

A inserção de um fármaco ao biomaterial viabiliza novas estratégias para tratamentos, pois auxilia na entrega de concentrações apropriadas de substâncias ativas para os locais desejados. Neste sentido, a SIN vem demonstrando excelentes resultados relacionados a reparos ósseos, ainda que a mesma é habitualmente comercializada como inibidora do colesterol de lipoproteína de baixa densidade. Estudos evidenciaram a capacidade da SIN aumentar a porcentagem de formação, cicatrização e densidade óssea, assim como o fator de crescimento endotelial vascular, células endoteliais progenitoras e osteocalcina (ROCA-MILLAN et al., 2019).

O intuito desta pesquisa é obter híbridos de sílica contendo colágeno, através do processo sol-gel, para possível desempenho na regeneração óssea. Para que ocorra a obtenção deste material, o plastificante TEC foi adicionado à solução do sol-gel com intuito de aprimorar as propriedades mecânicas do híbrido de sílica. Além disso, para garantir que este material atue na área de engenharia tecidual, a SIN foi incorporada e a liberação controlada deste fármaco foi estudada.

Na literatura ainda não foi mencionada a produção de um híbrido de sílica contendo colágeno em fibras, TEC e SIN para esta finalidade, através do processo sol-

gel. Portanto, esta pesquisa exigiu análises de cada componente individualmente e após a formação do híbrido de sílica com colágeno.

2. Objetivos

a. Objetivos gerais

Obter um híbrido de sílica contendo colágeno através do processo sol-gel. Selecionar o híbrido de sílica com colágeno favorável para incorporação de sinvastatina, para possível performance na área de engenharia tecidual.

b. Objetivos específicos

- Sintetizar o xerogel de sílica por meio do processo sol-gel; adicionar o trietil-citrato para atuar como plastificante e incorporar o colágeno para formação do híbrido de sílica.
- Avaliar a composição química do híbrido de sílica contendo colágeno através da espectroscopia na região do infravermelho;
- Caracterizar as propriedades térmicas através das técnicas de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial;
- Identificar o comportamento mecânico dos híbridos de sílica contendo colágeno através de ensaio mecânico de compressão;
- Obter informações sobre a cristalinidade dos híbridos de sílica contendo colágeno através da técnica de difração de raios X;
- Analisar a morfologia dos híbridos de sílica com colágeno através da microscopia eletrônica de varredura;
- Incorporar a Sinvastatina e identificar o perfil de liberação deste fármaco no material híbrido de sílica contendo colágeno; averiguar as propriedades térmicas e a morfologia dos híbridos de sílica com colágeno após a adição do fármaco através das técnicas exploradas no trabalho.

3. Fundamentação teórica

a. Materiais híbridos e o processo sol-gel

Os materiais híbridos orgânicos-inorgânicos possuem um aprimoramento nas propriedades químicas, físicas e ópticas, resultando em um material com novas atribuições (MAO et al., 2020; OLALERU et al., 2020). A partir da combinação do componente orgânico e inorgânico é possível garantir um controle do tamanho, formato, estrutura, composição química, volume e dimensões, o que explica o interesse por estes materiais (YANG; ZHU; LI, 2022). Os híbridos podem atuar como adsorventes de metais pesados (KAYAN, 2019), como revestimentos protetores para diversos substratos da área da construção civil (GIACOBELLO et al., 2022) e também como nanofibras poliméricas e nanopartículas fotocatalíticas no desafio da poluição de águas residuais (CORDOBA et al., 2022).

Estas e outras aplicações são viáveis em função das propriedades concedidas a estes materiais, são elas: térmicas, magnéticas, elétricas, mecânicas e biológicas (ANICHINI; SAMORÌ, 2021; DAVID et al., 2021; FIEJDASZ et al., 2021; KIM; LIM, 2017). Em especial, sílica aplicada na proliferação de células cancerígenas (CATAURO et al., 2018), revestimentos bioativos que possibilitam melhorias superficiais em implantes odontológicos (CATAURO; BOLLINO; PAPAIE, 2014), membranas para utilização em curativos capazes de realizar liberação controlada de fármacos (ZIRAK HASSAN KIADEH et al., 2017) e sílica biocompatível que apresenta atividade osteogênica e pró-angiogênica (KANNIYAPPAN et al., 2021), são menções relevantes como emprego biológico destes materiais.

Uma das formas de obtenção dos materiais híbridos é o processo sol-gel, que usa o sinergismo das propriedades de cada um dos componentes, podendo ser aplicado em materiais usados na regeneração óssea devido às suas propriedades únicas. O processo sol-gel é uma técnica versátil para a fabricação de uma variedade de materiais com uma ampla gama de propriedades físicas, químicas e biológicas (ABDRABOH; ABDEL-AAL; EREIBA, 2021). A partir deste processo, é possível obter scaffolds porosos que apresentam superfície que estimula a adesão e o crescimento das células, fornecendo um ambiente favorável para migração e proliferação celular (LEI et al., 2020). A estrutura porosa dos scaffolds também permite a penetração de nutrientes, oxigênio e outras moléculas necessárias para a regeneração óssea. Além disso, como os scaffolds são

biodegradáveis, eles podem ser decompostos pelo corpo ao longo do tempo e substituídos por osso novo (IVASHCHENKO et al., 2015; OBATA et al., 2013).

Os materiais híbridos podem ser adaptados para ter as propriedades físicas e químicas do osso, como resistência e biocompatibilidade. Enquanto o processo sol-gel facilita a criação de materiais com tamanhos e formas de poros específicos, ideais para controlar a liberação de substâncias necessárias para o tecido regeneração (OWENS et al., 2016). A combinação desses materiais e processos fornece uma maneira eficiente e econômica de produzir scaffolds para regeneração óssea (CATAURO; BOLLINO; PAPALE, 2014).

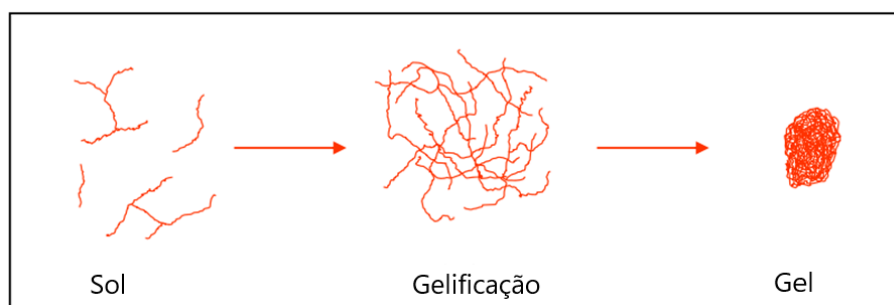
Além de scaffolds porosos, os materiais híbridos podem ser usados para regeneração óssea de várias maneiras. Eles podem ser utilizados na produção de enxertos ósseos, o que pode facilitar a cicatrização óssea (KANNIYAPPAN et al., 2021). Também podem ser usados como um sistema de liberação de fármacos, permitindo a liberação controlada de moléculas terapêuticas no local da regeneração óssea (HOFFMANN; FRÖBA, 2011).

A produção de membranas híbridas de xerogel de sílica e quitosana, a partir do processo sol-gel, apresentou maior adesão e crescimento de células osteoblásticas quando comparado com o uso de quitosana isoladamente (LEE et al., 2009). Xerogéis híbridos de poli(etileno glicol) e biovidro demonstraram potencial para atuação na regeneração óssea, principalmente após experimentos revelaram a formação de hidroxipatita (LIU et al., 2012a). Além disso, o sol-gel também foi responsável pela obtenção de membranas nanofibras constituídas de poli (ácido láctico) e xerogel de sílica, com superfícies altamente hidrofílicas, onde experimento in vivo revelaram melhora do osso devido a capacidade de regeneração do material (JANG et al., 2012).

As primeiras reações encontradas na literatura sobre o processo sol-gel envolvem a obtenção de um material de densidade elevada e dureza compatível para riscar um vidro (SCHMIDT, 2006). Em 1864, Ebelman observou que o produto da reação entre tetracloreto de silício e álcool, gelificava em exposição à atmosfera úmida, resultando em algo semelhante a um vidro (BACCILE et al., 2009). Contudo, o uso deste método para a preparação de vidro de sílica, na década de 70, foi a tecnologia fundamental para implementar telecomunicações ópticas e para reconhecimento de demais cientistas (SAKKA, 2021).

O processo sol-gel pode ser definido como sendo uma rota sintética, realizada em baixas temperaturas, em que há formação de uma rede polimérica inorgânica por reações de gelificação (SCHMIDT, 2006). Neste cenário, ocorre a transição do sistema *sol* (suspensão coloidal de partículas sólidas com diâmetros entre 1 a 1000 nm em líquido ou polímero em solução) para *gel* (agregação de partículas coloidais ou polimerização gerando uma estrutura sólida rígida que aprisiona a fase líquida em seu interior), semelhante a ilustração da figura 1.

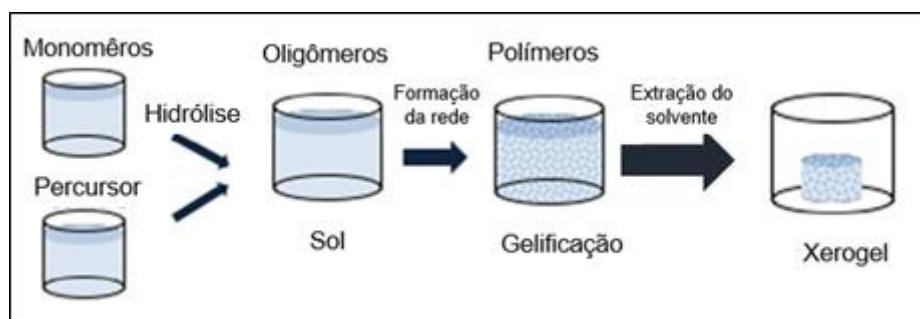
Figura 1. Ilustração que representa a transição do sistema sol para gel, em meio ácido, formando espécies de sílica lineares ou fracamente ramificadas.



Fonte: INNOCENZI, p. 548, 2020, com adaptações.

O processo sol-gel pode ser dividido em estágios sequenciais em que o pH é um fator dependente, incluindo a hidrólise do precursor, policondensação do monômero, formação de partículas sólidas e, em seguida, crescimento e agregação de partículas para produzir gel. Além disso, quando ocorre a secagem do solvente subsequente às etapas, resulta o xerogel, semelhante a um pó, formado em razão das tensões capilares compressivas (C. JEFFREY BRINKER; GEORGE W. SCHERER, 1990). A figura 2 exibe estas etapas e também a formação do xerogel.

Figura 2. Representação das etapas do processo sol-gel até a formação do xerogel.

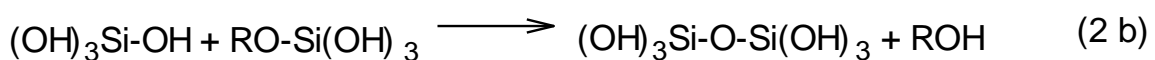
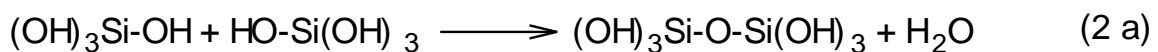


FONTE: OWENS et al., p. 5, 2016., com adaptações

Estas transições ocorrem baseadas na hidrólise e condensação dos precursores alcóxidos, formando estruturas porosas. Estes alcóxidos são os compostos responsáveis

para fabricação de novos materiais viabilizados pelo processo sol-gel, podendo ser compostos por silício, alumínio, zircônio e titânio (LIVAGE, 1999). Um alcóxido de silício pode ser representado pela forma química geral $\text{Si}(\text{OR})_4$, em que R é a cadeia alquílica do grupo hidrolisável durante o processo sol-gel. Inicialmente, ocorre a hidrólise dos alcóxidos de silício em solvente orgânico, ocorrendo a formação de grupos silanóis (Si-OH). Em seguida, dois destes grupos silanóis podem reagir entre si, por meio de uma condensação, gerando um dímero de ligação transversal Si-O-Si (um siloxano) (KLEIN; APARICIO; JITIANU, 2005; LEI et al., 2020).

Conforme apresentado na equação 1 a seguir, a hidrólise acontece pelo ataque nucleofílico da água no grupo alcóxido, $\text{Si}(\text{OR})_4$, formando os silanóis, Si-OH , e ocorrendo a liberação de álcool. Consequentemente, na condensação, expressada na equação 2a, estes grupos silanóis formados na hidrólise reagem entre si, bem como também com os precursores não hidrolisados (ilustrado na equação 2b), gerando compostos com ligações siloxano (Si-O-Si) (SUEGAMA et al., 2014). Nesta última etapa, ainda ocorre a formação de espécies químicas com duas ou três ligações transversais, decorrendo a uma polimerização e formação de uma rede tridimensional porosa de silicatos.

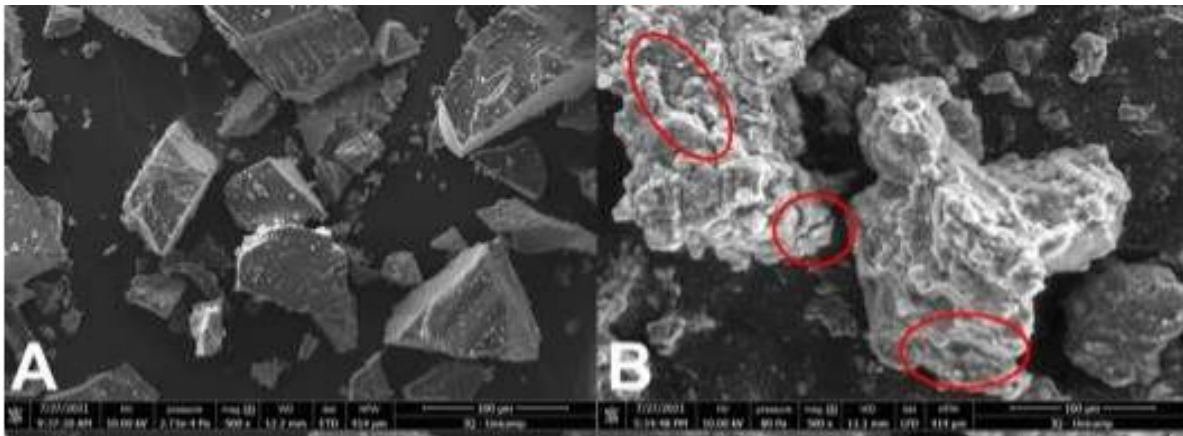


Nas reações de hidrólise do processo sol-gel, pode haver necessidade de catalisadores ácidos ou básicos. Aelion e seus colaboradores (1950), pioneiros na exploração deste assunto, mencionaram que a hidrólise catalisada por ácido é uma reação de segunda ordem e que a taxa é diretamente proporcional à concentração de ácido utilizado. A formação do gel em meio ácido ocorre no ataque do ácido ao oxigênio ligado ao silício, Si-OH ou Si-OR , favorecendo a sua saída e facilitando o ataque nucleofílico ao silício por grupos H_2O (na hidrólise) ou Si-OH (na condensação).

Por outro lado, a hidrólise básica é uma reação de primeira ordem, proporcional à concentração da base. Neste caso, o ataque nucleofílico ocorre por OH^- (na hidrólise) ou Si-O^- (na condensação) ao silício mais ácido que é o mais reticulado (BENVENUTTI et

al., 2009). A diferença entre as taxas de velocidade da hidrólise ácida ou básica afeta diretamente a estrutura do sol e, como consequência, do gel. De maneira geral, soluções ácidas favorecem a formação de espécies de sílica lineares ou fracamente ramificadas e as básicas resultam em uma rede mais porosa (INNOCENZI, 2020). Na figura 3 imagens de microscopia eletrônica de varredura expõem esta diferença entre o material híbrido de sílica obtido em meio ácido e básico.

Figura 3. Imagem que diferencia os híbridos de sílica sintetizados em meio (a) ácido e (b) básico, extraído da literatura.



FONTE: OLÍVIO; BUZATO; SOUZA, p. 8, 2021, com adaptações

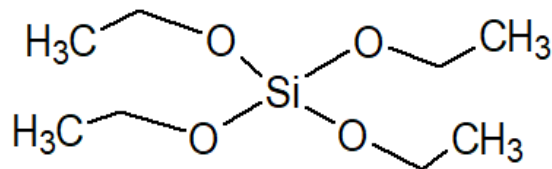
Uma reação típica para formar sílica, relacionada com o processo sol-gel, envolve a hidrólise de um alcóxido de silício, e os mais conhecidos são tetraetilortossilicato (TEOS) e tetrametoxissilano (TMOS), em que o TEOS é o mais investigado (BACCILE et al., 2009). Apesar do TEOS ser o mais usual entre os pesquisadores, a abordagem do mesmo, combinado com colágeno, para possível aplicação na área de engenharia de tecidual, é pouco investigado.

i. Tetraetilortossilicato (TEOS)

O tetraetilortossilicato (TEOS), também denominado como tetraetoxissilano, é amplamente utilizado como precursor molecular na química sol-gel de alcóxidos, onde através de reações de hidrólise e condensação, já ilustradas anteriormente, produz uma variedade de materiais à base de sílica (HENCH; WEST, 1990). Xerogéis, aerogéis, vidros, vitrocerâmica e os materiais compósitos, são exemplos frequentes relacionados com TEOS encontrados nas revisões bibliográficas (FERNANDEZ et al., 2012). Além destes, o TEOS vem sendo utilizado para obtenção de biomateriais em razão de suas propriedades mecânicas, estabilidade química e térmica vantajosas, rugosidade de

superfície, excelente adesão e características de biocompatibilidade (DOBOS et al., 2021). A figura 4 representa a estrutura química do TEOS.

Figura 4. Estrutura química de TEOS.



Fonte: autoria própria.

As propriedades dos materiais híbridos compostos por TEOS apresentam importantes aplicações para o domínio industrial e até mesmo para finalidades médicas. Deste modo, já foi relatado o uso de TEOS em revestimentos contra corrosão de implantes metálicos (FIGUEIRA; SILVA; PEREIRA, 2015), curativos para cicatrização de feridas (FOKSOWICZ-FLACZYK et al., 2016), sistema de carregamento de fármacos (KHAN et al., 2021) e na regeneração de tecidos ósseos (DESHMUKH et al., 2020).

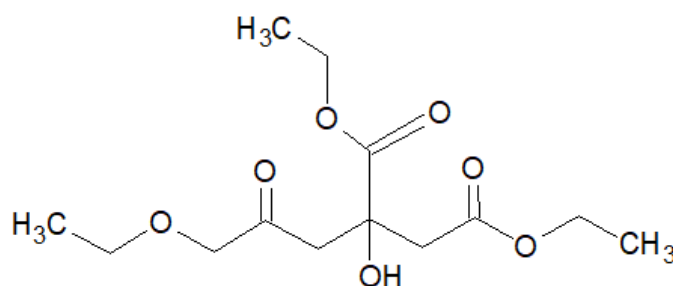
O híbrido de poli (álcool vinílico) e vidro bioativo, sintetizados pela rota sol-gel, misturados com TEOS e outros precursores, resultou em composições e morfologias controladas, características que apresentam um potencial futuro para engenharia tecidual (CONCEIÇÃO COSTA et al., 2007). A adição de parafina se mostrou viável para regeneração óssea quando integrada em biovidros, resultado das reações de policondensação do TEOS (GUIMARÃES et al., 2016). Contudo, o TEOS aparenta ser promissor no desenvolvimento de materiais híbridos para aplicações na engenharia tecidual, fornecendo condições de resistência mecânica, enquanto os componentes orgânicos são responsáveis pela tenacidade e plasticidade (DESHMUKH et al., 2020).

b. Trietil-Citrato

O trietil-Citrato (TEC) é considerado um solvente “verde” e um produto químico totalmente biorrenovável, pois é sintetizado via esterificação de ácido cítrico com etanol e citrato de tributílica (FIUME et al., 2014). O TEC pode substituir solventes à base de petróleo e vem sendo muito explorado como plastificante não tóxico, em cosméticos, produtos da área médica e até em revestimentos de tinta de impressão. Por ser biodegradável, incolor e inodoro, o TEC também pode ser adequado como aditivos alimentares, para conferir um sabor frutado. Inclusive, o TEC pode atuar como agente de

batida para claras de ovos secas, como aromatizantes ou material de embalagens de alimentos (MONFORT et al., 2012; KOLAH et al., 2008). Este solvente também possui estabilidade térmica, baixa volatilidade e propriedades elétricas interessantes, tornando-o adequado para muitas aplicações (KIMURA; KIDA; YAMAGUCHI, 2022). Além disso, é atóxico e não irritante, sendo seguro para uso em muitos produtos. A figura 5 exibe a estrutura molecular de TEC.

Figura 5. Estrutura química do TEC.



Fonte: autoria própria.

O TEC pode ser utilizado como plastificante em materiais poliméricos, com a finalidade de otimizar as propriedades mecânicas (flexibilidade e fragilidade), a permeabilidade, solubilidade e adesividade. O TEC pode reduzir a viscosidade do polímero e torná-lo mais flexível, facilitando o processamento (OKARTER; SINGLA, 2000). É um líquido de alto ponto de ebulição (294°C) e baixa massa molar (279,28 g mol⁻¹), que sofre dispersão homogênea, expandindo a mobilidade das cadeias poliméricas do material (PATIL; TATED; MHASKE, 2021).

Na literatura, inúmeros trabalhos utilizam TEC como plastificante em compósitos poliméricos de base biológica e o mesmo causa redução na resistência à tração e no módulo de Young, bem como aumenta a flexibilidade do material (LEE et al., 2020). As propriedades térmicas e mecânicas de uma membrana de polímero sintético biorreabsorvível foram influenciadas pela presença de TEC, que serviu como alternativa para curativos cutâneos (CARDOSO et al., 2013). Já quando foi introduzido a um revestimento entérico de colágeno, o TEC contribuiu com aumento da flexibilidade, tornando o dispositivo menos quebradiço e rígido (NICKLAS et al., 2009).

Recentemente, a influência TEC foi relatada em microcápsulas de etilcelulose, onde houve uma diminuição na taxa de liberação do fármaco cloridrato de propranolol

(AFRASIABI GAREKANI et al., 2018). Jennings e seu grupo de pesquisa (2016), afirmam que filmes plastificados contendo TEC e quercetina apresentam a liberação mais lenta. Por outro lado, a taxa de liberação foi aumentada quando TEC foi adicionado em sistemas poliméricos de formação de filmes (FREDERIKSEN; GUY; PETERSSON, 2015). Enquanto Kucera e seus colaboradores (2008) identificaram maior estabilidade na entrega de pastilhas de teofilina revestidas com filme Eudragid® e dióxido de sílcio pirogenado, no momento em que 15% de TEC foi inserido.

No presente trabalho, além de atuar como plastificante e como uma ferramenta para aprimorar a formação do híbrido de sílica, o TEC também pode intervir em alguns aspectos importantes para aplicação na engenharia tecidual. Já foi reportado anteriormente que, em consequência a formação de poros e maior flexibilidade, a combinação de TEC com poli (ácido lático) levou ao aumento da interação celular entre o dispositivo biodegradável e o organismo (SILVA et al., 2002). Melhorias no controle da degradação de implantes contendo poli (ácido lático) também já foram constatadas, onde o tempo de degradação é proporcional à concentração de TEC, o que não interferiu na biocompatibilidade do material (SCAPIN et al., 2003). Membranas contendo este mesmo polímero se mostraram mais densas e compactas em relação às quais continham TEC e, ainda, a adição deste plastificante resultou em uma membrana mais porosa e adequada no reparo tecidual (LUCIANO et al., 2001).

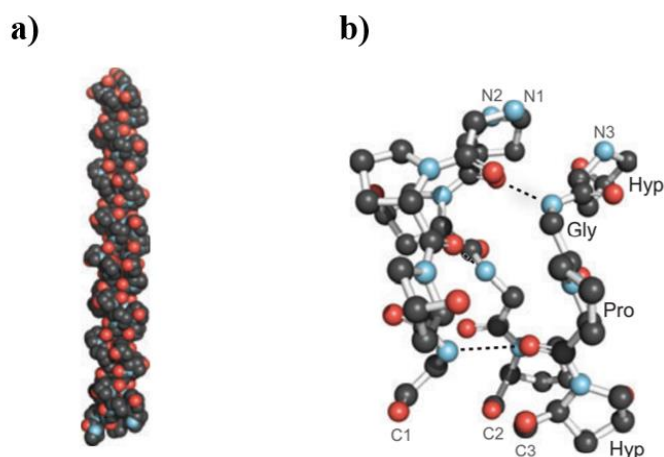
Nessa mesma perspectiva, membranas contendo 7% de TEC como plastificante foram implantadas no tecido subcutâneo de ratos, em que foi verificado infiltração celular e, após 180 dias a implantação, foi observado a formação de fibroblastos e vasos sanguíneos rodeados de fibras colágenas (SILVA et al., 2006). Além disso, um estudo apontou que o TEC pode agir reduzindo a interação entre as cadeias poliméricas, favorecendo uma membrana mais flexível. No entanto, apesar de melhorar a interação tecido-polímero, a membrana composta por poli (ácido L-láctico-co-glicólico) e TEC, perdeu rapidamente suas propriedades em relação a qual não tinha TEC em sua composição. Por consequência, isso limita o uso do plastificante a técnicas que envolvem recuperação de lesões ou cultura de células, onde há rápida migração celular (PIETRO et al., 2006).

c. Colágeno

O colágeno é o principal componente da matriz extracelular e, no corpo humano, o mesmo se faz presente na forma de fibras que são distribuídas diferentemente em cada tecido, obedecendo as necessidades das propriedades mecânicas locais (MA et al., 2021). Nos tendões, por exemplo, fibras de colágeno paralelas em uma única direção são predominantes, enquanto fibras de colágeno com estrutura hierárquica são encontradas em ossos corticais (KEW et al., 2011).

O colágeno pode ser definido como sendo uma proteína fibrosa de origem animal, que é constituído de cadeias peptídicas dos aminoácidos de glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hiproxiprolina e alanina, organizadas em paralelo a um eixo (SILVA; PENNA, 2012). É formado por 19 cadeias α (cadeia polipeptídica que forma tripla hélice do colágeno) diferentes e, quando associadas 3 a 3, originam-se cerca de 27 tipos de colágeno, organizados em 3 grandes grupos (SHOULDERS; RAINES, 2009). O colágeno do tipo I é o mais comum, encontrado em peles, tendão, ossos e córnea, são moléculas de 300nm de comprimento formadas pela repetição de um triplete Glicina-X-Y (em que X geralmente é uma Prolina – Pro – e Y é um hidroxiprolina – Hypo). A figura 6 exibe a representação tridimensional do colágeno do tipo I.

Figura 6. Representação da estrutura do colágeno em (a) tripla hélice formada por combinações de aminoácidos e (b) representação de um segmento e hélice tripla de colágeno, conectadas por ligações de hidrogênio.



FONTE: SHOULDERS; RAINES, p. 931, 2009, com adaptações

Nas últimas décadas, os polímeros sintéticos se tornaram muito comuns e facilmente disponível para obter materiais com aplicações médicas, mas o colágeno ainda é um dos biomateriais mais populares e usual (MEYER; BALTZER; SCHWIKAL, 2010). Isso acontece por que o colágeno é o principal componente natural da matriz extracelular, sendo assim, muito explorado para biofabricação (OSIDAK et al., 2019). O colágeno combina propriedades interessantes, pois é biocompatível e biodegradável, podendo ser aplicado na engenharia tecidual em virtude da boa adesão celular, proliferação e diferenciação de células (BROWNE; ZEUGOLIS; PANDIT, 2013). Todavia, o emprego de colágeno com outros materiais se mostra mais proveitoso.

Com a metodologia do processo sol-gel, o colágeno já foi adicionado em revestimentos de sílica como filme protetor, ecologicamente correto, contra corrosão de uma liga de alumínio (GOBARA et al., 2015). Microesferas de sílica, combinadas com as funções do colágeno e mupirocina, formam um biocompósito sinérgico para tratamento de cicatrização de feridas (PERUMAL; RAMADASS; MADHAN, 2014). Melhor adsorção de colágeno também pôde ser identificada em revestimentos à base de silício, derivados de sol-gel, aprimorando a osseointegração de implantes dentários de titânio comercial (MARTÍNEZ-IBÁÑEZ et al., 2018). Aliás, células pré-osteoblastos possuem adesão e crescimento mais efetivos em membranas híbridas de colágeno e sílica, do que membranas tradicionais compostas apenas por colágeno, sugerindo a utilização do mesmo como uso em regeneração óssea guiada (LEE et al., 2012).

O colágeno, juntamente com a hidroxiapatita, forma a estrutura primária do osso, sendo este considerado um compósito cerâmico bifásico que apresenta uma fase orgânica e uma fase mineral (VEREMEEV et al., 2020). O papel do colágeno nos ossos envolve a regulação das propriedades mecânicas (tenacidade, força e flexibilidade) e interação do mesmo com a fase mineral, o que explica o seu potencial atrativo para uso como biomaterial em diversas doenças ósseas (LI et al., 2021). Apesar disso, a associação de colágeno em blendas e outros polímeros naturais, superam as desvantagens do uso isolado desta proteína, como a questão da baixa resistência mecânica, térmica e degradação enzimática acelerada (SOUZA et al., 2022).

A combinação de colágeno com cerâmicas, por exemplo, pode formar compósitos com alta biocompatibilidade, osteocondutividade e regeneração óssea (MALLICK; ARE; BABU, 2022). No entanto, a associação de silício e cálcio em materiais biocerâmicos recorrem aos elementos mais importantes envolvidos nos processos fisiológicos do corpo

humano. Em especial, o silício, que é o principal constituinte dos silicatos (produto do processo sol-gel), ativa a enzima prolil-hidroxilase que pode ser encontrada no retículo endoplasmático das células sintetizadoras de colágeno, desempenhando formação e remodelação óssea (MALTONI ANDREA; SUFFRITTI, 2018). Dessa forma, o silício influencia no aumento da densidade óssea, podendo ser explorada para estimular a formação e reparo destes tecidos, assim como confirma Lee e seus colaboradores (2019).

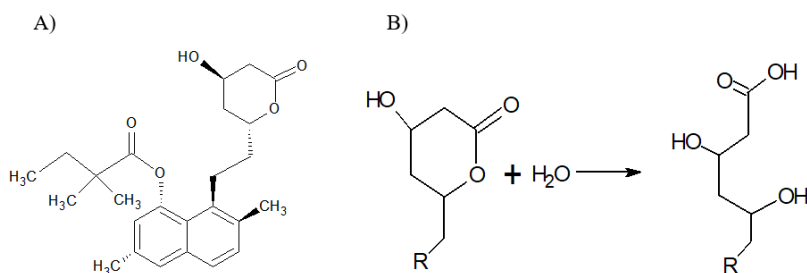
Recentemente, um grupo de pesquisadores realizou um levantamento de metodologias frequentes para obtenção de scaffolds de fibras de colágeno para aplicação na engenharia tecidual (MA et al., 2021). Foram mencionados métodos mecânicos e não mecânicos, concluindo que a disposição das fibras de colágeno no novo osso, referente ao material fabricado, não atraiu atenção suficiente dos pesquisadores. Então, a busca por novos métodos e materiais inovadores voltados para esta área, ainda é expressiva.

d. Sinvastatina

A sinvastatina (SIN), $C_{25}H_{38}O_5$, é uma molécula sintética pertencente à família das estatinas, inibidoras da enzima 3-hidroxi-3-metilglutail coenzima A redutase (HMG-CoA reductase) e participante da fase inicial da síntese endógena do colesterol (GUPTA; DEL FABBRO; CHANG, 2019). As estatinas são prescritas com intuito de reduzir níveis graves de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C). A SIN, por sua vez, foi desenvolvida a partir da lovastatina e é um derivado sintético do produto de fermentação isolado de fungos *Aspergillus* (ACEVES-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Normalmente, a SIN é administrada como uma forma lactona sólida e sofre hidrólise, após a dissolução em pH fisiológico, para produzir um hidroxíácido biologicamente ativo (SIMÕES et al., 2013). A figura 7 indica a estrutura química da SIN e também o esquema representando o processo de hidrólise, citado por último.

Figura 7. Representação da (a) estrutura química de SIN e do (b) esquema de hidrólise com a formação do hidroxíácido biologicamente ativo.



Fonte: autoria própria.

Uma pesquisa que abrange duas décadas de estudos mostrou que além da redução do colesterol LDL, a SIN também melhora a função endotelial, das células musculares lisas, da parede vascular e também possui ações anti-inflamatórias (eficaz no tratamento de asma, artrite reumática, reduz acidente vascular cerebral e níveis de proteína C-reativa) (KOLOVOU et al., 2008). Além dessas atribuições, a SIN foi empregada em estudos de entrega controlada de drogas em biomateriais, com a finalidade de atuar como um sistema estratégico promissor na reconstrução e diferenciação óssea (JIN et al., 2021). A motivação para esta prática está relacionada com a capacidade da SIN promover a formação óssea e angiogênese, em que estes sistemas direcionam a medicação diretamente nos defeitos ósseos locais, reduzindo a eliminação primária pelo fígado e os efeitos colaterais, bem como aumentando a biodisponibilidade (ROCA-MILLAN et al., 2019).

O trabalho inovador reportado por Mundy e seus colaboradores (1999), exibiu a eficiência da SIN em estimular a regeneração óssea e promover formação do osso em camundongos. Os mecanismos que levam a estas particularidades estão atribuídos às propriedades de SIN serem promotoras de osteoblastos, anti-inflamatórias, inibidoras de osteoclastos e neovascularização.

Assaf e seu grupo (ASSAF; DE REZENDE DUEK; OLIVEIRA, 2013), obtiveram um andaime de poli (ácido DL-láctico-co-glicólico) contendo SIN eficaz como ferramenta osteocondutora e osteoindutora. Nessa perspectiva, quando incorporada em osso bovino desproteínizado e esponjas de colágeno, a SIN foi eficiente para estimular a formação de tecido ósseo (DE SOUSA et al., 2020). Nanoesferas de sílica estruturadas mesoporosas e nanopartículas de espuma mesocelular, sintetizadas com TEOS, foram estudadas para liberação controlada e avaliar a taxa de dissolução em água de SIN (WU et al., 2014; ZHANG et al., 2011). A construção de nanoesferas de cálcio-silício de estrutura de poros de tamanho duplo, através do método sol-gel e adição de TEOS, já foi abordado na literatura, sendo obtido um material biocompatível e mais eficaz na promoção da osteogênese e angiogênese, quando adicionado SIN (LIU et al., 2021).

Apesar da SIN ter demonstrado efeitos positivos na regeneração óssea em alguns estudos, a sua prescrição é destinada principalmente para redução do colesterol, tendo sua atuação na regeneração óssea ainda pouco explorada. Com isso, a escolha de incorporar a SIN no material híbrido de sílica combinado com colágeno, através do método sol-gel, é justificada pela potencialidade do material obtido operar convenientemente nesta área.

4. Parte experimental

a. Materiais

Para obtenção do híbrido de sílica contendo colágeno foi utilizado tetraetilortosilicato (TEOS – $0,933 \text{ g mol}^{-1}$) e trietil-citrato 99% (TEC), obtidos da empresa *SIGMA-Aldrich*. O ácido sulfúrico, reagente escolhido para catalisar a reação do processo sol-gel, foi obtido da empresa *Synth*. Enquanto o colágeno em fibras foi cedido pela empresa *Nova Prom*, usado sem purificação prévia. Os híbridos de sílica contendo colágeno foram obtidos em pratos de cultura celular de poliestireno, contendo seis poços de área equivalente a $9,60 \text{ cm}^2$, obtido da empresa Nest. Todas as soluções foram preparadas em água pura deionizada (resistividade $\geq 18,0 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

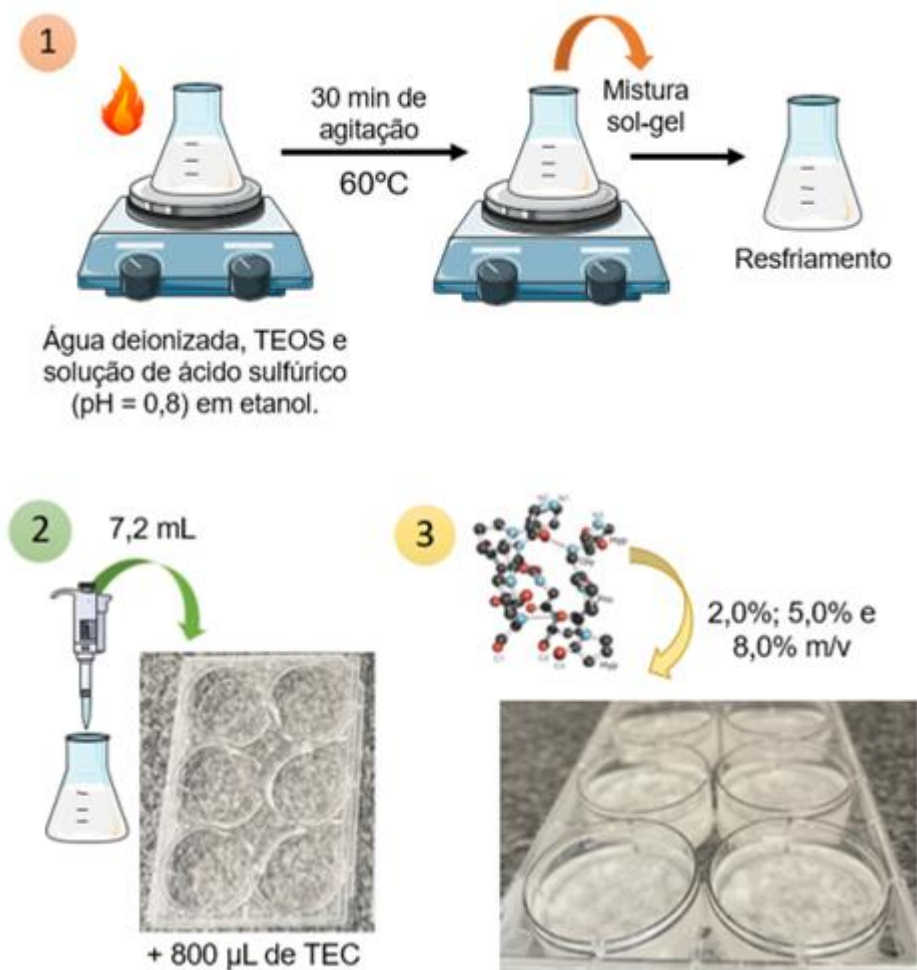
b. Síntese do xerogel de sílica e do híbrido de sílica contendo colágeno

A metodologia utilizada para a obtenção do híbrido de sílica foi a mesma reportada anteriormente na literatura por Rocha e colaboradores (ROCHA et al., 2012). Em um béquer de vidro borossilicato de 300 mL, previamente higienizado, foram adicionados 100 mL de etanol absoluto e em sequência, 26,8 mL (120,9 mmols) de TEOS, 1,5 mL de água deionizada e 1,0 mL de uma solução aquosa de ácido sulfúrico ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ – pH = 0,8). Esta mistura permaneceu em agitação magnética constante e o aquecimento foi controlado em torno de 60°C durante 30 minutos.

Após o resfriamento da mistura do sol-gel, alíquotas contendo 7,2 mL da solução preencheram os seis poços dos pratos de cultura celular (com área correspondente a $9,60 \text{ cm}^2$). Em seguida, 800 μL de TEC foram adicionados e o colágeno foi incorporado nas seguintes proporções: 2,0% (160 mg); 5,0% (400 mg) e 8,0% (640 mg) m/v em relação a quantidade de TEOS da solução do sol-gel. A mistura foi homogeneizada e a após evaporação total do solvente, que ocorreu em condições de temperatura ambiente e levou aproximadamente 48 horas, os híbridos de sílica contendo colágeno foram obtidos.

A figura 8 exibe as etapas da obtenção dos híbridos de sílica contendo colágeno. Para compreender a formação deste material foi necessário comparar o xerogel de sílica puro, que é o produto formado da mistura do sol-gel após a evaporação total do solvente usado na síntese, bem como o xerogel de sílica com a adição do plastificante TEC. Além disso, análises posteriores a incorporação do colágeno e formação do híbrido de sílica também foram empregadas.

Figura 8. Etapas do procedimento de obtenção (1) da mistura sol-gel, (2) adição do TEC à solução, (3) incorporação do colágeno.



Fonte: autoria própria.

c. *Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)*

A Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) é importante na caracterização de materiais pois fornece informações sobre sua composição química e estrutura molecular. Esta técnica permite identificar as bandas de absorção de radiação infravermelha, que são relacionadas às vibrações das ligações químicas e grupos funcionais presentes no material. A informação obtida pode ser usada para avaliar a pureza e a homogeneidade do material, bem como para monitorar sua degradação durante o processo de biodegradação e os processos de regeneração óssea.

Amostras do xerogel de sílica (pó formado após a evaporação total do etanol da mistura relatada no item 4b), colágeno e do TEC puro foram submetidas à análise de FTIR. Esta técnica foi empregada com intuito de caracterizar os grupamentos funcionais das amostras obtidas, bem como verificar as possíveis interações entre os componentes do híbrido de sílica. Também foram obtidos espectros das amostras do xerogel de sílica contendo TEC, em comparação com os híbridos compostos por 2%, 5% e 8% de colágeno. A análise foi realizada em um espectrofotômetro de modelo Spectrum 65 (Perkin Elmer), com resolução de 4 cm^{-1} , em módulo de refletância total atenuada (ATR) com cristal de ZnSe, na região compreendida entre 4000 a 500 cm^{-1} .

d. Termogravimetria (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A avaliação das propriedades térmicas de materiais utilizados na regeneração óssea é importante para garantir a biocompatibilidade e a estabilidade térmica do material. As técnicas de Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória diferencial (DSC) fornecem informações sobre estabilidade térmica e a degradação térmica do material, bem como sobre a temperatura de transição vítrea, respectivamente. Estas informações são valiosas para a seleção de materiais para aplicações na regeneração óssea, pois permitem avaliar a estabilidade e a degradação do material durante o processo de regeneração, na temperatura corpórea.

As propriedades térmicas das amostras do xerogel de sílica com adição de TEC, bem como as dos híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno, foram investigadas através da TG e DSC. Para as análises de TG o equipamento utilizado foi o da Discovery TGA 55 da marca TA Instruments, onde as amostras foram depositadas em cadinho de platina. O intervalo de temperatura utilizado foi de 25 a 700°C , sob atmosfera dinâmica de gás nitrogênio com fluxo de 40 ml/min e taxa de aquecimento de 10°C/min .

Para as análises de DSC foram utilizadas massas de aproximadamente $6-10\text{ mg}$ das amostras, depositadas em panelinhas alumínio, que posteriormente foram aquecidas de 0°C até 250°C . Os experimentos foram feitos no equipamento Discovery DSC 25 da TA Instruments, sob atmosfera dinâmica de gás nitrogênio com vazão de 250 mL/min e taxa de aquecimento equivalente a 10°C/min para todas as etapas.

e. Ensaio mecânico de compressão

Avaliar as propriedades mecânicas é importante para a segurança e eficácia de materiais usados na regeneração óssea, pois afetam sua performance durante o processo

de implantação e suporte ao tecido ósseo em regeneração. Por exemplo, a resistência à compressão, tração e flexão dos materiais deve ser compatível com as exigências do ambiente ósseo para evitar fraturas ou outros danos durante o uso. Além disso, a dureza e a elasticidade dos materiais são importantes para o suporte adequado do tecido ósseo em crescimento. Conhecer as propriedades mecânicas dos híbridos de sílica contendo colágeno permite selecionar o mais adequado, podendo também ser ajustadas em uma próxima etapa.

Ensaio de compressão mecânica dos híbridos compostos pela variação de 2%, 5% e 8% de colágeno foram realizados usando INSTRON EMIC 23 – 30 a 25°C, com taxa de deslocamento do travessão 12mm/min. A espessura média de cada espécime foi de 2,9mm; 3,25mm e 4,06mm, para os híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno, respectivamente. O ensaio de compressão mecânica foi realizado seguindo as diretrizes da norma ASTM D575-91 e, a partir dos ensaios, foi possível obter o gráfico de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos híbridos de sílica contendo colágeno.

f. Difração de raios X (DRX)

A aplicação da técnica de DRX tem como objetivo determinar a estrutura aproximada dos átomos ou moléculas presentes nas amostras, fornecendo informações sobre sua disposição espacial, ordem e tamanho de grão. Estas informações são úteis para estudar a textura e a microestrutura de materiais amorfos, bem como para aprimorar o entendimento de seus processos de formação e propriedades físicas e químicas. Portanto, amostras do xerogel de sílica puro, colágeno em fibras, xerogel de sílica com adição de TEC e as amostras dos híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno, foram investigadas através de DRX.

Para analisar as amostras por DRX foi utilizado um difratômetro modelo MiniFlex-XRD 600 da marca Rigaku. Os parâmetros utilizados foram radiação $\text{CuK}\alpha$ de 1.5418 Å, 40 kV e 15 mA. Os difratogramas foram obtidos dentre um intervalo de 2θ de 2°- 90°.

g. Incorporação da Sinvastatina e ensaio de liberação controlada

A incorporação da SIN ao híbrido de sílica contendo 8% de colágeno foi realizada nas proporções de 0,1% (0,3 mg), 1,0% (3,2 mg) e 2,0% (6,4 mg) em relação a massa de colágeno presente no material híbrido. A SIN foi adicionada posteriormente ao momento

em que o colágeno foi acrescentado e, em seguida, os pratos de cultura celular de 12 poços (de área equivalente a $3,85\text{cm}^2$) foram armazenados para que houvesse a evaporação do solvente. Após aproximadamente 48 horas, as amostras se apresentaram secas por completo e o ensaio de liberação controlada foi iniciado.

O ensaio de liberação controlada foi empregado com intuito de averiguar o perfil de liberação *in vitro* dos híbridos de sílica, o qual é dado a partir da porcentagem de fármaco lixiviado no meio de liberação. O experimento foi realizado em triplicata utilizando amostras do material híbrido contendo 8% de colágeno (de área próxima a $3,0\text{cm}^2$), imersas em tubos Falcon com 10mL de solução tampão fosfato-salino (PBS – $0,01\text{mol L}^{-1}$) e mantidas a 37°C em banho termostático. Deste modo, alíquotas de 5 mL foram coletadas em intervalos curtos após 1, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, seguidas de coletas em períodos mais longos realizadas após 2, 3, 4, 5 e 6 horas. A quantidade retirada em cada alíquota foi repostada com solução de PBS após cada coleta. Posteriormente a esta etapa inicial, as alíquotas foram colhidas a cada 24 horas até completar 350 horas de ensaio.

A absorvância da SIN liberada nas amostras foi analisada em um espectrofotômetro UV-Visível modelo CIRRUS 80 (FEMTO), no comprimento de onda de 238 nm, com o auxílio de cubetas de quartzo para leitura. A curva de calibração foi obtida através da diluição seriada de uma solução contendo $0,32\text{mg mL}^{-1}$ de SIN em solução de PBS. A partir dessas informações, a porcentagem de SIN liberada em cada intervalo de tempo das amostras de híbrido de sílica contendo 8% de colágeno foi calculada.

Além do ensaio de liberação controlada, as amostras dos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno foram analisadas por FTIR, TG, DSC e DRX após incorporação do fármaco nas concentrações citadas anteriormente.

h. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia raios X por dispersão em energia (EDS)

A superfície das amostras de xerogel de sílica e xerogel de sílica com TEC, bem como a superfície de fratura dos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno e após a incorporação de SIN, foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) foi a técnica integrada escolhida para identificar e quantificar elementos químicos nas amostras.

Previamente às análises, os híbridos de sílica contendo colágeno foram fraturados com nitrogênio líquido. As amostras foram coladas em stubs de alumínio e metalizadas com um feixe plasmático de ouro por meio do dispositivo de revestimento a vácuo Leica EM ACE200, com intuito de melhorar a condutividade das amostras analisadas. As imagens de MEV foram obtidas com detectores de elétrons secundários no equipamento Prisma E da Thermo Scientific, operado na voltagem de aceleração de 10 kV. As micrografias foram realizadas no Laboratório de microscopia e caracterização de materiais (LabMiCaM) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar – campus Araras).

5. Resultados e discussões

a. Análise macroscópica dos híbridos de sílica contendo colágeno

A figura 9 mostra as fotografias dos híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno e obtidos após evaporação do solvente. Verificou-se, macroscopicamente, que a adição de diferentes concentrações de colágeno interferiu na morfologia dos híbridos de sílica. Este fato pode ser constatado observando as irregularidades e heterogeneidade da superfície dos híbridos com a menor concentração de colágeno adicionada. Estas características podem ser verificadas na figura 10, que exibe, em particular, o híbrido contendo 2% de colágeno.

Figura 9. Fotografias obtidas após a evaporação do solvente e formação dos híbridos de sílica contendo (A) 2%, (B) 5% e (C) 8% de colágeno.

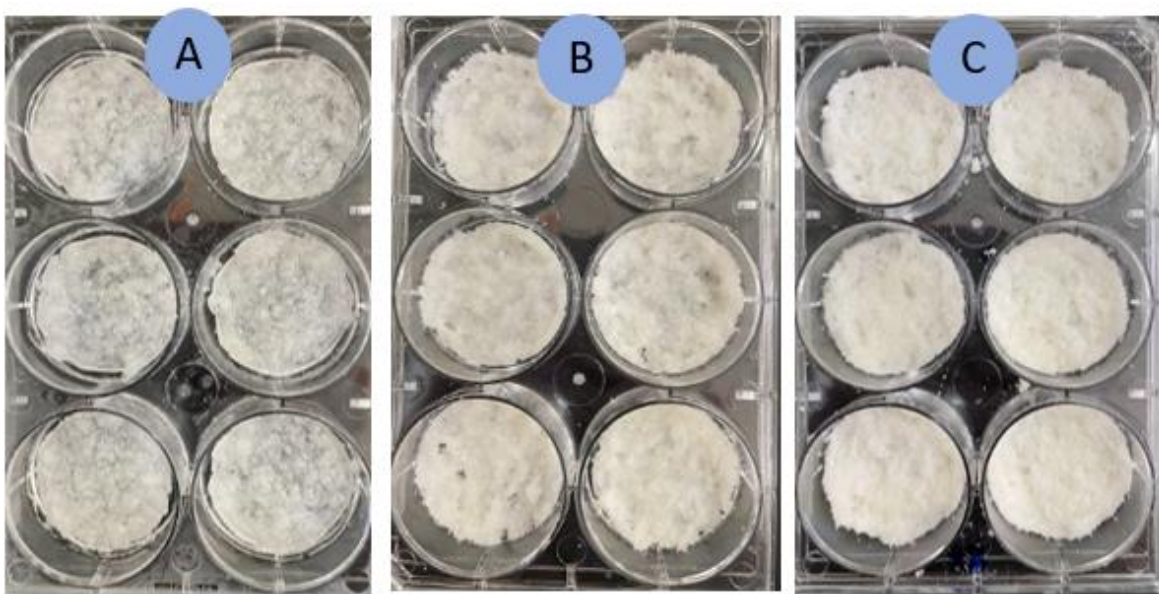


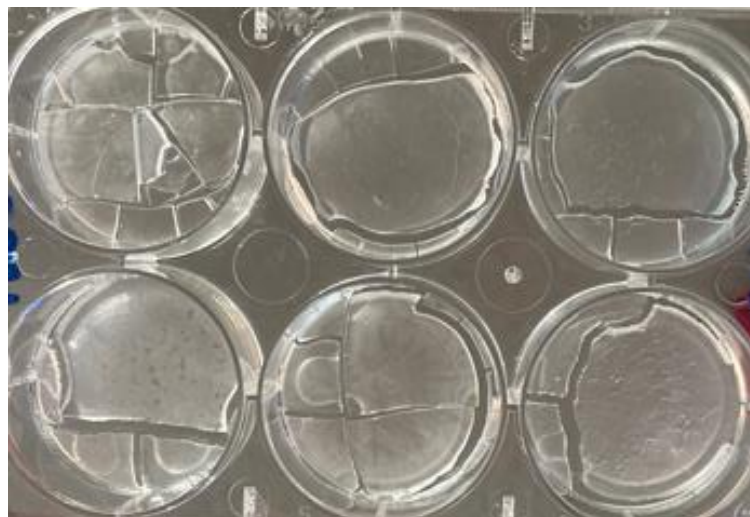
Figura 10. Fotografia do híbrido de sílica contendo 2% de colágeno evidenciando a heterogeneidade do material.



O solvente utilizado nas reações do processo sol-gel pode influenciar na homogeneidade do material obtido. Braga e colaboradores (2021), reportaram a influência dos solventes na homogeneidade química durante a obtenção de mulita através do processo sol-gel, onde melhores resultados foram observados com o uso de álcool etílico e isopropílico. O xerogel e os híbridos obtidos neste trabalho também foram sintetizados com etanol, no entanto, o que pode justificar a falta de homogeneidade são as fibras dispersas do colágeno escolhido para compor o material híbrido de sílica.

O ensaio de compressão mecânica não foi realizado para as amostras de xerogel de sílica puro e também para o xerogel de sílica com TEC. A formação do xerogel de sílica puro ocorre quando o solvente usado na síntese é evaporado completamente, acarretando na formação de um pó e, quando o TEC foi adicionado, o material formado se mostrou muito quebradiço, justificando o motivo do ensaio mecânico não ser empregado para estas amostras. A figura 11 mostra o aspecto do xerogel de sílica com TEC, obtidos após a evaporação do etanol. Quando TEC foi adicionado ao xerogel, uma superfície com aspecto translúcido foi observada, bem como o aparecimento de trincas. Esta aparência pode ser explicada pelas condições de evaporação do etanol utilizado durante a síntese.

Figura 11. Fotografia do xerogel de sílica contendo TEC após a evaporação total do solvente.



A superfície do xerogel de sílica pode ser afetada pela composição, temperatura de processamento durante a síntese, formação e secagem. Para obtenção de xerogéis, o solvente é evaporado em condições de secagem ambiente, podendo apresentar alterações na superfície do material (NIU et al., 2019). Groult e seus colaboradores (2021),

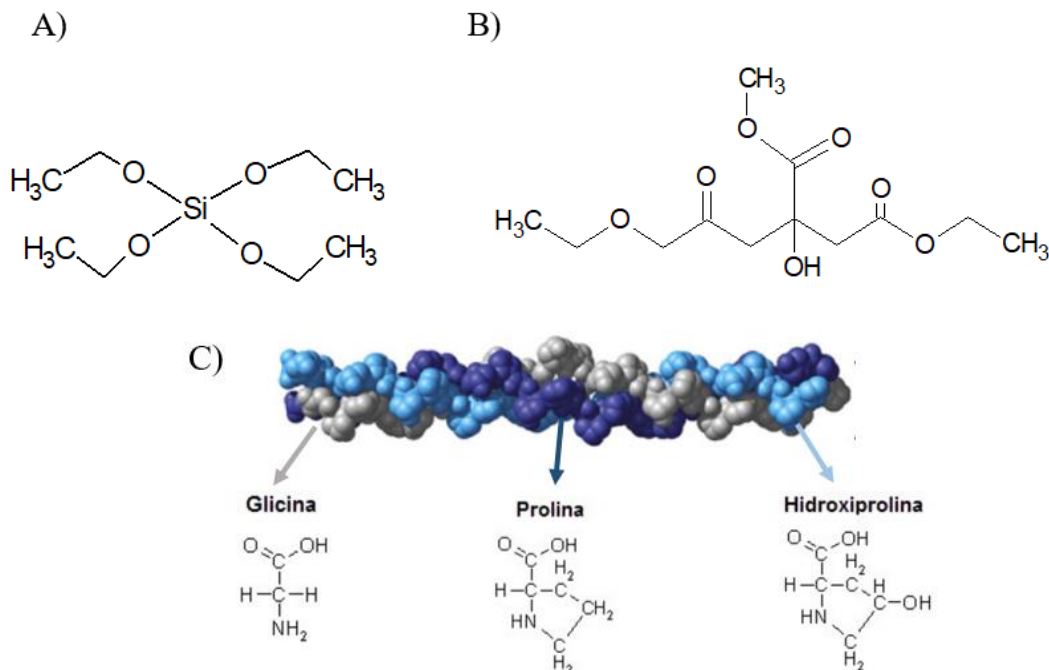
realizaram um estudo comparando as formas de secagem de subprodutos das reações do processo sol-gel com pectina, em que a evaporação de xerogéis induziu um encolhimento maciço e colapso da estrutura. Estas informações levam a compreender as rachaduras formadas no xerogel de sílica com TEC, que também podem estar relacionadas com às forças capilares e com a velocidade que as amostras foram secas. Além disso, a pesquisa de Ahola *et. al.* (2000) revelou que o modo de secagem de um xerogel de sílica, contendo PEG, não interferiu nas propriedades de degradação da matriz e sobre a taxa de liberação de citrato de toremifeno.

No entanto, quando o colágeno foi adicionado e o híbrido formado, não foi identificado a presença de rachaduras. Além disso, é perceptível que a rigidez e flexibilidade foram fatores alterados após a formação do híbrido de sílica contendo colágeno.

b. Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A figura 12 exibe as representações das estruturas química de TEOS, TEC e colágeno, respectivamente. Os grupos funcionais do colágeno, por sua vez, podem ser detectados por espectroscopia de FTIR, pois os grupos amida dos polipeptídios e proteínas exibem vários modos vibracionais característicos ao grupo.

Figura 12. Representação das estruturas de (A) TEOS, (B) TEC e (C) colágeno.



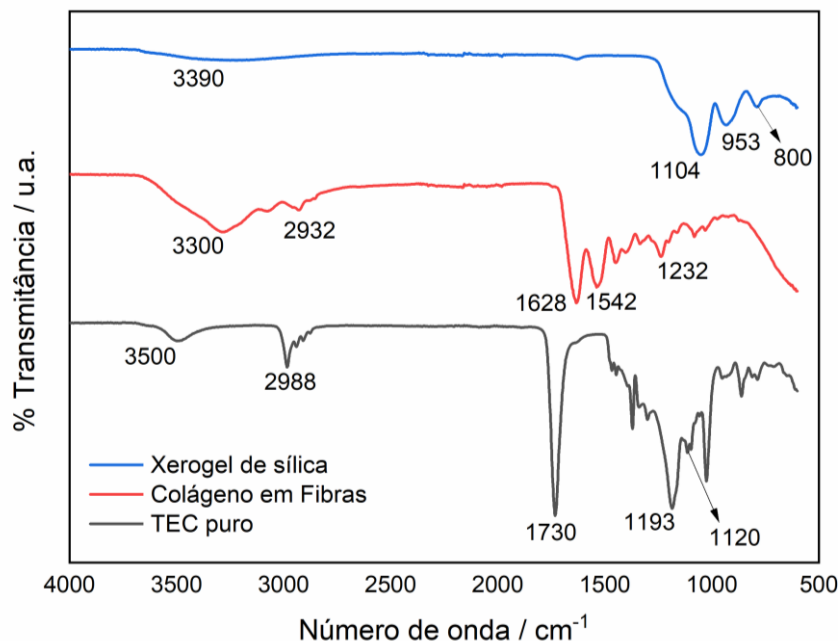
FONTE: Figuras A e B de autoria própria, enquanto a imagem C foi extraída de (NELSON; COX, p. 127, 2014) com adaptações.

A figura 13 exibe os espectros de FTIR do xerogel de sílica, colágeno em fibras e TEC puro. O espectro do xerogel de sílica exibiu duas bandas importantes na região de 800 cm^{-1} e 1104 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento simétrico da ligação do oxigênio do grupo Si-O-Si e ao estiramento assimétrico do oxigênio paralelo à linha Si-O-Si e Si-O-C, respectivamente (INNOCENZI, 2003; OWENS et al., 2016). A banda em 953 cm^{-1} pode estar atribuída aos estiramentos da ligação Si-OH, que surgem na região entre $935\text{--}980\text{ cm}^{-1}$, assim como pode ser identificado estiramentos dos grupos Si-O-C₂H₅, proveniente da hidrólise parcial de TEOS (BUCKLEY; GREENBLATT, 1994; COLTHUP; DALY; WIBERLEY, 1990; OLÍVIO; BUZATO; SOUZA, 2021). A banda em 3390 cm^{-1} é resultante do estiramento O-H de moléculas de água e interação da mesma com os grupos Si-OH (SOCRATES, 2001).

O espectro do colágeno em fibras evidencia as típicas bandas de amida I, na região intensa com máximo em 1628 cm^{-1} , correspondente a estrutura secundária do peptídeo e a ligação entre o trecho N-H e C=O. A amida II pode ser observada em 1542 cm^{-1} , que comumente surge na região entre $1545\text{-}1520\text{ cm}^{-1}$, oriunda às vibrações no plano da ligação N-H e ao estiramento C-N. A presença da amida III pode ser identificada em 1232 cm^{-1} , devido às vibrações de flexão N-H acopladas com vibração de alongamento C-N e C-H, sugerindo a estrutura helicoidal completa da amostra de colágeno (RIAZ et al., 2018). A região compreendida entre os valores de 3300 e 2932 cm^{-1} podem estar associadas com amida A (devido às vibrações das ligações de hidrogênio dos grupos O-H e N-H com o grupo carbonila da cadeia peptídica) e amida B (referente a vibração assimétrica de CH_2), respectivamente (TAMILMOZHI; VEERURAJ; ARUMUGAM, 2013). No geral, as amidas possuem bandas largas devido à presença de ligação de hidrogênio, sendo característica geral dos aminoácidos presentes na molécula de colágeno. Além disso, a presença de todas as amidas citadas anteriormente, sugere que o espectro faz referência a uma amostra do colágeno tipo I (SIONKOWSKA et al., 2015).

O plastificante TEC puro apresenta banda na região de 3500 cm^{-1} , referente ao estiramento O-H, bem como em 2988 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo metil, usualmente visualizados entre 2980 e 2700 cm^{-1} . O agrupamento éster da molécula de TEC pode ser evidenciado onde o máximo é 1730 cm^{-1} , pois a região entre $1730\text{-}1715\text{ cm}^{-1}$ corresponde à vibração de estiramento C=O e C-O (TEIXEIRA et al., 2021). Além disso, picos de menor intensidade referentes ao estiramento C-O podem ser observados em 1193 cm^{-1} e 1120 cm^{-1} (SOCRATES, 2001).

Figura 13. Espectros de FTIR referente ao xerogel de sílica, colágeno e do plastificante TEC puro.



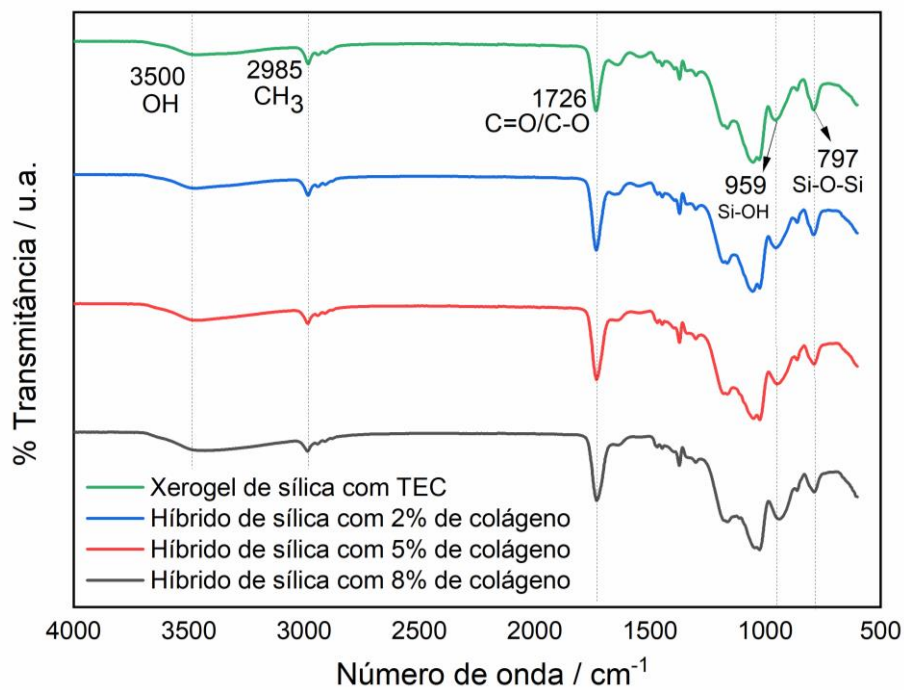
A figura 14 mostra os espectros referente ao xerogel de sílica após a adição de TEC e após a adição de 2%, 5% e 8% de colágeno levando a formação do híbrido. O espectro do xerogel de sílica com TEC exibiu algumas bandas características ao TEC, correspondentes ao estiramento O-H (em 3500 cm⁻¹), estiramento do grupo CH₃ (em 2985 cm⁻¹) e à vibração de estiramento C=O e C-O referente ao grupo éster de TEC (em 1726 cm⁻¹). As bandas específicas do xerogel de sílica puro também podem ser observadas e estão posicionadas na faixa de 959 cm⁻¹ e 797cm⁻¹, atribuídas aos estiramentos da ligação Si-OH e ao estiramento simétrico da ligação do oxigênio do grupo Si-O-Si, respectivamente. O surgimento destas bandas sugere que o TEC está incorporado na matriz híbrida de sílica, proveniente das reações do processo sol-gel.

No entanto, não foi observado deslocamento de banda, manifestando que nessas composições testadas não foi possível identificar interação molecular entre os componentes do xerogel de sílica e após a obtenção do híbrido de sílica com diferentes concentrações de colágeno.

Além disso, as bandas referentes às amidas A, B, I, II e III, grupamentos típicos do colágeno tipo I, não foram observadas com intensidade após a adição do mesmo e formação do híbrido, podendo estar sobrepostas. Lee e seus colaboradores (2012) obtiveram espectros do xerogel contendo colágeno, em que as regiões onde são

encontradas as amidas foram identificadas, todavia, nenhum subproduto foi formado devido ao aparecimento de bandas características ao xerogel de sílica e colágeno.

Figura 14. Espectros de FTIR que correspondem ao xerogel de sílica com TEC e do híbrido de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.



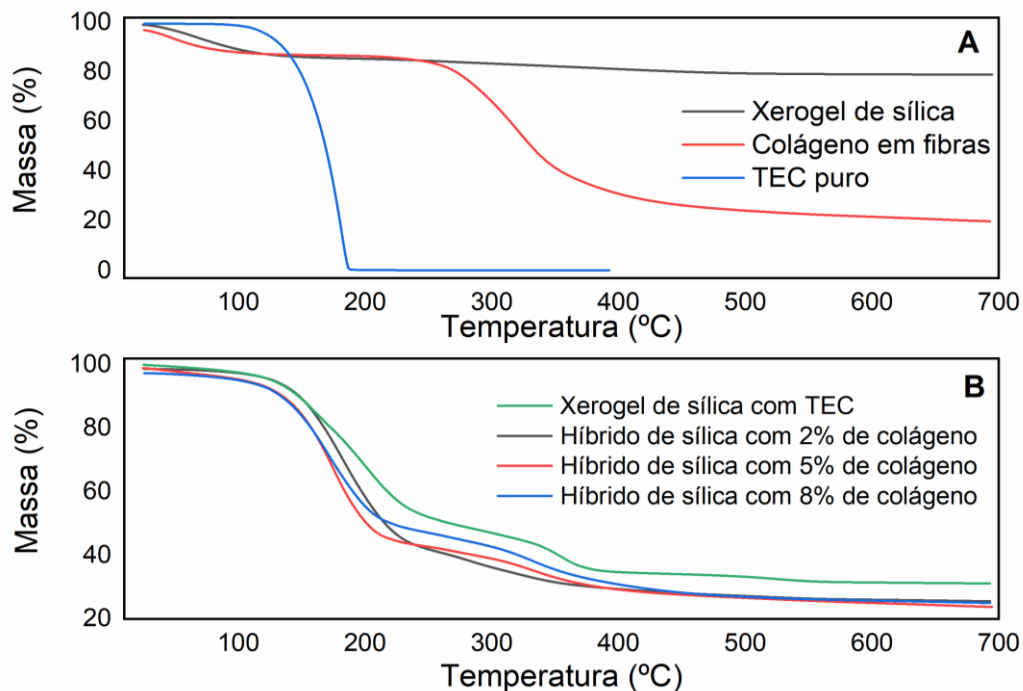
c. *Termogravimetria (TG) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

A TG foi empregada com o intuito de avaliar a estabilidade térmica das amostras, além de relacionar a perda de massa com a decomposição de cada componente e dos híbridos. A figura 15A exibe os termogramas referente às amostras de xerogel de sílica, colágeno e TEC puro, onde foi possível identificar a perda de 20,8% de massa do xerogel de sílica entre 40 e 120°C. Esta porcentagem de perda de massa está atribuída à remoção de água quimicamente adsorvida e ao solvente residual (ASARO et al., 2010). No entanto, após este estágio de perda de massa, um perfil constante foi observado até 700°C, por conta da estabilidade térmica da estrutura do xerogel de sílica. Este mesmo comportamento já foi identificado anteriormente por Kunst et. al. (2017), Ravarian *et.al* (2013) e Wei *et. al* (1992).

As curvas termogravimétricas do colágeno apresentam dois estágios de porcentagem de perda de massa, correspondentes à perda de água da estrutura entre as temperaturas de 25 e 80°C e a degradação térmica atribuída a perda de massa da proteína envolvendo a quebra de ligações amida na faixa de temperatura de 250 – 400°C. Por outro lado, o TEC puro apresenta volatilização iniciada por volta de 140°C (TEIXEIRA et al., 2021).

Na figura 15B são apresentados os termogramas ao xerogel de sílica com TEC e dos híbridos com 2%, 5% e 8% de colágeno, respectivamente. O termograma que representa o xerogel de sílica com TEC apresentou decomposição em 3 principais estágios, em que as temperaturas iniciais de degradação (*Tonsent*), temperatura final (*Tendset*) e o percentual de perda de massa de cada um dos eventos podem ser visualizados na tabela 1. O primeiro evento pode estar relacionado com a evaporação de água ou de qualquer resíduo de solvente, já o segundo evento pode ser correspondente a volatilização de TEC e a degradação dos demais constituintes do xerogel de sílica pode ser que esteja associado ao terceiro evento.

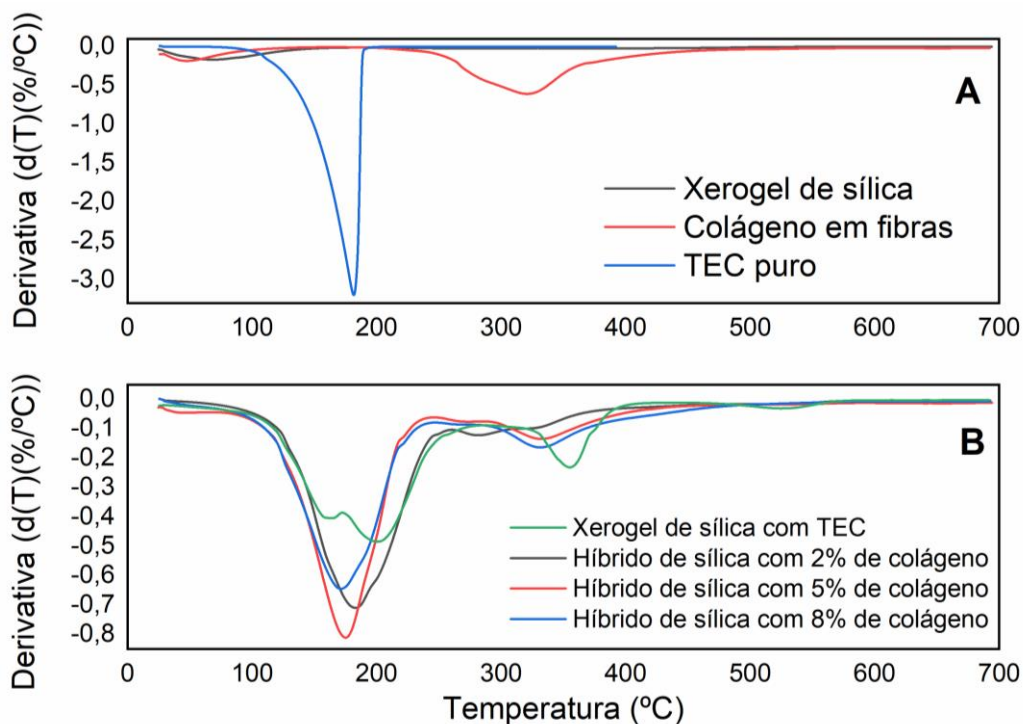
Figura 15. Termogramas referentes ao (A) xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e (B) xerogel de sílica com TEC, híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.



A figura 16 apresenta as derivadas das curvas termogravimétricas de (A) xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e (B) xerogel de sílica com TEC, juntamente com os híbridos contendo as variações de 2%, 5% e 8% de colágeno. As curvas derivadas corroboram com o fato de que a adição de TEC na matriz do xerogel faz com que o início da perda de massa ocorra em maiores temperaturas, quando comparado com o termograma referente ao xerogel de sílica puro. Além disso, é possível observar que, quando o colágeno foi incorporado à matriz, o comportamento das curvas se manteve similar ao xerogel de sílica com TEC.

Os híbridos de sílica contendo colágeno apresentaram, para cada um dos três eventos térmicos constatados, menor percentual de perda de massa com o aumento da quantidade de colágeno. Na tabela 1 fica evidente que o híbrido de sílica com 2% de colágeno possui maior perda de massa do que as amostras contendo 5% e 8% do mesmo. A intensidade dos picos das derivadas exibidos na figura 16B, podem ser avaliados ainda com relação a quantidade de colágeno presentes no material híbrido.

Figura 16. Curvas derivadas dos termogramas referentes ao (A) xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e (B) xerogel de sílica com TEC e após obtenção do híbrido de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.



A tabela 1 mostra os valores das temperaturas referentes aos eventos ocorridos para as amostras de xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e dos híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno. É destacado na tabela 1 as temperaturas iniciais de degradação (T_{onset}), temperatura final de degradação (T_{endset}), temperatura máxima de decomposição ($T_{m\acute{a}x}$) e a porcentagem de perda de massa, equivalentes a cada evento térmico observado nos termogramas e suas respectivas derivadas nas figuras 15 e 16.

Tabela 1. Dados dos eventos referente às amostras de xerogel de sílica, colágeno em fibras, TEC puro e dos híbridos de sílica com as variações de colágeno.

Amostra	Eventos	Tonset (°C)	Tendset (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa total (%)
Xerogel de sílica	1	49	113	69	21
Colágeno em Fibras	1°	39	79	46	12
	2°	270	372	320	79
TEC puro	1	143	186	182	100
Xerogel de sílica com TEC	1°	126	162	152	23
	2°	317	365	347	57
	3°	506	547	533	62
Híbrido de sílica com 2% de colágeno	1°	142	215	182	57
	2°	270	292	283	62
	3°	307	350	330	70
Híbrido de sílica com 5% de colágeno	1°	139	198	173	54
	2°	214	311	270	57
	3°	321	370	332	72
Híbrido de sílica com 8% de colágeno	1°	138	202	171	47
	2°	222	312	261	53
	3°	305	348	332	71

As propriedades térmicas de TEC, quando incorporado a polímeros, já foram exploradas na literatura anteriormente. A decomposição do poli (ácido láctico), por exemplo, ocorreu em temperaturas menores na presença deste plastificante, o que ocasionou na diminuição da estabilidade térmica do material (MAIZA et al., 2015). Katopodis e colaboradores (2020) identificaram que o TEC acarretou na formação de misturas altamente instáveis termicamente e, ao ser utilizado com poli(álcool vinílico) para uso em processos de formulação farmacêutica, a degradação do polímero ocorreu em temperatura inferior aos demais plastificantes da pesquisa. Esse mesmo comportamento foi observado quando TEC foi incorporado para modificação de filmes de celulose (HONGPHRUK; AHT-ONG, 2010).

Por outro lado, efeito do plastificante TEC nas propriedades térmicas de híbridos de sílica, ainda não foi explorado na literatura. No entanto, o poli(etileno glicol) (PEG) já

foi utilizado como plastificante em filmes obtidos via sol-gel, onde a degradação térmica ocorreu em maiores temperaturas com a adição de PEG, melhorando a estabilidade térmica desses híbridos (KUNST et al., 2017). Esta adição de PEG em materiais híbridos de sílica não exibiu curvas de TG que se assemelham ao de xerogel de sílica com TEC, porém, ambos plastificantes contribuíram para que a decomposição se iniciasse em maiores temperaturas.

Além disso, foi possível identificar que a estabilidade térmica observada no xerogel com TEC e nos híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno, podem ser provenientes da estabilidade térmica do xerogel de sílica puro. A inserção de TEC na matriz híbrida contribuiu para que a decomposição dos constituintes dos híbridos de sílica contendo colágeno se iniciasse em maiores temperaturas, quando comparado a curva do xerogel de sílica puro.

A adição de colágeno em fibras também influenciou na estabilidade térmica dos híbridos, onde o aumento da quantidade de colágeno resultou em menor percentual de perda de massa. Na literatura, Dai e seu grupo (2019) verificaram maior termoestabilidade em compósito a base de celulose bacteriana, no momento em que colágeno em fibras foi incorporado. Quando Li e colaboradores (1994) adicionaram colágeno em um material híbrido contendo polipirrol, o perfil da curva termogravimétrica sugeriu que houve a incorporação do colágeno ao material híbrido e a variação da concentração de influenciou nas propriedades térmicas desse material. A revisão deste trabalho propõe que foi possível a incorporação de colágeno nos híbridos de sílica e que a quantidade de colágeno interfere na estabilidade dos mesmos.

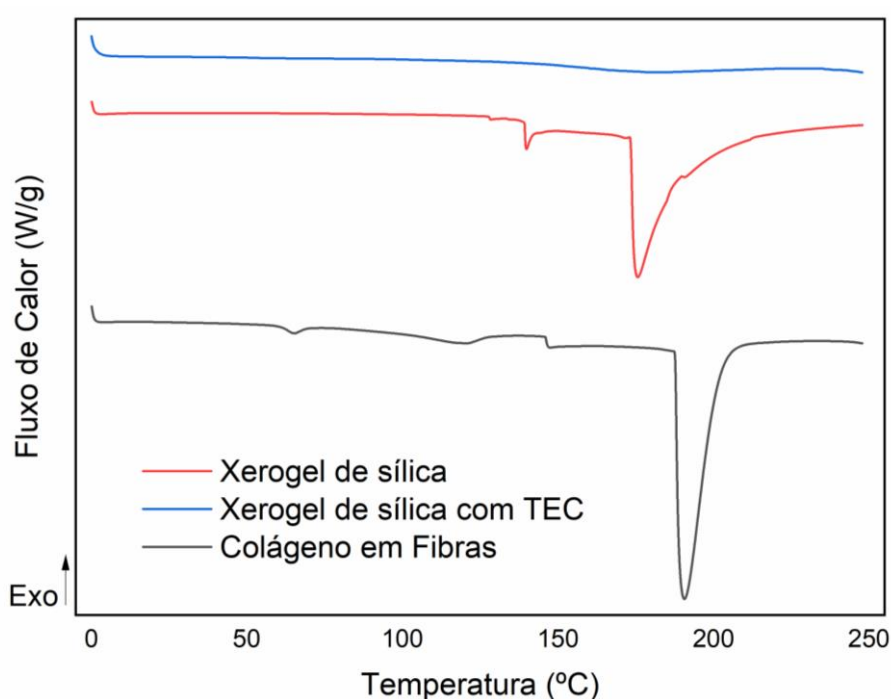
A figura 17 mostra as curvas de DSC para as amostras de xerogel de sílica puro, xerogel de sílica com TEC e colágeno em fibras. O DSC do xerogel de sílica puro exhibe dois picos endotérmicos na região de 140°C ($5,47 \text{ J g}^{-1}$) e 175°C ($157,23 \text{ J g}^{-1}$), em que o primeiro está relacionado com a remoção de água ligada a superfície e o segundo pode ser correspondente a desidroxilação dos grupos silanois e remoção de desidrólise (ASARO et al., 2010).

A curva que representa adição de TEC ao xerogel exhibe o desaparecimento dos eventos térmicos que estavam bem definidos para o xerogel de sílica puro. Geralmente, quando TEC é incorporado em materiais poliméricos, alterações em parâmetros como a

temperatura de transição vítrea, de cristalização e de fusão, são observados (MAIZA et al., 2015).

A curva correspondente ao colágeno em fibras evidencia um pico endotérmico em 65°C que pode estar relacionado com a quebra de ligações químicas e ao processo de desnaturação. A transição próxima de 125°C está associada à perda de água ligada à proteína, enquanto a região entre 150-200°C corresponde a decomposição do colágeno (LIZARAZO-FONSECA et al., 2019).

Figura 17. Curvas de DSC referente as amostras de xerogel de sílica, xerogel de sílica com TEC e colágeno em fibras.

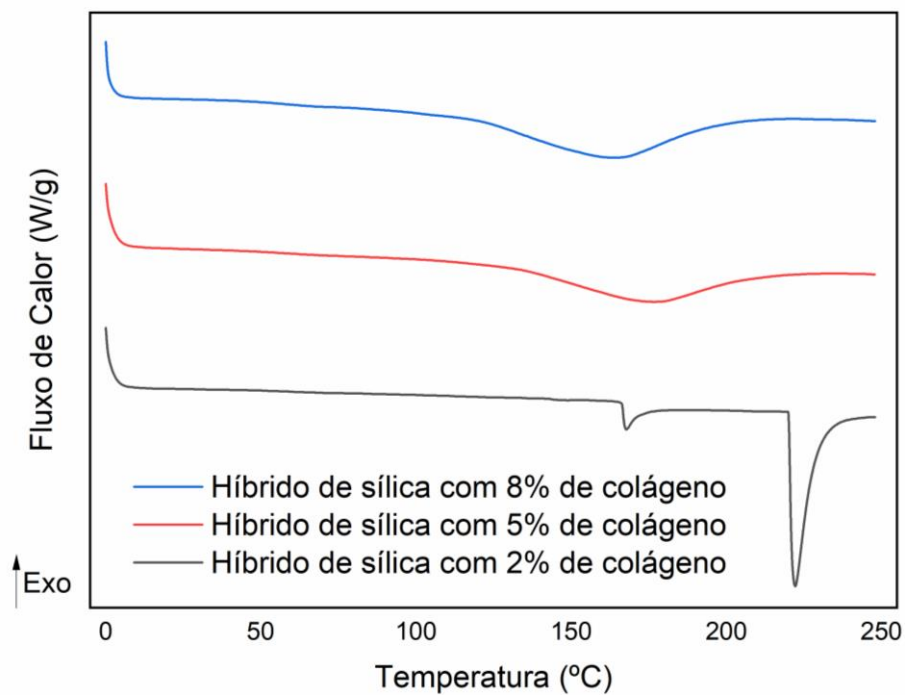


A figura 18 mostra as curvas de DSC para os híbridos com 2%, 5% e 8% de colágeno. O híbrido de sílica com 2% de colágeno apresentou dois picos endotérmicos na região de 170°C e em 220°C, que se assemelham com os picos endotérmicos observados na curva correspondente ao xerogel de sílica puro. Esta semelhança pode estar relacionada com a falta de homogeneidade desses híbridos e a quantidade insuficiente de colágeno na amostra analisada.

O híbrido de sílica contendo 5% de colágeno apresentou um pico endotérmico iniciado em 136°C até 205°C, que podem estar associados com a perda de água do colágeno. Enquanto o híbrido com 8% de colágeno manifestou o mesmo perfil de curva,

porém, os picos endotérmicos apareceram em temperaturas menores, iniciado por volta de 115°C até 205°C.

Figura 18. Curvas de DSC referente aos híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.



d. Ensaio mecânico de compressão

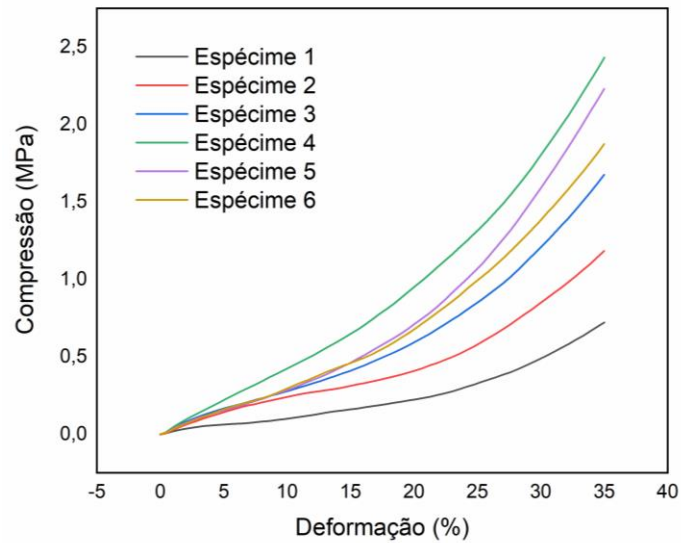
As propriedades mecânicas dos materiais híbridos orgânicos-inorgânicos são governadas pela morfologia desenvolvida durante o método de síntese, independente da natureza dos seus constituintes (MAMMERI et al., 2005). Apesar disso, o teor de cada componente pode interferir na elasticidade do material híbrido, por isso, os híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno foram submetidos a ensaios de compressão mecânica para verificar este comportamento.

Conforme mostrado no item 5a, a incorporação do colágeno ao xerogel de sílica com TEC acarretou na formação de híbridos assimétricos e de superfícies irregulares. Apesar disso, após os espécimes receberem a carga, as fibras ainda se mantiveram unidas e houve pouca fragmentação dos híbridos de sílica contendo colágeno, uma característica satisfatória que difere o comportamento mecânico do colágeno em fibras, também observado anteriormente por González Hernández (2011). O perfil das curvas de compressão-deformação é o mesmo para todas os espécimes, assim como para os híbridos de sílica contendo as variações de 2%, 5% e 8% de colágeno, que estão exibidos nas figuras 19, 20 e 21, respectivamente.

A figura 19 revela o comportamento dos espécimes referente ao híbrido de sílica contendo 2% de colágeno. O espécime 4 foi o que apresentou deformação de 35% em resistência de compressão máxima equivalente a 2,4 MPa. Enquanto o espécime 1 apresentou menor valor de deformação, cerca de 0,6 MPa. A discrepância entre os valores de compressão pode ser consequência da irregularidade dos híbridos, como já mencionado anteriormente. Por conta disso, a média dos valores de compressão e deformação dos espécimes para todos os híbridos de sílica com as variações de colágeno foi calculada e está exibida na figura 22, onde o híbrido com 2% de colágeno exibiu compressão média de 1,7 MPa ($\pm 0,6$).

Lemos e sua equipe (2016) concluíram que o excesso do componente inorgânico diminuiu a resistência e a capacidade de resistir a deformação, quando quitosana foi adicionada em arcabouços de biovidro sintetizados via sol-gel. Esta informação pode sugerir que o comportamento mecânico dos espécimes do híbrido de sílica contendo 2% de colágeno é dependente do excesso de xerogel de sílica e da falta de homogeneidade.

Figura 19. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos espécimes do híbrido contendo 2% de colágeno.



As figuras 20 e 21 exibem as curvas referente aos híbridos de 5% e 8% de colágeno, na devida ordem. O espécime 4 do híbrido de sílica contendo 5% de colágeno exibiu deformação de 30% em resistência de compressão equivalente a 2,5MPa. Enquanto o espécime 6 do híbrido de sílica com 8% de colágeno apresentou deformação de 25% com compressão de 2,8MPa. As variações nas curvas de compressão versus deformação também podem ser justificadas devido à falta de homogeneidade dos híbridos compostos de 5% e 8% de colágeno.

Figura 20. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos espécimes do híbrido contendo 5% de colágeno.

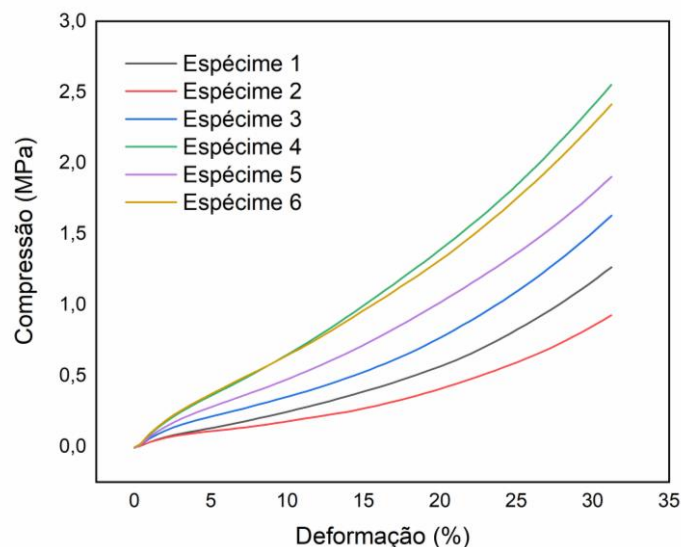
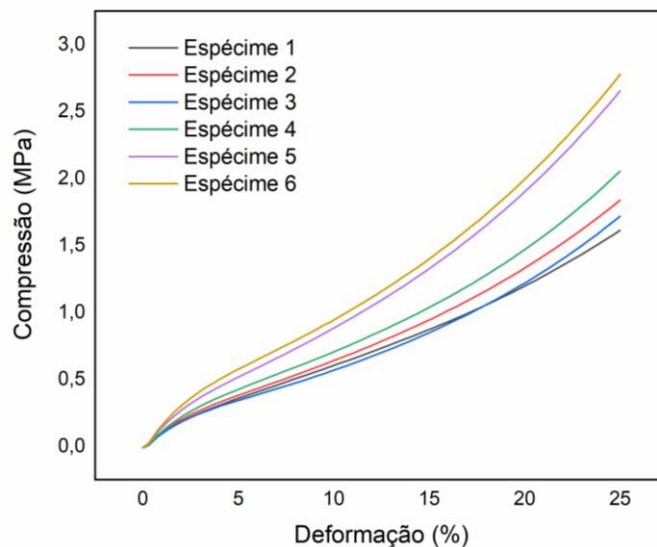


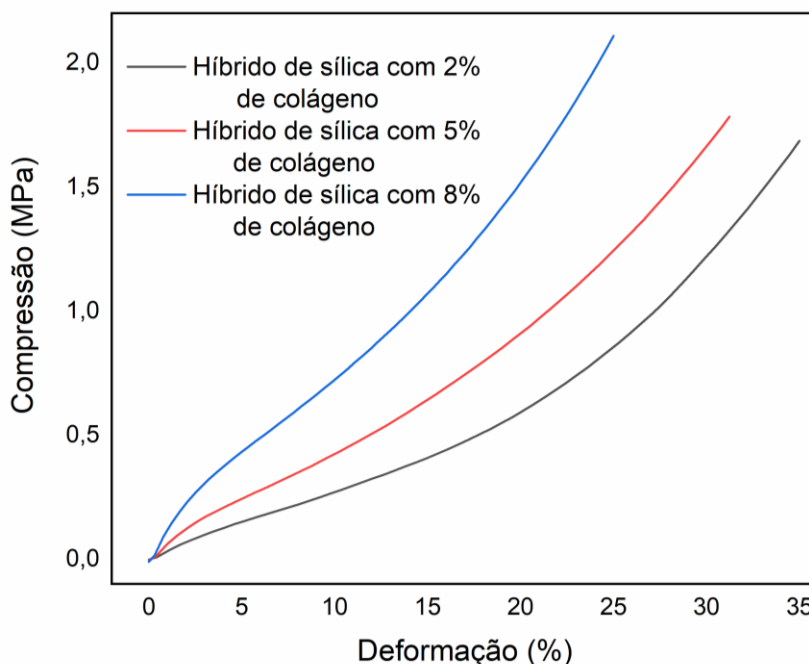
Figura 21. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) dos espécimes do híbrido contendo 8% de colágeno.



As curvas correspondentes aos valores médios dos espécimes dos híbridos de 5 e 8% de colágeno estão exibidas na figura 22, facilitando a comparação entre eles. A resistência de compressão média foi de 1,8 MPa ($\pm 0,5$) e 2,1 MPa ($\pm 0,4$) para 5% e 8% de colágeno, respectivamente.

Os híbridos de sílica contendo 5% e 8% de colágeno apresentaram menor porcentagem de deformação em resistência de compressão maiores do que para os híbridos de sílica contendo 2% de colágeno. Este fato propõe que em maiores concentrações de colágeno, o híbrido de sílica se torna mais resistente à compressão. Nesta mesma direção, Oliveira e colaboradores (2007) averiguaram que o aumento da fração do polímero em biovidros híbridos, reflete em uma resistência maior à compressão e deformação na tensão máxima. Outros testes de compressão mostraram que o aumento da quantidade de álcool polivinílico em espumas híbridas melhorou as propriedades mecânicas do material (OLIVEIRA et al., 2009). Compósitos de poli (D, L) láctido e biovidro também apresentaram maiores valores para módulo de flexão e resistência, quando a concentração do polímero era 10% em peso do biovidro (PEREIRA et al., 2014).

Figura 22. Curvas de Compressão (MPa) x Deformação (%) referentes a média dos espécimes dos híbridos contendo 2%, 5% e 8% de colágeno.

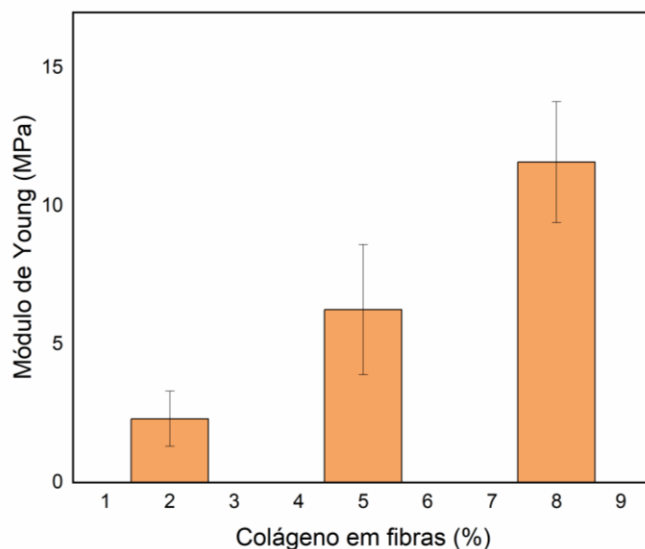


As propriedades mecânicas dos híbridos de sílica contendo colágeno também devem ser adequadas para a regeneração óssea, pois este processo pode ser afetado pela força mecânica e pela distribuição de tensões. Por isso, o módulo de Young (ou módulo de elasticidade), que é proporcional à rigidez do material quando está submetido a compressão, pode permitir a avaliação do material de acordo com os requisitos para uma aplicação específica (LUO et al., 2019).

O módulo de Young é geralmente expresso em GPa (Giga Pascal). Em geral, um módulo de Young próximo ao do tecido ósseo natural (cerca de 15 a 20 GPa) é considerado ideal para a regeneração óssea. O módulo de Young do osso depende fortemente da estrutura espacial, por exemplo, quando uma amostra de osso trabecular (o qual é formado por um tecido esponjoso) tem um espaço anisotrópico, o módulo de Young dessa estrutura também possui um espaço anisotrópico (GERAETS et al., 2008).

A figura 23 expõe os valores médios e o desvio padrão para o módulo de Young em função da porcentagem de colágeno em presente no híbrido de sílica. Os módulos de Young dos híbridos de sílica com 2%, 5% e 8% variam entre 2,3 MPa e 11,6 MPa, com isso, é possível identificar que o aumento da concentração de colágeno, resulta no aumento do módulo de Young. Este fato leva a confirmar que o colágeno pode influenciar na maleabilidade dos híbridos de sílica.

Figura 23. Média e desvio padrão correspondente ao módulo de Young (MPa) em função da quantidade de colágeno dos híbridos de sílica.



Os módulos de Young determinado por tensão versus compressão do osso trabecular já foram revisados anteriormente por Wu e colaboradores (2018). Valores do módulo de Young referentes a materiais utilizados na tíbia proximal, fêmur distal e cabeça femoral, variaram entre 750-1680MPa. O módulo de Young próximo de 12MPa, como é o caso dos híbridos de sílica contendo colágeno, é considerado relativamente baixo para aplicações de regeneração óssea. Em especial, para tecidos ósseos com elevadas demandas mecânicas, como as extremidades longas dos ossos (por exemplo, fêmur e tíbia) e a coluna vertebral. Esses tecidos requerem materiais com propriedades mecânicas mais elevadas para suportar as cargas mecânicas a que estão submetidos.

No entanto, os híbridos de sílica contendo colágeno aqui obtidos podem ser adequados para aplicações em tecidos ósseos que são submetidos a esforços menores, como ossos faciais ou de costelas, ou para situações em que a regeneração óssea é complementada por outros tratamentos, como imobilização ou terapia farmacológica (ABERE et al., 2022). A escolha do material adequado para a regeneração óssea depende de múltiplos fatores, incluindo a localização da lesão, a gravidade da lesão, a idade e o estado geral de saúde do paciente, entre outros (WANG et al., 2022). Por isso, os híbridos de sílica contendo colágeno podem ser indicados para defeitos ósseos, preenchimento de lesões ou em locais onde houve perda de massa óssea, como casos de periodontite (XUE et al., 2022).

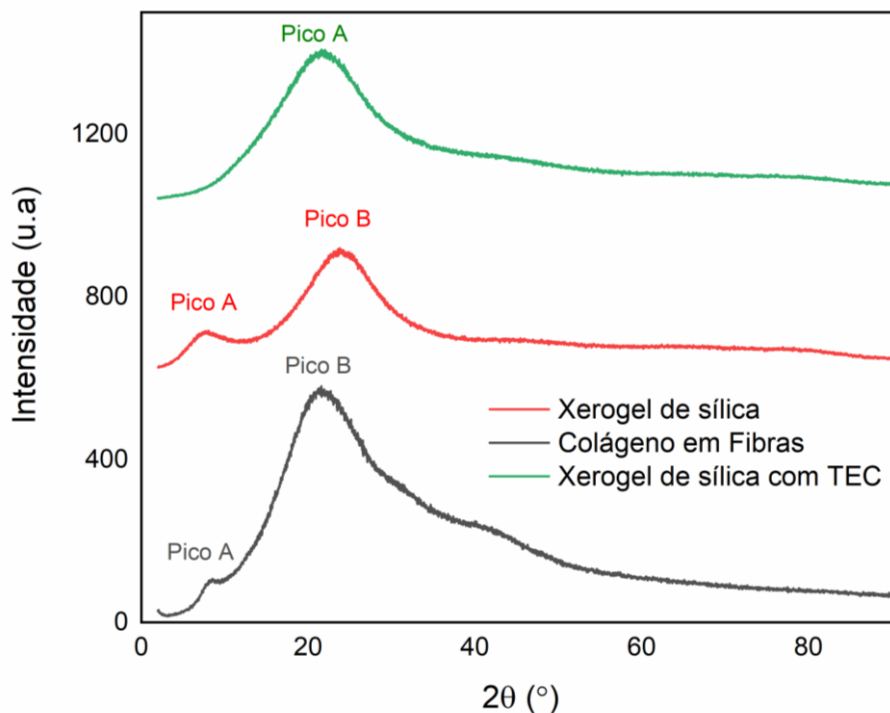
e. Difração de raios X

A figura 24 exibe o difratograma de raios X para as amostras de xerogel de sílica, colágeno em fibras e xerogel de sílica com TEC. O xerogel de sílica apresentou comportamento de pico semelhante a sílica amorfa centrado nos ângulos de difração (2θ) $7,38^\circ$ (pico A) e $23,56^\circ$ (pico B). Na sílica amorfa, unidades de sílica tetraédricas individuais são unidas aleatoriamente, em que há um curto intervalo de periodicidade para a unidade básica SiO_4^{4-} . Ainda assim, não há periodicidade em seu arranjo que não seja dentro desta unidade básica tetraédrica (AKTI; BALCI, 2023). Radin et. al, afirmam que a presença de uma banda larga entre 15° a 30° é indicação que o xerogel é um material monofásico amorfo (RADIN et al., 2002).

O colágeno exibiu dois picos característicos (pico A e pico B) em ângulos de difração (2θ) $7,76^\circ$ e $21,92^\circ$, agudo e outro largo arredondado, que correspondem aos picos de difração de colágeno que contem proteínas com estrutura ordenadas ou fragmentos de estrutura ordenada, respectivamente (GAO et al., 2023). Liu e colaboradores (2023), afirmam que os ângulos de difração encontrados, estão relacionados com a distância entre as cadeias moleculares do colágeno que estão atribuídas a conformação da tripla hélice.

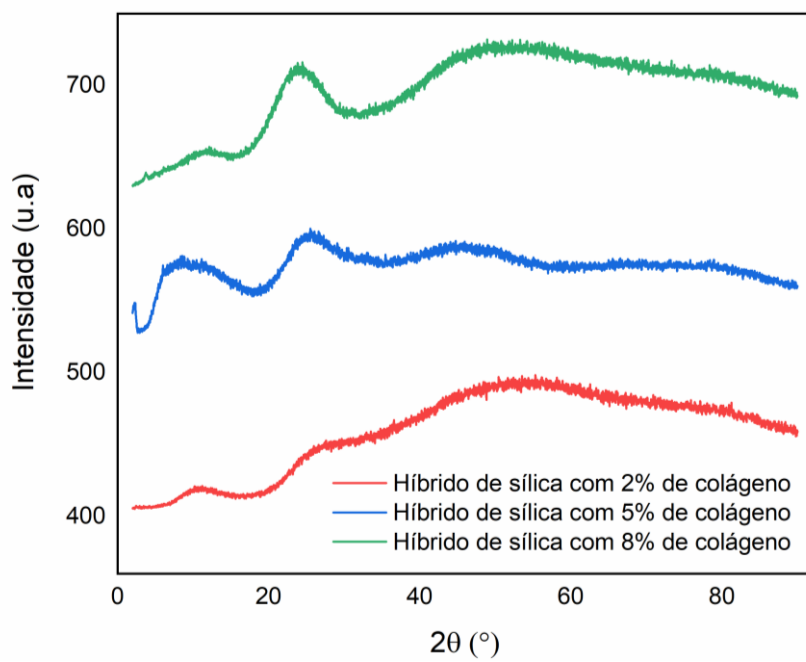
O difratograma do xerogel de sílica com TEC indica apenas a presença de um largo pico (pico A), em ângulo de difração (2θ) $21,22^\circ$, sugerindo que amostra continua amorfa mesmo após a adição do plastificante. Por outro lado, a adição de TEC em biocompósitos de poli(ácido lático) e celulose microcristalina, induziu a cristalização após introdução de 15% de TEC, melhorando a cristalinidade e outras propriedades (como a ductibilidade) do material (PAUL et al., 2021). Uma aceleração na cristalização do poli(ácido lático) também pode ser identificada com a inserção de TEC, que pôde justificar informações como a diminuição da temperatura de transição vítrea (MAIZA et al., 2015). O TEC também contribuiu na melhoria do inchamento de argilas orgânicas, devido a intercalação do mesmo com a argila, resultando na ligação de hidrogênio entre grupos hidroxila (DE LIMA et al., 2012).

Figura 24. Difratoograma de raios X referente ao xerogel de sílica, colágeno e xerogel de sílica com TEC.



A figura 25 exibe os difratogramas de raios X para os híbridos de sílica contendo 2%, 5% e 8% de colágeno, em que indica a permanência do aspecto amorfo também para estas amostras. Halos afastados e alongados, com baixa intensidade, localizados entre 15° - 40° (2θ) podem ser observados com mais clareza para as amostras com maior percentual de colágeno. Porém, a presença destes halos não indica organização na estrutura atômica do material híbrido de sílica contendo colágeno. De acordo com Akti e colaboradores (2023), a determinação da fase cristalina, após incorporação de componentes na estrutura do xerogel, pode ser difícil uma vez que SiO₂ é amorfa por natureza. Esta mesma explicação foi adequada para nanopartículas de óxido de ferro que foram incorporadas em xerogéis, onde o mesmo comportamento foi mencionado (PAI et al., 2021). Por outro lado, a resistência da fase amorfa em biovidros, mostra-se mais vantajosa, uma vez que a fabricação destes materiais sem a presença de fases cristalinas possui alta bioatividade in vitro (BELLUCCI et al., 2020).

Figura 25. Difratoformas de DRX referentes as amostras de xerogel de sílica com TEC e após a formação do híbrido de sílica contendo 2%; 5% e 8% de colágeno.

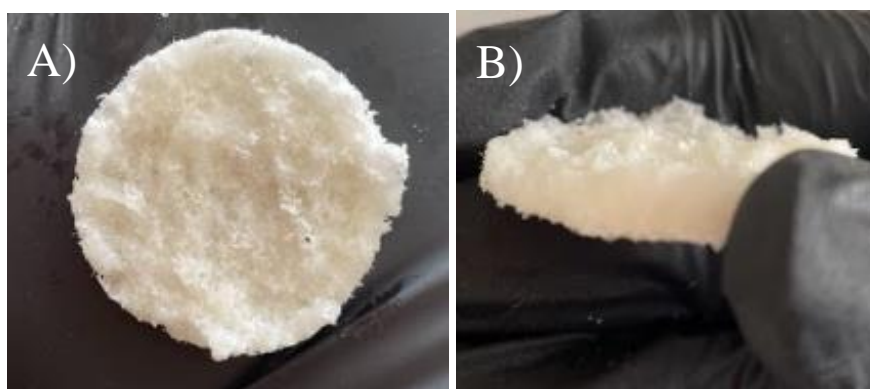


f. Incorporação de sinvastatina e ensaio de liberação controlada

i. Caracterização do híbrido de sílica contendo colágeno e SIN por FTIR, TG, DSC e DRX

A incorporação da SIN ocorreu no material híbrido de sílica com 8% de colágeno, pois foi a formulação que apresentou melhores propriedades térmicas e mecânicas. A incorporação deste fármaco ocorreu nas proporções de 0,1%; 1,0% e 2,0% em relação a massa de colágeno presente no híbrido de sílica. As fotografias da imagem 26 são referentes ao híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, o qual foi escolhido para incorporação do fármaco.

Figura 26. Fotografias referentes à (A) superfície e (B) espessura lateral do material híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, o qual foi escolhido para realizar a incorporação de SIN.

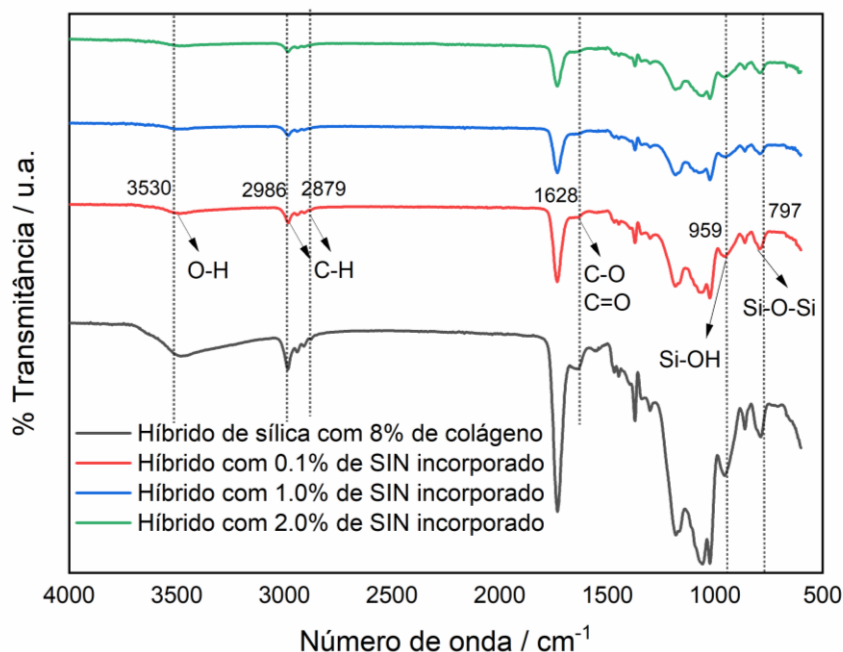


As amostras do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e as variações das concentrações de SIN foram submetidas às análises de caracterização. Realizar a caracterização do material híbrido após incorporar SIN é importante porque permite avaliar se o fármaco afetou as propriedades do material e também permite identificar as interações químicas entre o fármaco e o material. Dessa forma, é possível extrair informações para o desenvolvimento e otimização de materiais híbridos em aplicações farmacêuticas, como a liberação controlada de medicamentos.

Os espectros de FTIR referente ao híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e SIN, que estão exibidos na figura 27, mostram a presença das mesmas bandas identificadas anteriormente para o material sem o fármaco. A SIN possui bandas características por volta de 3530 cm^{-1} (oriundas da vibração de alongamento O-H), em 2986 cm^{-1} e 2879 cm^{-1} (que são correspondentes a vibração de alongamento C-H) e em 1628 cm^{-1} (devido a vibração de alongamento de grupos carbonila C-O e C=O) (ABDEL

HAKIEM; MOHAMED; ALI, 2021). Estas bandas também são características ao TEC, que foram elucidadas no espectro da figura 14 do item 5c. As bandas específicas do xerogel de sílica puro também podem ser observadas e estão posicionadas na faixa de 959 cm^{-1} e 797 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos da ligação Si-OH e ao estiramento simétrico da ligação do oxigênio do grupo Si-O-Si, respectivamente.

Figura 27. FTIR dos híbridos de sílica com 8% de colágeno e as variações de SIN.

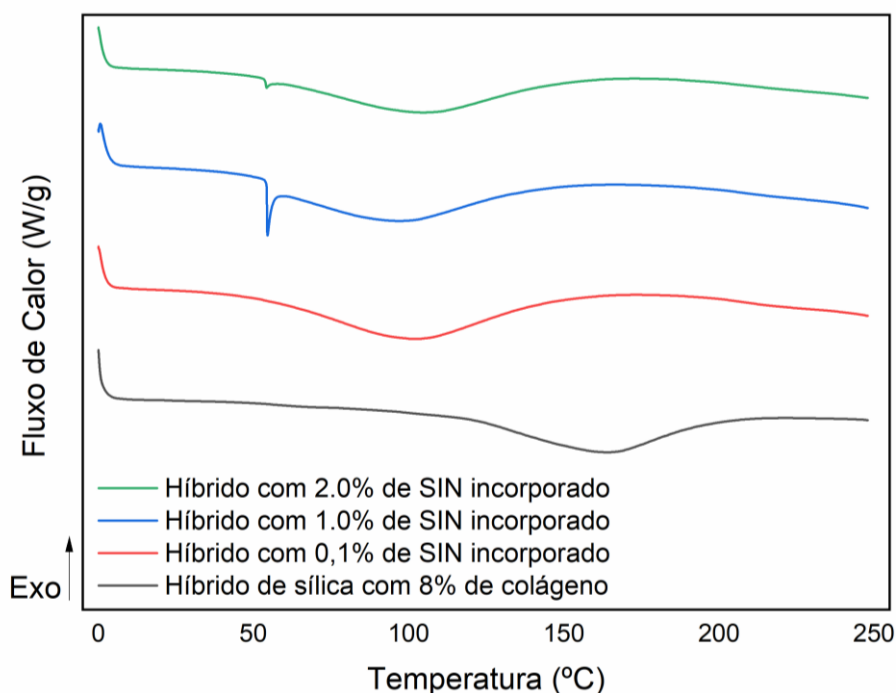


Nos espectros de FTIR para os híbridos de sílica contendo 8% de colágeno e as variações de SIN, as bandas referentes ao TEC e a SIN podem estar sobrepostas. No entanto, não foi observado deslocamento de banda, manifestando que não houve interação molecular entre o material híbrido e o fármaco.

A figura 28 apresenta as curvas de DSC para as amostras dos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno e 0,1%, 1,0% e 2,0% de SIN incorporado. O perfil de curva para o fármaco puro apresenta o valor de temperatura de 138°C , que pode estar atribuído a fusão de SIN (JIANG et al., 2012). Após a adição do fármaco ao material, picos endotérmicos apareceram em temperaturas menores, iniciados por volta de 52°C até 148°C , 51°C até 135°C e 50°C até 139°C , para o híbrido contendo colágeno com 0,1%, 1,0% e 2,0% de SIN, respectivamente. A SIN apresentou este mesmo comportamento para um estudo de dissolução por formulação de dispersão sólida ternária, em que o pico endotérmico encontrado está relacionado com a solubilidade deste fármaco em transportadores fundidos a baixas temperaturas (MAHBOOBIAN et al., 2022). Além

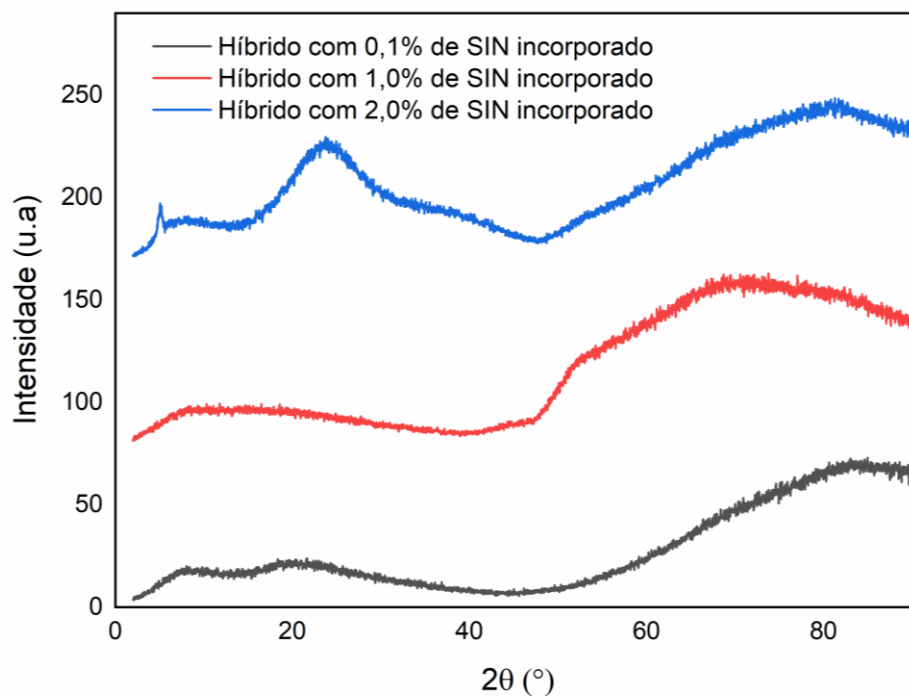
disso, perfis característicos de curvas de DSC reportados anteriormente e a diminuição na temperatura de fusão do material com a presença do fármaco, permitem afirmar que esta técnica foi capaz de identificar a presença de SIN nas amostras (GÓRNIAK et al., 2022; RAO et al., 2010; WU et al., 2014; ZULCAIF et al., 2022).

Figura 28. Curvas de DSC referente ao híbrido de sílica com 8% de colágeno e as variações de SIN incorporado.



A figura 29 exibe o difratograma de raios X para a amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e as variações das concentrações de SIN. A partir do difratograma é possível identificar que não houve alteração na cristalinidade dos híbridos de sílica contendo colágeno e SIN. Contudo, para o híbrido de sílica contendo colágeno e 2,0% de SIN, um pico de baixa intensidade pode ser notado próximo do ângulo de difração $5,02^\circ$, valor também mencionado por Pandya et al. (2008). Este fármaco geralmente apresenta picos de difração proeminentes dentro do intervalo de ângulos de difração (2θ) 10° - 70° , que indicam a natureza cristalina da SIN (KNAPIK-KOWALCZUK et al., 2019). Portanto, apesar da incidência deste pico aparente para o híbrido de sílica contendo o maior percentual de SIN, não foi possível afirmar que a SIN alterou o padrão amorfo das amostras.

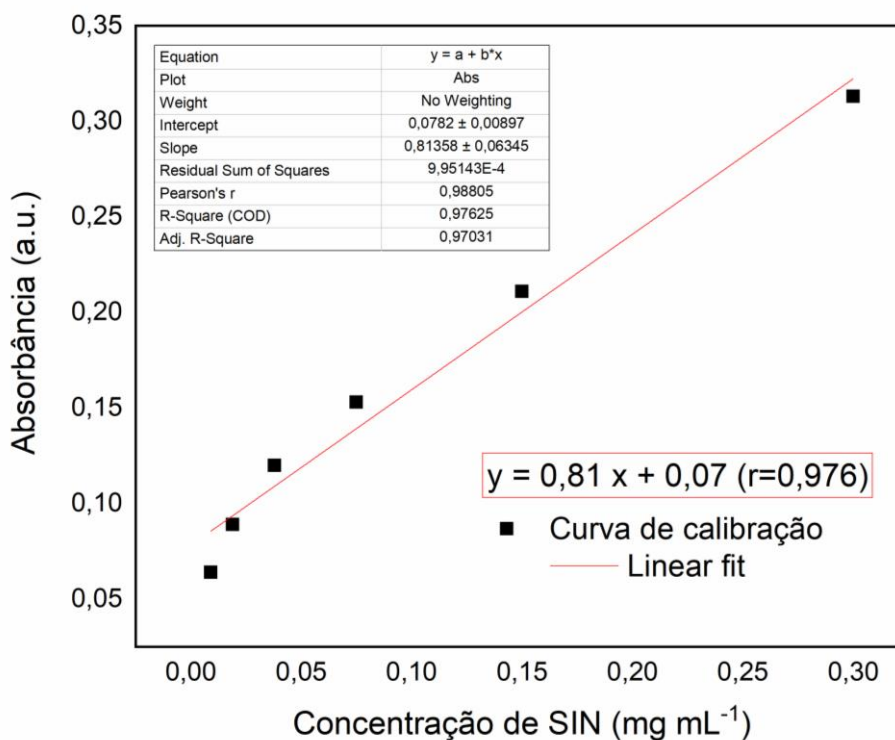
Figura 29. Difratoograma de raios X referente a amostra do híbrido de sílica com 8% de colágeno e as variações das concentrações de SIN incorporado.



ii. *Perfil de liberação de SIN nos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno*

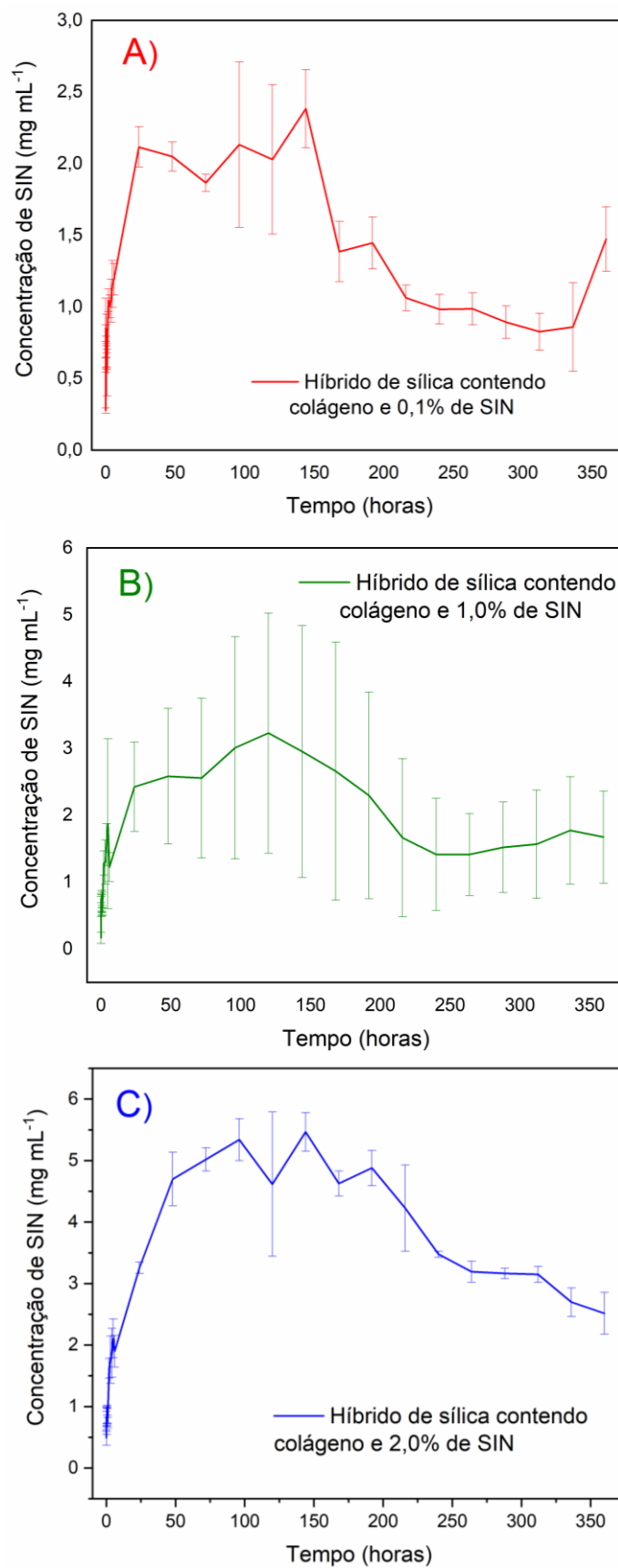
Como já mencionado anteriormente, as alíquotas coletadas durante o ensaio de liberação foram analisadas por espectroscopia de UV-visível. Para determinar a concentração de cada alíquota coletada, foi determinada uma curva de calibração. A curva de calibração é uma ferramenta que permite estabelecer um padrão entre a concentração do fármaco e a absorbância, bem como também permite verificar se o sistema possui taxa de liberação constante e previsível. A curva de calibração da absorbância versus concentração de SIN está exibida na figura 30. Neste experimento, foram preparadas algumas soluções com diferentes concentrações de SIN ($0,32 \text{ mg mL}^{-1}$ - $9 \mu\text{g mL}^{-1}$), em que as absorbâncias de cada uma dessas soluções foram medidas no comprimento de onda de 238nm.

Figura 30. Curva de calibração da absorbância versus concentração de SIN.



Após a obtenção da curva de calibração, foi possível fazer a determinação da concentração das alíquotas coletadas no ensaio de liberação dos híbridos de sílica contendo colágeno e proporções de 0,1%; 1,0% e 2,0% de SIN. A média da concentração do fármaco de valores obtidos em triplicata, em função do tempo em horas de experimento, estão apresentados na figura 31.

Figura 31. Perfil de liberação de SIN do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e (A) 0,1%, (B) 1,0% e (C) 2,0% de SIN.



O perfil de liberação de SIN nos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno se apresenta discrepante para cada percentual do fármaco incorporado. Também é possível observar que a concentração máxima de SIN ($0,32 \text{ mg mL}^{-1}$) já é liberada por completo logo nos minutos iniciais ao experimento, para todas as concentrações incorporadas nos híbridos. Isso mostra que a SIN foi dispersa no híbrido de sílica contendo colágeno, porém não foi possível identificar os mecanismos de controle para a sua liberação, justamente por conta da rápida velocidade que a SIN foi liberada.

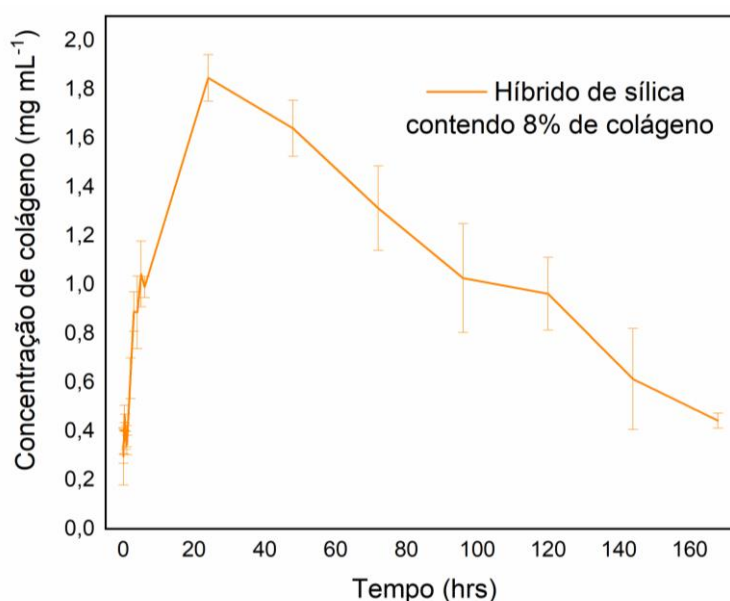
Além disso, os gráficos da figura 31, apontam que concentrações de fármaco liberado estão ultrapassando o valor da quantidade máxima de SIN presente nas amostras. Por exemplo, a concentração máxima liberada é de $2,38 \text{ mg mL}^{-1}$ (após 144 horas), $3,23 \text{ mg mL}^{-1}$ (após 120 horas) e $5,46 \text{ mg mL}^{-1}$ (após 144 horas), para os híbridos de sílica contendo 0,1%, 1,0% e 2,0% de SIN, respectivamente. A literatura salienta que uma explosão inicial no perfil de liberação de SIN é comum para as primeiras horas iniciais ao experimento (NOROUZ DOLATABADI et al., 2023). No entanto, a tendência dos gráficos de liberação controlada em função do tempo, após o material diminuir gradualmente a liberação ou parar de liberar o fármaco, é que a quantidade de SIN liberada permaneça constante e o gráfico se mantenha horizontal. Tao e colaboradores (2020), identificaram a dose de 65,2% de liberação cumulativa nas primeiras 2 horas e 100% após 32 horas de experimento, evidenciando este alinhamento do gráfico. Yu et. al. (2017) visualizaram um equilíbrio na liberação após 60 horas, enquanto Yang e sua equipe (2012) produziram um composto revestido de polidopamina que foi capaz de liberar o fármaco continuamente ao longo de 28 dias.

Dado que as concentrações reconhecidas pelo espectrofotômetro de UV-visível estão extrapoladas, bem como o perfil de liberação de SIN está incompatível com os dados da literatura, pode-se argumentar que há a possibilidade de outro componente do material estar absorvendo no mesmo comprimento de onda da SIN. Em outras palavras, quando a radiação UV-vis incide na amostra do híbrido de sílica contendo colágeno e SIN, as moléculas presentes neste material absorvem a energia da luz, passam para o estado excitado e a quantidade de luz absorvida é medida pelo equipamento que calcula a concentração através do comprimento de onda da leitura. Para a realização deste experimento, a leitura ocorreu no comprimento de onda de 238nm, em que é observado a absorção de SIN no espectro de UV-vis.

Cao e colaboradores (CAO et al., 2022), realizaram um estudo comparativo de colágeno extraído de pele de lula, onde os espectros apresentaram picos de absorção entre 226-228 nm. Já em pesquisas anteriores, valores de absorção entre 230 nm, que é característico a estrutura de tripla hélice do colágeno, foram identificados (PAL; NIDHEESH; SURESH, 2015). Enquanto a faixa de absorbância máxima entre 210-240 nm, que está entre o valor de comprimento de onda utilizado neste trabalho, foi caracterizada e associada aos grupos C=O, -COOH e CONH₂ das cadeias polipeptídicas do colágeno (TAMILMOZHI; VEERURAJ; ARUMUGAM, 2013).

Estas pesquisas citadas sugerem que as altas concentrações identificadas nos gráficos da figura 31, podem estar relacionadas não somente com a absorção de SIN, mas também com a absorção de fragmentos da estrutura do colágeno em fibras, utilizado para compor o material híbrido de sílica. Por conta disso, o ensaio de liberação controlada para as amostras dos híbridos de sílica contendo 8% de colágeno foram realizadas sem a incorporação de SIN e o perfil de liberação está exibido na figura 32. Dessa forma, como há a comprovação de liberação de colágeno no mesmo comprimento de onda escolhido para analisar a liberação de SIN, não foi possível distinguir qual dos componentes estão liberando as concentrações identificadas.

Figura 32. Perfil de liberação controlada correspondente ao híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, sem a adição de SIN.



g. *Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)*

A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a visualização de imagens de alta resolução da estrutura superficial e superfície da fratura dos materiais híbridos, permitindo avaliar sua homogeneidade, tamanho de partícula e distribuição. A MEV pode ser utilizada para determinar a composição química dos materiais híbridos, incluindo a presença de elementos biológicos e de materiais de suporte, bem como para avaliar a interface entre esses componentes (GAUTHIER, et al., 2005).

As imagens obtidas por MEV e as microanálises elementares por EDS, referente as amostras de xerogel de sílica puro e xerogel de sílica com TEC, podem ser observadas nas figuras 33 e 34, respectivamente. Ambas amostras estavam em meio auto suportado, durante a análise, para facilitar a comparação entre a superfície do xerogel de sílica puro e do xerogel de sílica com o plastificante.

Figura 33. Imagens de MEV das amostras de xerogel de sílica puro nas ampliações de (A) 500x e (B) 1000x; bem como imagens das amostras de xerogel de sílica com TEC nas ampliações de (C) 500x e (D) 1000x.

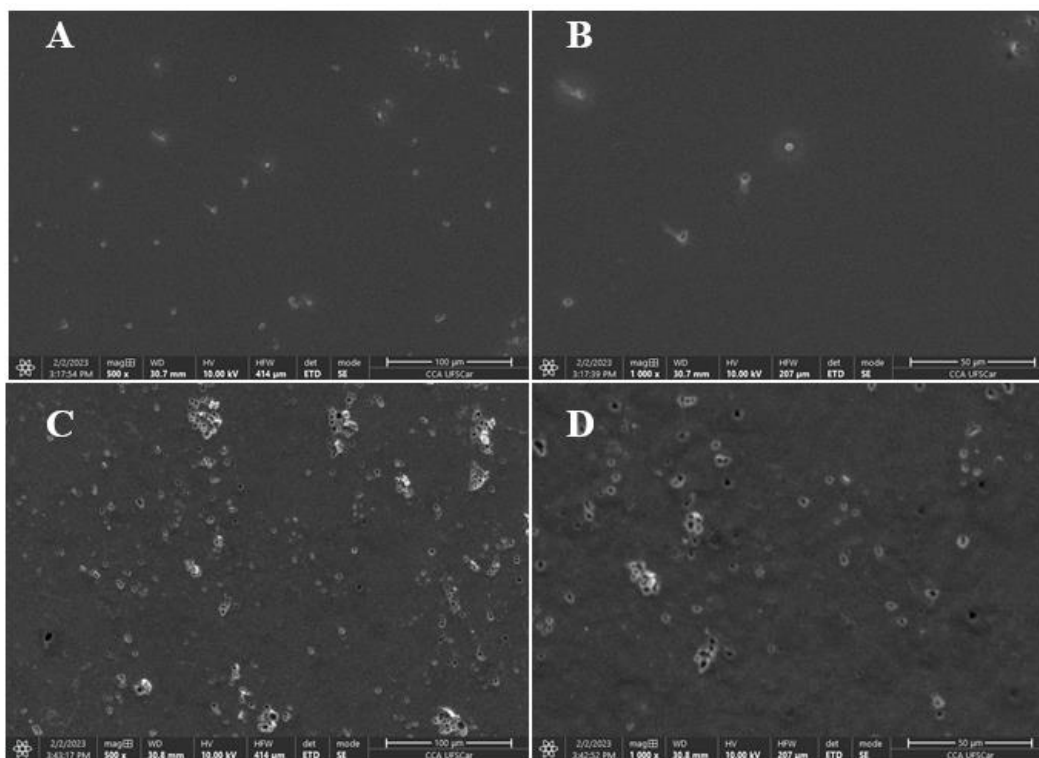
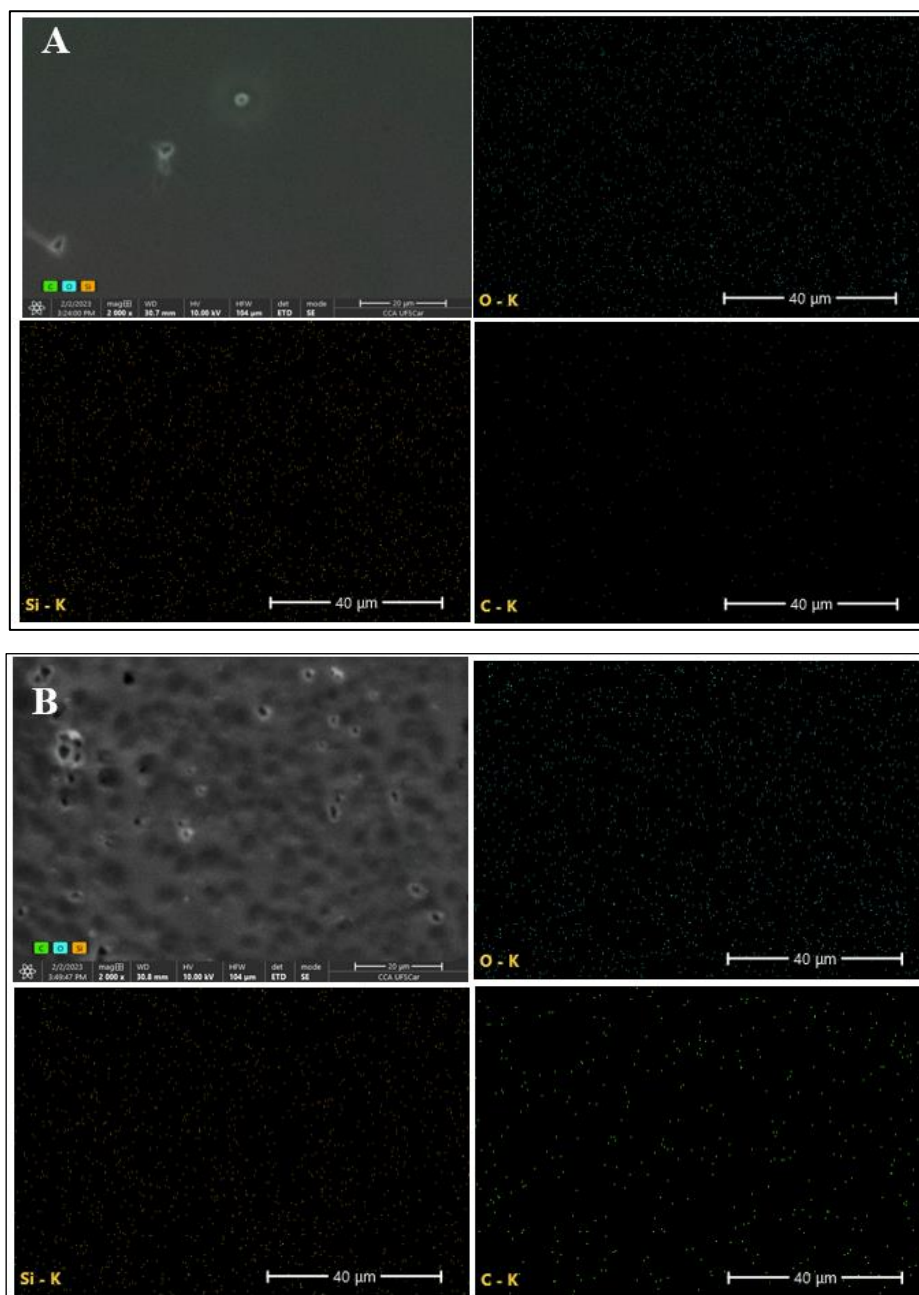


Figura 34. Microanálise elemental por EDS para (A) xerogel de sílica puro e (B) xerogel de sílica com TEC, indicando a presença dos elementos O, Si e C.



Nas figuras 33A e 33B, em que foram obtidas nas ampliações de 500x e 1000x, respectivamente, é possível observar uma superfície lisa e com a presença de agregados aleatoriamente distribuídos. Esta mesma morfologia já foi identificada na literatura, em escala de 20 µm, para *ormosils* produzidos com TEOS na exploração eletroquímica de híbridos frente à pesticida (OLÍVIO et al., 2018). No entanto, em imagens de MEV obtidas a partir do pó de xerogel de sílica, através do processo sol-gel com hidrólise em

meio ácido, estruturas porosas e altamente hidrofílicas podem ser identificadas (PAUN et al., 2022; ZHOU et al., 2012).

A adição do plastificante TEC ao xerogel de sílica, em que a imagem está disponível na figura 33C e 33D, nas respectivas ampliações de 500x e 1000x, apresentaram uma superfície rugosa e a formação de poros. O tamanho dos poros formados estão entre 2-3 μ m. Na literatura, a adição de TEC em filmes de borracha natural causou rugosidade superficial e o surgimento de uma estrutura porosa, assim como observado no presente trabalho (ISSARAYUNGYUEN; PICHAYAKORN; PHAECHAMUD, 2014). Nas membranas de poli(L-ácido lático) e TEC, uma superfície irregular e levemente rugosa também pode ser identificado, porém com a presença de poros maiores. (CARDOSO et al., 2013).

Elementos como oxigênio (O), silício (Si) e carbono (C), podem ser observados com clareza a partir da análise de EDS, assim como indica as imagens 34A e 34B, para ambas as amostras. A predominância dos elementos de O e Si é oriunda dos grupos siloxanos e silanois, provenientes do processo sol-gel. Já a presença do elemento C, pode ser devido a hidrólise parcial de TEOS (BUCKLEY; GREENBLATT, 1994). Porém, este elemento fica mais evidente e em maior porcentagem na amostra de xerogel de sílica com TEC, indicando a presença da cadeia carbônica característica do plastificante TEC. A tabela 2 exhibe os valores em porcentagem de peso para os elementos evidenciados por EDS.

Tabela 2. Tabela referente aos valores em porcentagem de peso de cada elemento identificado por EDS para as amostras de xerogel de sílica e xerogel de sílica com TEC.

Amostra	C (%)	O (%)	Si (%)
Xerogel de sílica	4,3	60,2	35,4
Xerogel de sílica com TEC	11,9	54,0	34,1

A figura 35 A e B exhibe a imagem de MEV referente a superfície, nas respectivas ampliações de 500x e 1000x, bem como a superfície de fratura do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno. Enquanto a figura 35 expõe e as microanálises elementares por EDS da amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno.

Figura 35. Imagens de MEV da amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno referentes a (A) superfície em ampliação de 500x; (B) superfície em ampliação de 1000x; e (C) superfície da fratura em ampliação de 50x.

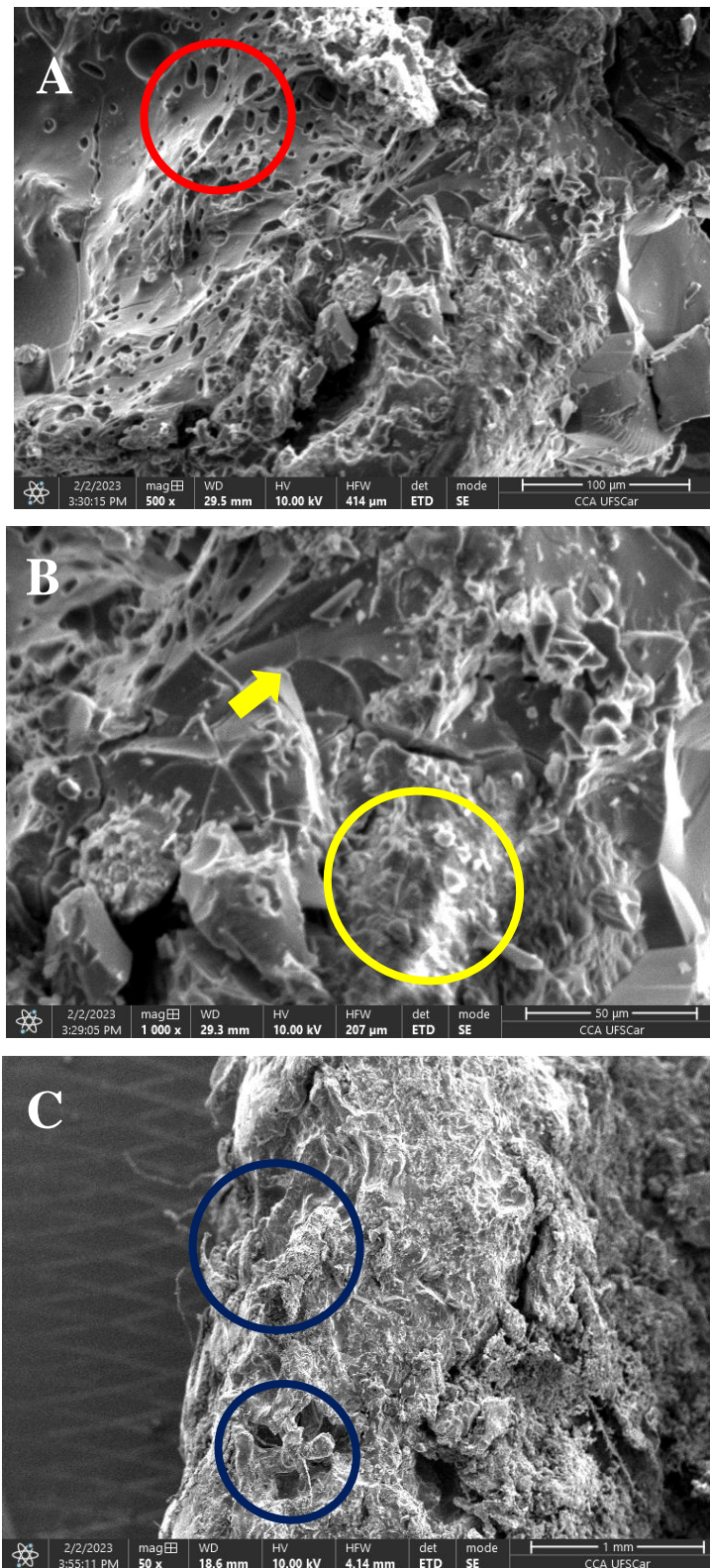
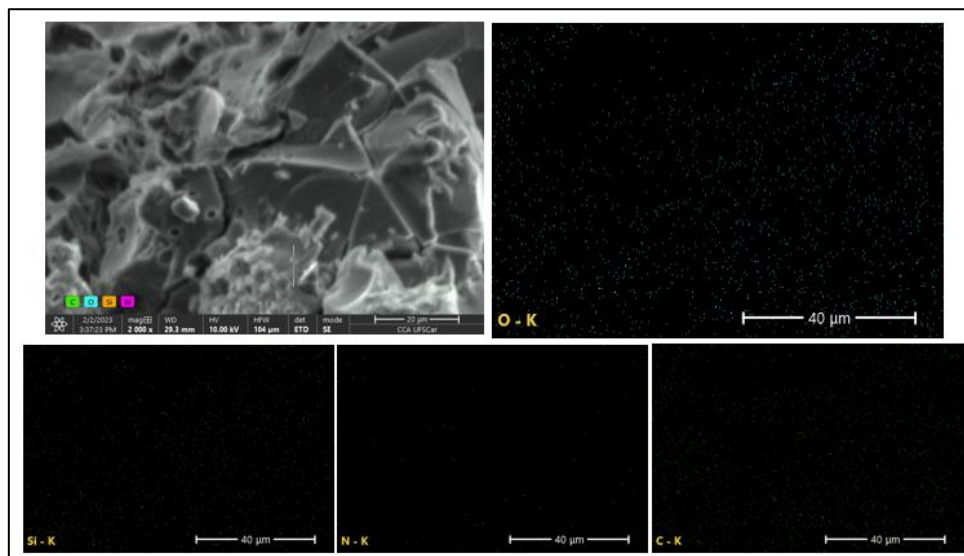


Figura 36. Microanálise elementar por EDS para amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, indicando a presença dos elementos O, Si, N e C.



Na figura 35, onde é exibido a imagem de MEV do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, nas ampliações de 500x (A) e 1000x (B), é constatado uma heterogeneidade e irregularidades na superfície. Aglomerados de pequenos poros, indicados através do círculo vermelho, bem como regiões de superfície lisa e rugosa (indicados com a seta e círculo amarelo, na devida ordem) também podem ser observados. Estas características morfológicas já foram observadas em um curativo de colágeno de esponja marinha para curativos de lesões cutâneas (ABDIAS SIMON SALES, 2022). Enquanto na figura 35 C, que representa a amostra fraturada, as fibras do colágeno presente no híbrido de sílica estão distribuídas aleatoriamente em linhas longas, circulares em azul, em uma região heterogênea e rugosa.

A análise de EDS do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno, exibida na figura 36, revela que os elementos O, Si e C permaneceram evidentes. A incorporação do colágeno, portanto, leva o surgimento do elemento nitrogênio (N), resultante das cadeias polipeptídicas que possuem grupamentos aminos. A tabela 3 mostra os valores em porcentagem de peso referente aos elementos O, Si, C e N, verificados na amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno.

Tabela 3. Tabela referente as porcentagens de peso dos elementos O, Si, C e N, encontrados na amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno.

Amostra	C (%)	O (%)	Si (%)	N (%)
Híbrido de sílica contendo 8% de colágeno	22,9	53,8	18,5	4,7

As imagens de MEV referente ao híbrido de sílica contendo 0,1% e 1,0% de SIN estão em anexo após o item 8 das referências. Já as imagens de MEV da superfície (A e B) e da superfície de fratura (C) referente a amostra do híbrido de sílica contendo colágeno e 2,0% de SIN, bem como as imagens da microanálise por EDS, estão exibidas na figura 37 e 38. A heterogeneidade na superfície do material ainda é evidente quando analisado a micrografia da amostra nas ampliações de 500x (A) e 1000x (B), em que a aparência rugosa e lisa foram indicadas com as setas vermelhas. Contudo, na figura 37 B, pontos esféricos de tamanho similares (entre 4,7 a 4,9 μ m) podem ser observados com clareza. A figura 37 C também exibe a evidencia das fibras aleatoriamente distribuídas, oriundas do colágeno presente no híbrido de sílica.

Os elementos químicos O, Si, C e N, também foram identificados na amostra do híbrido de sílica contendo colágeno e 2,0% de SIN por análise de EDS. A partir desta análise não foi possível observar novos elementos químicos presentes que diferenciasse esta amostra da qual a SIN não foi adicionada. Isso ocorreu por conta de a molécula de SIN não apresenta nenhum outro elemento químico diferente dos quais foram identificados. A tabela 4 exibe os valores em porcentagem de peso referente aos elementos O, Si, C e N, verificados na amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno com 2,0% de SIN.

Tabela 4. Tabela referente as porcentagens de peso dos elementos O, Si, C e N, encontrados na amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e 2,0% de SIN.

Amostra	C (%)	O (%)	Si (%)	N (%)
Híbrido de sílica contendo 8% de colágeno e 2,0% de SIN	26,3	51,4	18,5	3,8

Como a estrutura química da SIN, representada anteriormente na fig. 7 do item 3d, não possui nenhum outro elemento químico diferente dos demais já identificados, não é possível afirmar que estes pontos sejam partículas do fármaco. Porém, a adição de SIN em filmes de poli(3-hidroxibutirato), apresentou uma imagem de MEV com uma superfície mais lisa no local onde o fármaco estava presente (DOURADO et al., 2021). Além disso, estudos correlacionam a presença de pontos mais claros na matriz com cristais de fármacos, bem como surgimento de pequenos aglomerados de cristais ao redor do fármaco se faz presente na superfície (LIU et al., 2012b; PARHI; SURESH, 2016).

Figura 37. Imagens de MEV da amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno após a incorporação de 2,0% de SIN, em que (A) é referente a superfície do material com ampliação em 500x; (B) superfície com ampliação de 1000x e aparecimento de poros em escala micrométrica; e (C) a superfície de fratura em ampliação de 19x.

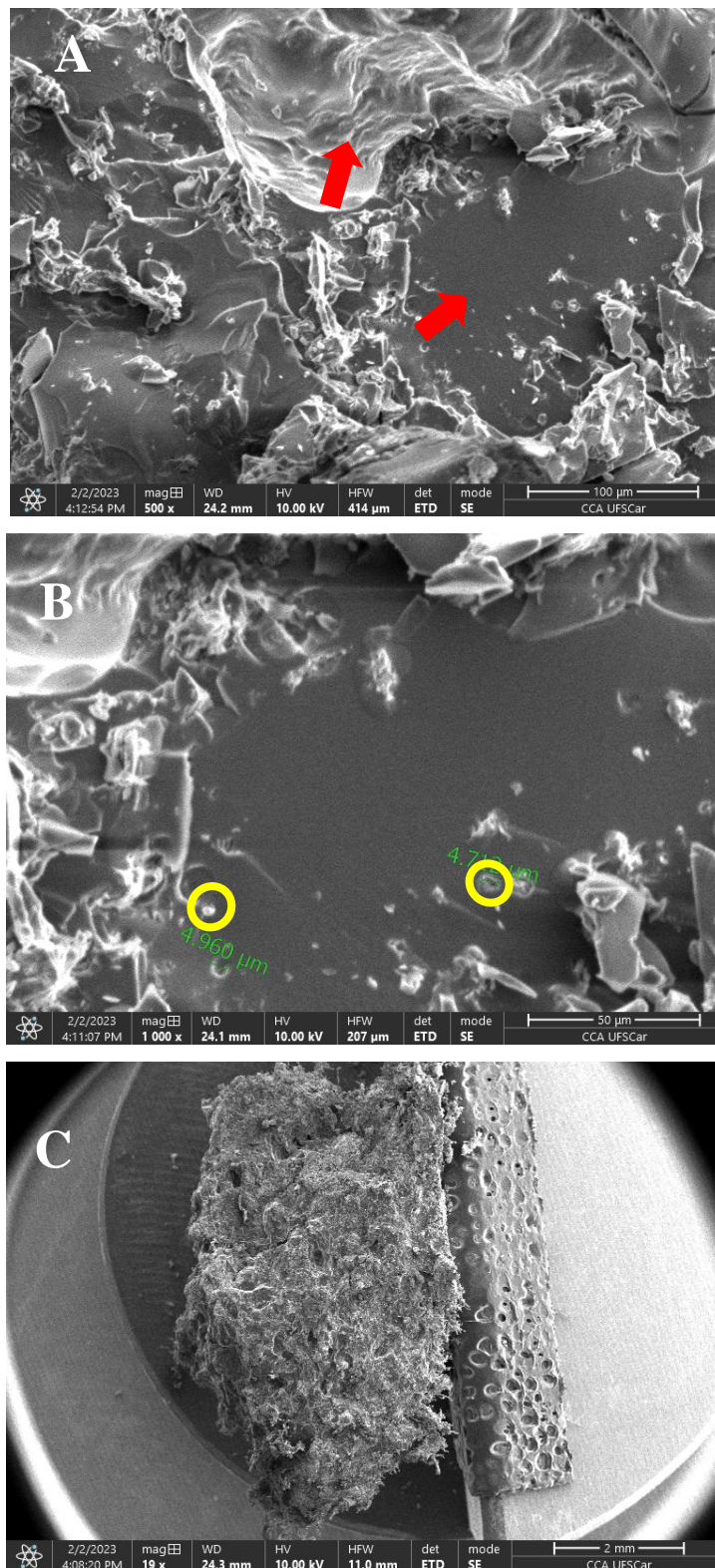
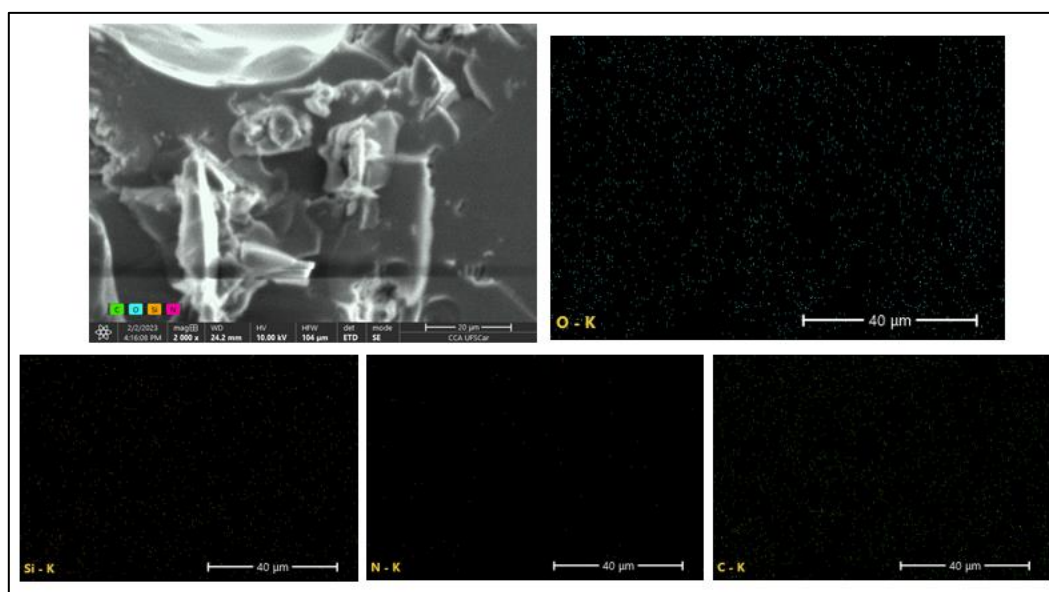


Figura 38. Microanálise elemental por EDS para amostra do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno após a incorporação de 2,0% de SIN, indicando a presença dos elementos O, Si, N e C.



6. Conclusões

O processo sol-gel foi eficiente na obtenção de híbridos de sílica contendo colágeno, nas concentrações de 2%, 5% e 8%. A adição de TEC foi confirmada por FTIR, e a sua presença contribuiu para o aumento da estabilidade térmica dos híbridos de sílica contendo colágeno. Além disso, o caráter amorfo dos híbridos de sílica não foi alterado após a incorporação deste pastificante.

O colágeno influenciou na estabilidade térmica dos híbridos e suas fibras dispersas influenciou na falta de homogeneidade e regularidades, que foram comprovadas através das curvas de DSC, do perfil das propriedades mecânicas evidenciadas pelo ensaio de compressão e nas imagens de MEV.

O ensaio de liberação controlada foi influenciado pela absorção de colágeno no mesmo comprimento de onda analisado, não sendo possível distinguir qual a concentração exata de SIN liberada. No entanto, é possível concluir que os híbridos de sílica contendo colágeno e SIN podem ser empregados em defeitos ósseos, lesões, traumas, desgastes, como osteoindutor ou osteocondutor, onde a compressão mecânica exigida é menor. A periodontite, uma doença que leva a perda de massa óssea, pode ser uma sugestão de aplicação.

7. Referências

ABDEL HAKIEM, A. F.; MOHAMED, N. A.; ALI, H. R. H. FTIR spectroscopic study of two isostructural statins: Simvastatin and Lovastatin as authentic and in pharmaceuticals. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 261, 15 nov. 2021.

ABDIAS SIMON SALES. Efeitos de curativo de colágeno de esponja marinha associado ou não à fotobiomodulação no reparo cutâneo de ratos. Santos: **Universidade Federal de São Paulo**, 2022.

ABDRABOH, A. S.; ABDEL-AAL, A. A.; EREIBA, K. T. Preparation and Characterization of Inorganic Organic Hybrid Material Based on TEOS/MAPTMS for Biomedical Applications, **Silicon**, v. 13, 613–622, 2021.

ABERE, D. V. et al. Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review. **Biomedical Engineering Advances**, v. 4, p. 100056, dez. 2022.

ACEVES-HERNÁNDEZ, J. M. et al. Solubility of simvastatin: A theoretical and experimental study. **Journal of Molecular Structure**, v. 995, n. 1–3, p. 41–50, 31 maio 2011.

- AELION, R.; LOEBEL, A.; EIRICH, F. **Hydrolysis of Ethyl Silicate**. Brooklyn, 1950.
- AHOLA, M. et al. Silica xerogel carrier material for controlled release of toremifene citrate *International Journal of Pharmaceutics*, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 195, 219 – 227, 2000.
- AKTI, F.; BALCI, S. Silica xerogel and iron doped silica xerogel synthesis in presence of drying control chemical additives. **Materials Chemistry and Physics**, v. 297, 1 mar. 2023.
- ALINE ROCHA DE OLIVEIRA, A. et al. Avaliação das Propriedades Mecânicas de Espumas Híbridas de Vidro Bioativo/Álcool Polivinílico para Aplicação em Engenharia de Tecidos Mechanical. **Revista Matéria**, v. 12, n. 1, p. 140–149, 2007.
- ALINE ROCHA DE OLIVEIRA, A. et al. Effect of Polyvinyl Alcohol Content and After Synthesis Neutralization on Structure, Mechanical Properties and Cytotoxicity of Sol-Gel Derived Hybrid Foams *Materials Research*. **Materials Research**, Vol. 12, No. 2, 239-244, 2009.
- ANICHINI, C.; SAMORÌ, P. Graphene-Based Hybrid Functional Materials. **Small Journal**, v. 17, n. 33, 1 ago. 2021.
- ANTONIO, M. et al. Implantes Scaffolds para regeneración ósea. Materiales, técnicas y modelado mediante sistemas de reacción-difusión. **Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas**, v. 29, n. 1, p. 140–154, 2010.
- ASARO, F. et al. Evolution of the nonionic inverse microemulsion-Acid-TEOS system during the synthesis of nanosized silica via the sol-gel process. **Langmuir**, v. 26, n. 15, p. 12917–12925, 3 ago. 2010.
- ASARO, F. et al. Evolution of the nonionic inverse microemulsion-Acid-TEOS system during the synthesis of nanosized silica via the sol-gel process. **Langmuir**, v. 26, n. 15, p. 12917–12925, 3 ago. 2010.
- ASSAF, K.; DE REZENDE DUEK, E. A.; OLIVEIRA, N. M. Efficacy of a combination of simvastatin and poly(DL-lactic-co-glycolic acid) in stimulating the regeneration of bone defects. **Materials Research**, v. 16, n. 1, p. 215–220, jan. 2013.
- BACCILE, N. et al. Introducing ecodesign in silica sol-gel materials. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, p. 8537–8559, 2009.
- BELLUCCI, D. et al. A new bioactive glass with extremely high crystallization temperature and outstanding biological performance. **Materials Science and Engineering C**, v. 110, 1 maio 2020.
- BENVENUTTI, E. V et al. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. **Quim. Nova**, v. 32, n. 7, 2009.
- BRAGA, A. D. N. S. et al. Influence of different solvents in the synthesis of mullite by sol-gel. **Revista Materia**, v. 26, n. 2, 2021.
- BROWNE, S.; ZEUGOLIS, D. I.; PANDIT, A. Collagen: Finding a solution for the source. **Tissue Engineering - Part A**, v. 19, n. 13–14, p. 1491–1494, 2013.

BUCKLEY; GREENBLATT. The sol-gel preparation of silica gels. **Journal of Chemical Education**, v. 71, p. 599–602, 1994.

BUCKLEY; GREENBLATT. The sol-gel preparation of silica gels. **Journal of Chemical Education**, v. 71, p. 599–602, 1994.

C. JEFFREY BRINKER; GEORGE W. SCHERER. Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing. 1^a ed. Reino Unido: Academic Press, 1990. v. 1.

CAO, S. et al. Characteristics comparison of collagens from squid skin by different extraction methods. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

CARDOSO, L. et al. Implante de membranas de PLLA/trietil-citrato como alternativa no tratamento de feridas cutâneas. **Polimeros**, v. 23, n. 6, p. 798–806, 2013.

CATAURO, M. et al. Silica/Polyethylene glycol hybrid materials prepared by a sol-Gel method and containing chlorogenic acid. **Molecules**, v. 23, n. 10, 25 set. 2018.

CATAURO, M.; BOLLINO, F.; PAPALE, F. Preparation, characterization, and biological properties of organic-inorganic nanocomposite coatings on titanium substrates prepared by sol-gel. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 102, n. 2, p. 392–399, fev. 2014.

COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. Introduction to infrared and Raman spectroscopy. **Academic Press**, 1990.

CONCEIÇÃO COSTA, V. et al. Preparation of Hybrid Biomaterials for Bone Tissue Engineering, **Materials Research**. v. 10, n. 1, p. 21-26, 2006.

CORDOBA, A. et al. On the Versatile Role of Electrospun Polymer Nanofibers as Photocatalytic Hybrid Materials Applied to Contaminated Water Remediation: A Brief Review. **Nanomaterials**, v. 12, n. 5, p. 756, 24 fev. 2022.

CURLEY, R.; HOLMES, J. D.; FLYNN, E. J. Can sustainable, monodisperse, spherical silica be produced from biomolecules? A review. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v. 11, n. 6, p. 1777–1804, 1 jun. 2021.

DAI, L. et al. Improved thermostability and cytocompatibility of bacterial cellulose/collagen composite by collagen fibrillogenesis. **Cellulose**, v. 26, n. 11, p. 6713–6724, 30 jul. 2019.

DAVID, M. E. et al. Hybrid materials based on multi-walled carbon nanotubes and nanoparticles with antimicrobial properties. **Nanomaterials**, v. 11, n. 6, 1 jun. 2021.

DE LIMA, J. A. et al. Morphology and mechanical properties of nanocomposites of cellulose acetate and organic montmorillonite prepared with different plasticizers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 124, n. 6, p. 4628–4635, 15 jun. 2012.

DE SOUSA, D. N. et al. Local effect of simvastatin combined with different osteoconductive biomaterials and collagen sponge on new bone formation in critical defects in rat calvaria. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 35, n. 1, 2020.

DESHMUKH, K. et al. Recent advances and future perspectives of sol-gel derived porous bioactive glasses: a review. **RSC Advances**, v. 10, n. 56, p. 33782–33835, 2020.

DOBOS, A. M. et al. Matching the cellulose/silica films surface properties for design of biomaterials that modulate extracellular matrix. **Membranes**, v. 11, n. 11, 1 nov. 2021.

DOURADO, L. F. N. et al. Assessment of implantable drug delivery technology: poly (3-hydroxybutyrate)/polypropylene glycol films containing simvastatin. **Revista Materia**, v. 26, n. 4, 2021.

FERNANDEZ, L. et al. Tetraethylorthosilicate as molecular precursor to the formation of amorphous silica networks. A DFT-SCRF study of the base catalyzed hydrolysis. **Journal of Molecular Modeling**, v. 18, n. 7, p. 3301–3310, jul. 2012.

FIEJDASZ, S. et al. Magnetic properties of collagen–chitosan hybrid materials with immobilized superparamagnetic iron oxide nanoparticles (Spions). **Materials**, v. 14, n. 24, 1 dez. 2021.

FIGUEIRA, R. B.; SILVA, C. J. R.; PEREIRA, E. V. Organic–inorganic hybrid sol–gel coatings for metal corrosion protection: a review of recent progress. **Journal of Coatings Technology and Research**, v. 12, n. 1, p. 1–35, 1 jan. 2015.

FIUME, M. M. et al. Safety Assessment of Citric Acid, Inorganic Citrate Salts, and Alkyl Citrate Esters as Used in Cosmetics. **International Journal of Toxicology**, v. 33, p. 16S–46S, 2014.

FOKSOWICZ-FLACZYK, J. et al. Multifunctional durable properties of textile materials modified by biocidal agents in the sol-gel process. **Surface and Coatings Technology**, v. 304, p. 160–166, 25 out. 2016.

FREDERIKSEN, K.; GUY, R. H.; PETERSSON, K. Formulation considerations in the design of topical, polymeric film-forming systems for sustained drug delivery to the skin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 91, p. 9–15, 2015.

GAO, X. et al. Double-spotted pufferfish (*Takifugu bimaculatus*) skin collagen: Preparation, structure, cytocompatibility, rheological, and functional properties. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 16, n. 1, 1 jan. 2023.

GAREKANI, H. et al. Peculiar effect of polyethylene glycol in comparison with triethyl citrate or diethyl phthalate on properties of ethyl cellulose microcapsules containing propranolol hydrochloride in process of emulsion-solvent evaporation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 3, p. 421–431, 4 mar. 2018.

GAUTHIER, O. et al. In vivo bone regeneration with injectable calcium phosphate biomaterial: A three-dimensional micro-computed tomographic, biomechanical and SEM study. **Biomaterials**, v. 26, 5444–5453, 2005.

GAWĘDA, M. et al. Spectroscopic studies on phosphate-modified silicon oxycarbide-based amorphous materials. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 291, 12234, 2023.

GERAETS, W. G. M. et al. Spatial orientation in bone samples and Young's modulus. **Journal of Biomechanics**, v. 41, n. 10, p. 2206–2210, 19 jul. 2008.

- GIACOBELLO, F. et al. Geopolymers and Functionalization Strategies for the Development of Sustainable Materials in Construction Industry and Cultural Heritage Applications: A Review. **Materials**, v. 15, n. 5, 1 mar. 2022.
- GIRÓN, J. et al. Biomaterials for bone regeneration: An orthopedic and dentistry overview. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 54, n. 9, 2021.
- GOBARA, M. et al. Corrosion behaviour of AA2024 coated with an acid-soluble collagen/hybrid silica sol-gel matrix. **Progress in Organic Coatings**, v. 89, p. 57–66, 2015.
- GONZÁLEZ HERNÁNDEZ, I.; BARBA, P. **Cementos óseos de fosfato de calcio adicionados con fibras de colágena Superficies y Vacío**. [s.l: s.n.].
- GÓRNIAK, A. et al. Preformulation Studies of Ezetimibe-Simvastatin Solid Dispersions in the Development of Fixed-Dose Combinations. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, 1 maio 2022.
- GROULT, S.; BUWALDA, S.; BUDTOVA, T. Pectin hydrogels, aerogels, cryogels and xerogels: Influence of drying on structural and release properties. **European Polymer Journal**, v. 149, 15 abr. 2021.
- GUIMARÃES, F. et al. Síntese sol-gel de scaffolds porosos de vidro bioativo com adição de agente porogênico. **Cerâmica**, v. 62, n. 364, p. 328–337, 1 out. 2016.
- GUPTA, S.; DEL FABBRO, M.; CHANG, J. The impact of simvastatin intervention on the healing of bone, soft tissue, and TMJ cartilage in dentistry: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Implant Dentistry**, v. 5, n. 1, dez. 2019.
- HENCH, L. L.; WEST, J. K. The Sol-Gel Process. **Chem. Rev.**, v. 90, p. 33–72, 1990.
- HOFFMANN, F.; FRÖBA, M. Vitalising porous inorganic silica networks with organic functions—PMOs and related hybrid materials. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 2, p. 608–620, 24 jan. 2011.
- HONGPHRUK, P.; AHT-ONG, D. Effect of plasticizers on the mechanical properties of cellulose laurate films. **Advanced Materials Research**, v. 93-94, p. 117-120, 2010.
- INNOCENZI, P. Infrared spectroscopy of sol-gel derived silica-based films: a spectromicrostructure overview. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 316, p. 309–319, 2003.
- INNOCENZI, P. Understanding sol-gel transition through a picture. A short tutorial. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 94, n. 3, p. 544–550, 1 jun. 2020.
- ISSARAYUNGYUEN, P.; PICHAYAKORN, W.; PHAECHAMUD, T. Cast natural rubber films comprising triethyl citrate. **Advanced Materials Research**, Vol 844, 494-497, 2014.
- IVASHCHENKO, S. et al. Bioactive organic-inorganic poly(CLMA-co-HEA)/silica nanocomposites. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 29, n. 8, p. 1096–1108, 26 mar. 2015.

JANG, T. S. et al. Fibrous membrane of nano-hybrid poly-L-lactic acid/silica xerogel for guided bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 100 B, n. 2, p. 321–330, fev. 2012.

JENNINGS, C. L.; DZIUBLA, T. D.; PULEO, D. A. Combined effects of drugs and plasticizers on the properties of drug delivery films. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v. 31, n. 4, p. 323–333, 1 jul. 2016.

JIANG, T. et al. Enhanced dissolution rate and oral bioavailability of simvastatin nanocrystal prepared by sonoprecipitation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 38, n. 10, p. 1230–1239, out. 2012.

JIN, H. et al. Simvastatin-Incorporated Drug Delivery Systems for Bone Regeneration. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 7, n. 6, p. 2177–2191, 14 jun. 2021.

KANNIYAPPAN, H. et al. Evaluating the inherent osteogenic and angiogenic potential of mesoporous silica nanoparticles to augment vascularized bone tissue formation. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 311, n. October 2020, p. 110687, 2021.

KATOPODIS, K. et al. Partially hydrolyzed polyvinyl alcohol for fusion-based pharmaceutical formulation processes: Evaluation of suitable plasticizers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 578, 30 mar. 2020.

KAYAN, A. Inorganic-organic hybrid materials and their adsorbent properties. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v. 2, n. 1, p. 34–45, 15 mar. 2019.

KEW, S. J. et al. Regeneration and repair of tendon and ligament tissue using collagen fibre biomaterials. **Acta Biomaterialia**, 2011.

KHAN, H. et al. Experimental methods in chemical engineering: X-ray diffraction spectroscopy—XRD. **Canadian Journal of Chemical Eng.**, v. 98, p. 1255–1266, 2020.

KHAN, M. U. A. et al. Smart and pH-sensitive rGO/Arabinoxylan/chitosan composite for wound dressing: In-vitro drug delivery, antibacterial activity, and biological activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 820–831, 1 dez. 2021.

KIM, J.; LIM, J. H. Organic-inorganic hybrid thermoelectric material synthesis and properties. **Journal of the Korean Ceramic Society**, v. 54, n. 4, p. 272–277, 1 jul. 2017.

KIMURA, T.; KIDA, T.; YAMAGUCHI, M. Viscoelastic Properties of Fully Biomass-Based Transparent Plastic Comprising Cellulose Acetate and Citrate Ester. **Materials**, v. 15, n. 9, p. 3038, 22 abr. 2022.

KLEIN, L.; APARICIO, M.; JITIANU, A. **Handbook of Sol-Gel Science and Technology**. Springer, 2^a ed. Nova Yorque, 2005.

KNAPIK-KOWALCZUK, J. et al. Physical stability and viscoelastic properties of co-amorphous ezetimibe/simvastatin system. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 1, 1 mar. 2019.

KOLAH, A. K. et al. Triethyl citrate synthesis by reactive distillation. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 47, n. 4, p. 1017–1025, 20 fev. 2008.

- KOLOVOU, G. D. et al. Simvastatin: Two decades in a circle. **Cardiovascular Therapeutics**, 2008.
- KUCERA, S. A. et al. Influence of fumed silicon dioxide on the stabilization of Eudragit® RS/RL 30 D film-coated theophylline pellets. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 13, n. 3, p. 245–253, maio 2008.
- KUNST, S. R. et al. Effect of concentrations of plasticizers on the sol-gel properties developed from alkoxides precursors. **Polimeros**, v. 27, n. 4, p. 346–352, 1 out. 2017.
- LEE, D. J. et al. Effect of pore size in bone regeneration using polydopamine-laced hydroxyapatite collagen calcium silicate scaffolds fabricated by 3D mould printing technology. **Orthodontics and Craniofacial Research**, v. 22, n. S1, p. 127–133, 1 maio 2019.
- LEE, E. J. et al. Collagen-silica xerogel nanohybrid membrane for guided bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 100 A, n. 4, p. 841–847, 2012.
- LEE, E. J. et al. Membrane of hybrid chitosan-silica xerogel for guided bone regeneration. **Biomaterials**, v. 30, n. 5, p. 743–750, fev. 2009.
- LEE, M. et al. The effect of triethyl citrate on the dispersibility and water vapor sorption behavior of polylactic acid/zeolite composites. **Polymer Testing**, v. 89, 1 set. 2020.
- LEI, Q. et al. Sol–Gel-Based Advanced Porous Silica Materials for Biomedical Applications. **Advanced Functional Materials**, v. 30, n. 41, p. 1–28, 2020.
- LEMOS, E. E. M. F.; PATRÍCIO, P. S. O.; PEREIRA, M. M. 3D nanocomposite chitosan/bioactive glass scaffolds obtained using two different routes: An evaluation of the Porous structure and mechanical properties. **Quimica Nova**, v. 39, n. 4, p. 462–466, 1 maio 2016.
- LI, H.; KHOR, E. Interaction of Collagen with Polypyrrole in the Production of Hybrid Materials. **Polymer International**, v. 35, p. 53–59, 1994.
- LI, Y. et al. Collagen-based biomaterials for bone tissue engineering. **Materials and Design**, v. 210, 15 nov. 2021.
- LIU, F. et al. Collagen films with improved wet state mechanical properties by mineralization. **Food Hydrocolloids**, p. 108579, fev. 2023.
- LIU, J. et al. Hierarchically porous calcium-silicon nanosphere-enabled co-delivery of microRNA-210 and simvastatin for bone regeneration. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 9, n. 16, p. 3573–3583, 28 abr. 2021.
- LIU, W. et al. Synthesis of bioactive poly(ethylene glycol)/SiO₂-CaO-P₂O₅ hybrids for bone regeneration. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 4, p. 707–711, 1 maio 2012a.
- LIU, Y. et al. The antimicrobial and osteoinductive properties of silver nanoparticle/poly (dl-lactic-co-glycolic acid)-coated stainless steel. **Biomaterials**, v. 33, n. 34, p. 8745–8756, dez. 2012b.

LIVAGE, J. Sol-gel synthesis of hybrid materials. **Bull. Mater. Sci**, v. 22, n. 3, p. 201–205, 1999.

LIZARAZO-FONSECA, L. et al. Andamios eletrohilados de poli(ϵ -caprolactona) /colágeno con uso potencial en regeneración de tejido cutáneo. **Ciencia en Desarrollo**, v. 10, n. 2, p. 197–208, 27 jul. 2019.

LUCIANO, R. M. et al. The effect of Triethylcitrate on the porosity and biocompatibility of poly(lactic acid) membranes. **Braz. J. morphol. Sci**, v. 18, n. 1, p. 7–13, 2001.

LUO, H. et al. Mapping the Young's modulus distribution of the human tympanic membrane by microindentation. **Hearing Research**, v. 378, p. 75–91, 1 jul. 2019.

MA, C. et al. Preparation of oriented collagen fiber scaffolds and its application in bone tissue engineering. **Applied Materials Today**, v. 22, 1 mar. 2021.

MAHBOOBAN, M. M. et al. Simvastatin in ternary solid dispersion formulations: Improved In vitro dissolution and anti-hyperlipidemia efficiency. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 74, 1 ago. 2022.

MAIZA, M. et al. Biobased additive plasticizing Polylactic acid (PLA). **Polimeros**, v. 25, n. 6, p. 581–590, 1 nov. 2015.

MALLICK, M.; ARE, R. P.; BABU, A. R. An overview of collagen/bioceramic and synthetic collagen for bone tissue engineering. **Materialia**, v. 22, 1 maio 2022.

MALTONI ANDREA, A.; SUFFRITTI, G. The determining role of silicon in bone formation: review and clinical results. **Journal of Clinical Medicine and Therapeutics**. Vol. 3 No. 1: 05, 2018. Disponível em: <<http://www.imedpub.com/clinical-medicine-and-therapeutics/>>.

MAMMERI, F. et al. Mechanical properties of hybrid organic-inorganic materials. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 35–36, p. 3787–3811, 2005.

MAO, W. et al. Synthesis, crystal structure, photoluminescence properties of organic-inorganic hybrid materials based on ethylenediamine bromide. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 24, n. 1, p. 52–60, 1 jan. 2020.

MARTÍNEZ-IBÁÑEZ, M. et al. Enhancement of plasma protein adsorption and osteogenesis of hMSCs by functionalized siloxane coatings for titanium implants. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 106, n. 3, p. 1138–1147, 2018.

MEYER, M.; BALTZER, H.; SCHWIKAL, K. Collagen fibres by thermoplastic and wet spinning. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, n. 8, p. 1266–1271, 12 out. 2010.

MONFORT, S. et al. Design and evaluation of a high hydrostatic pressure combined process for pasteurization of liquid whole egg. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 14, p. 1–10, abr. 2012.

MUNDY G. et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. **Science**, v. 286, p. 1946–1949, 1999.

- NELSON, D.; COX, M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, Porto Alegre: Artmed, 2014, 6ª edição.
- NICKLAS, M. et al. Enteric coating derived from marine sponge collagen Enteric coating derived from marine sponge collagen. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 35, n. 11, p. 1384–1388, nov. 2009.
- NIU, Z. et al. A facile preparation of transparent methyltriethoxysilane based silica xerogel monoliths at ambient pressure drying. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 286, p. 98–104, 15 set. 2019.
- NOROUZ DOLATABADI, E. et al. Simvastatin-loaded PCL/PEG nanofibrous scaffold: A prospective approach for suppression 5-fluorouracil resistance in MKN-45 gastric cancer cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 80, 1 fev. 2023.
- OBATA, A. et al. Preparation of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)-based composites releasing soluble silica for bone regeneration. **Nippon Seramikkusu Kyokai Gakujutsu Ronbunshi/Journal of the Ceramic Society of Japan**, v. 121, n. 1417, p. 753–758, set. 2013.
- OKARTER, T. U.; SINGLA, K. The effects of plasticizers on the release of metoprolol tartrate from granules coated with a polymethacrylate film. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. V. 26(3), p. 323–329, 2000.
- OLALERU, S. A. et al. The impact of synthesis techniques on the properties of hybrid perovskite materials for photovoltaic application. **Materials Express**, v. 10, n. 7, p. 1127–1134, 1 jul. 2020.
- OLÍVIO, P. H. DE P.; BUZATO, G. V.; SOUZA, A. L. DE. Influência da catálise ácida e básica na síntese de xerogéis de sílica para a adsorção de azul de metileno em meio aquoso. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e132101522524, 21 nov. 2021.
- OLÍVIO, P. H. P. et al. Exploring electrochemical reactivity toward ametryn of hybrid silicate films with phosphomolybdic acid. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, v. 229, n. August 2017, p. 13–19, 2018.
- OSIDAK, E. O. et al. Viscoll collagen solution as a novel bioink for direct 3D bioprinting. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 30, n. 3, 2019.
- OWENS, G. J. et al. Sol-gel based materials for biomedical applications. **Progress in Materials Science**, v. 77, p. 1-79, 1 abr. 2016.
- PAI, R. V. et al. Preparation of silica xerogel beads embedded with Fe₂O₃ nanoparticles and their characterization. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 23, n. 10, 1 out. 2021.
- PAL, G. K.; NIDHEESH, T.; SURESH, P. V. Comparative study on characteristics and in vitro fibril formation ability of acid and pepsin soluble collagen from the skin of catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*). **Food Research International**, v. 76, p. 804–812, 1 out. 2015.

PANDYA, P. et al. Co-solvent evaporation method for enhancement of solubility and dissolution rate of poorly aqueous soluble drug simvastatin: In vitro-In vivo evaluation. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 4, p. 1247–1252, 2008.

PARHI, R.; SURESH, P. Formulation optimization and characterization of transdermal film of simvastatin by response surface methodology. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 331–341, 1 jan. 2016.

PATIL, D. A.; TATED, S.; MHASKE, S. T. Plasticized kafirin-based films: analysis of thermal, barrier and mechanical properties. **Polymer Bulletin**, v. 78, n. 3, p. 1721–1733, 1 mar. 2021.

PAUL, U. C. et al. Effect of Green Plasticizer on the Performance of Microcrystalline Cellulose/Polylactic Acid Biocomposites. **ACS Applied Polymer Materials**, v. 3, n. 6, p. 3071–3081, 11 jun. 2021.

PAUN, M. A. et al. Xerogels Morphology Details by Multifractal Analysis and Scanning Electron Microscopy Images Evaluations of 5-Fluorouracil Release from Chitosan-Based Matrix. **Gels**, v. 8, n. 12, 1 dez. 2022.

PEREIRA, R. et al. Scaffolds of PDLA/Bioglass 58S produced via selective laser sintering. **Materials Research**, v. 17, p. 33–38, 1 ago. 2014.

PERUMAL, S.; RAMADASS, S. K.; MADHAN, B. Sol-gel processed mupirocin silica microspheres loaded collagen scaffold: A synergistic bio-composite for wound healing. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 1, p. 26–33, 2014.

PIETRO, L. et al. The influence of triethylcitrate on the biological properties of poly (L-lactic-co-glycolic acid) membranes. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 9, p. 849–857, set. 2006.

RADIN, S. et al. **In vitro bioactivity and degradation behavior of silica xerogels intended as controlled release materials***Biomaterials*. [s.l: s.n.].

RAO, M. et al. Dissolution improvement of simvastatin by surface solid dispersion technology. **Dissolution Technologies**, v. 17, n. 2, p. 27–34, 2010.

RAVARIAN, R. et al. Molecular interactions in coupled PMMA-bioglass hybrid networks. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 1, n. 13, p. 1835–1845, 7 abr. 2013.

RIAZ, T. et al. FTIR analysis of natural and synthetic collagen. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 53, p. 703-746, 21 out. 2018.

RIBEIRO, T. J. et al. Sol-gel as methodology to obtain bioactive materials. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p. 27–36, mar. 2014.

ROCA-MILLAN, E. et al. The application of statins in the regeneration of bone defects. Systematic review and meta-analysis. **Materials**, v. 12, n. 18, 1 set. 2019.

ROCHA, L. C. et al. Immobilization of marine fungi on silica gel, silica xerogel and chitosan for biocatalytic reduction of ketones. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 84, p. 160–165, dez. 2012.

SAKKA, S. Birth of the sol–gel method: early history. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, 2021.

SCAPIN, S. M. N. et al. Use of triethylcitrate plasticizer in the production of poly-L-lactic acid implants with different degradation times. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 14, p. 635–640, 2003.

SCHMIDT, H. Considerations about the sol-gel process: From the classical sol-gel route to advanced chemical nanotechnologies. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 40, n. 2–3, p. 115–130, dez. 2006.

SHOULDERS, M. D.; RAINES, R. T. Collagen Structure and Stability. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 78, p. 929–58, 2009.

SILVA, D. R. M. et al. In vivo interaction of cells on poly L-(lactic acid) membranes containing plasticizer. **Journal of Materials Science: materials in medicine**, v. 13, p. 327–332, 2002.

SILVA, D. R. M. et al. Subdermal implants of poly(L-lactic acid) with plasticizer: An ultrastructural study in rats. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 17, n. 1, p. 177–185, jan. 2006.

SILVA, T. DA; PENNA, A. L. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 530–539, 2012.

SIMÕES, R. G. et al. Energetics and structure of simvastatin. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 7, p. 2713–2722, 1 jul. 2013.

SIONKOWSKA, A. et al. Isolation and characterization of collagen from the skin of *Brama australis*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 605–609, 1 set. 2015.

SOCRATES. **Infrared and Raman Characteristic: Group Frequencies**. 3^a ed. 2001.

SOUZA, F. F. P. DE et al. Development and characterization of poultry collagen-based hybrid hydrogels for bone regeneration. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 37, n. 3, 2022.

SUEGAMA, P. et al. Estudo das condições de obtenção de revestimentos a base de TEOS/GPTMS aplicados na proteção do aço carbono. Trabalho apresentado durante o INTERCORR, Fortaleza, 2014.

TAMILMOZHI, S.; VEERURAJ, A.; ARUMUGAM, M. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). **Food Research International**, v. 54, n. 2, p. 1499–1505, dez. 2013.

TAO, Y. et al. Pseudo target release behavior of simvastatin through pH-responsive polymer based on dynamic imine bonds: Promotes rapid proliferation of osteoblasts. **Materials Science and Engineering C**, v. 113, 1 ago. 2020.

TEIXEIRA, S. C. et al. Glycerol and triethyl citrate plasticizer effects on molecular, thermal, mechanical, and barrier properties of cellulose acetate films. **Food Bioscience**, v. 42, 1 ago. 2021.

VEREMEEV, A. et al. Native bovine hydroxyapatite powder, demineralised bone matrix powder, and purified bone collagen membranes are efficient in repair of critical-sized rat calvarial defects. **Materials**, v. 13, n. 15, p. 1–12, 1 ago. 2020.

WANG, B. et al. Recent advances in biofunctional guided bone regeneration materials for repairing defective alveolar and maxillofacial bone: A review. **Japanese Dental Science Review** Elsevier Ltd, 1 nov. 2022.

WEI, Y.; YANG, D.; BAKTHAVATCHALAM, R. **Thermal stability and hardness of new hybrid sol-gel materials** **Material Letters**. [s.l: s.n.].

WU, C. et al. Synthesis of novel core-shell structured dual-mesoporous silica nanospheres and their application for enhancing the dissolution rate of poorly water-soluble drugs. **Materials Science and Engineering C**, v. 44, p. 262–267, 1 nov. 2014.

WU, D. et al. Young's modulus of trabecular bone at the tissue level: A review. **Acta Materialia Inc**, 15 set. 2018.

XUE, N. et al. Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects. **Pharmaceuticals**, v. 15, 879, jul. 2022.

YANG, D. H. et al. In vitro evaluation of simvastatin acid (SVA) coated beta-tricalcium phosphate (β -TCP) particle on bone tissue regeneration. **Macromolecular Research**, v. 20, n. 7, p. 754–761, jul. 2012.

YANG, H.; ZHU, M.; LI, Y. Sol–gel research in China: a brief history and recent research trends in synthesis of sol–gel derived materials and their applications. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, 2022.

YU, W. L. et al. Enhanced osteogenesis and angiogenesis by mesoporous hydroxyapatite microspheres-derived simvastatin sustained release system for superior bone regeneration. **Scientific Reports**, v. 7, 13 mar. 2017.

ZHANG, Y. et al. Inclusion of the poorly water-soluble drug simvastatin in mesocellular foam nanoparticles: Drug loading and release properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 410, n. 1–2, p. 118–124, 30 maio 2011.

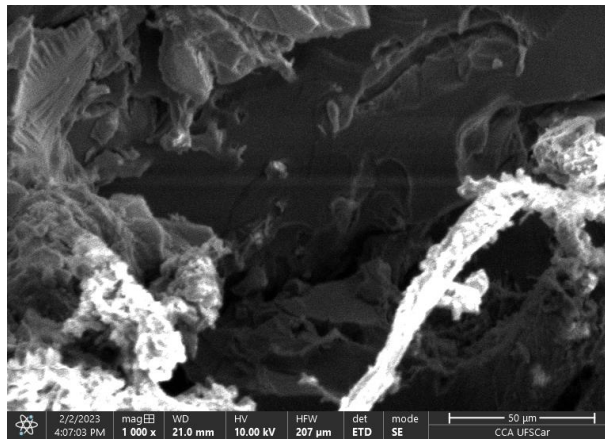
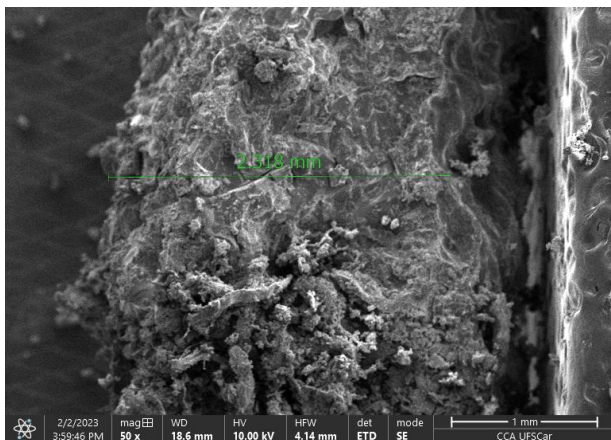
ZHOU, H. et al. **Study on the sol-gel process of TEOS by React-IR**. Applied Mechanics and Materials. **Anais...**2012.

ZIRAK HASSAN KIADEH, S. et al. Preparation of chitosan–silica/PCL composite membrane as wound dressing with enhanced cell attachment. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 28, n. 11, p. 1396–1408, 2017.

ZULCAIF et al. Simvastatin Loaded Dissolvable Microneedle Patches with Improved Pharmacokinetic Performance. **Micromachines**, v. 13, n. 8, 1 ago. 2022.

ANEXO

Imagens de MEV referente as amostras do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno com 0,1% de SIN (superfície de fratura e superfície):



Imagens de MEV referente as amostras do híbrido de sílica contendo 8% de colágeno com 1,0% de SIN (fratura e superfície):

