



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANDERSON VALÉRIO CHAVES

**HIDROXIAPATITA E MAGNETITA ASSOCIADAS A *SCAFFOLDS* DE
QUITOSANA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA.**

FORTALEZA/CE

2015

ANDERSON VALÉRIO CHAVES

**HIDROXIAPATITA E MAGNETITA ASSOCIADAS A *SCAFFOLDS* DE
QUITOSANA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Pierre Basílio Almeida
Fechine.

FORTALEZA/CE

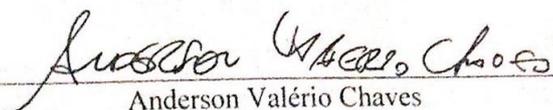
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- C438h Chaves, Anderson Valério.
Hidroxiapatita e magnetita associadas a *scaffolds* de quitosana para regeneração óssea /
Anderson Valério Chaves . – 2015.
96 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento
de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2015.
Área de Concentração: Química.
Orientação: Prof. Dr. Pierre Basílio Almeida Fachine.
Coorientação: Profª. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.
1. Sinvastatina. 2. Fosfatos de cálcio. 3. Óxido de ferro. I. Título.

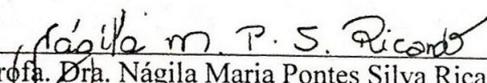
CDD 540

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

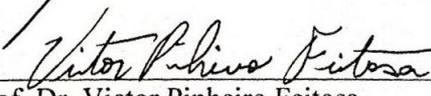

Anderson Valério Chaves

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 18/05/2015.

EXAMINADORES:


Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo
Universidade Federal do Ceará – UFC


Profa. Dra. Selma Elaine Mazzetto
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dr. Victor Pinheiro Feitosa
Universidade Federal do Ceará – UFC

A Deus.

Aos meus pais José Alcenir Chaves e Roseline Valério Chaves, meus espelhos. “*A sabedoria transforma e direciona para o caminho iluminado*”.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre está comigo por onde quer que eu vá, me ajudando e me orientando em meus caminhos. Não é fácil a pesquisa científica muito menos adquirir o título de mestre e sem a ajuda de muitos parceiros e amigos, esse trabalho não poderia ser finalizado. Agradeço a orientação do professor Pierre Basílio Almeida Fechine, pela grande ajuda, visão e confiança e por acreditar na minha capacidade, hoje o considero como grande amigo. Ao Professor Victor Pinheiro Feitosa, pelo apoio indispensável e incentivo à minha pesquisa, o qual esteve à disposição sempre que precisei.. Agradeço também a contribuição da professora Nágila Maria Pontes Silva Ricardo, que me apoiou e direcionou no melhor caminho para a conclusão deste trabalho, não poderia ter uma co-orientação melhor. Aos meus pais, José Alcenir Chaves e Roseline Valério Chaves, os quais estão ao meu lado sempre, amo vocês. Aos meus irmãos, Giselle Valério Chaves e Alcidney Valério Chaves, pela união e por acreditarem no meu sucesso. A minha namorada e futura esposa Roberta Bussons Rodrigues, que me ajudou a todo o momento durante minha formação e no meu dia-a-dia. Aos colegas do GQMat (Davino, Tiago, Jéssica, Yale, Rafael, Victor, Eduardo, André, Wesley, Denis, Elayne), muitos dos quais são hoje grandes amigos, têm o crédito como parceiros no desenvolvimento deste trabalho nas mais variadas etapas, desde os momentos descontraídos até os exaustivos testes em que precisei de ajuda. Meus agradecimentos também à CAPES pela contribuição financeira com a manutenção das bolsas de auxílio.

O que é nascido de Deus vence o mundo; e
esta é a vitória que vence o mundo: a nossa fé.

1 João 5:4

RESUMO

A hidroxiapatita (HA) tem sido amplamente utilizada na área de biomédica, especialmente para aplicações ortopédicas no tratamento da osteoporose, objetivando seu uso como nanopartículas injetáveis que podem ser dirigidas para vários locais do corpo para tratamento de defeitos ósseos. A HA é um material muito semelhante ao mineral componente do osso. Está bem estabelecido que os osteoblastos (células formadoras do osso) crescem melhor em metais revestidos por HA do que em metais isolados. A sinvastatina (SINV) é um medicamento utilizado atualmente para redução de colesterol (via oral), porém, estudos recentes mostraram uma interessante capacidade desse fármaco no aumento do processo de regeneração local quando associado com hidroxiapatita. Neste trabalho, nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4), um óxido de ferro com propriedades magnéticas, recentemente estudado como agente potencializador de proliferação de células ósseas, foram associadas com HA com o objetivo de aumentar processos regenerativos. Este sistema sofreu tratamento hidrotérmico para controlar as propriedades cristalinas do revestimento. Separadamente, Fe_3O_4 e HA são biocompatíveis e, quando combinados, as nanopartículas melhoram vários indicadores de diferenciação de osteoblastos importantes, tais como a síntese de colágeno e a deposição de cálcio, mantendo as suas propriedades magnéticas. Reconhece-se que a química de superfície, a energia de superfície e a topografia da superfície têm uma influência significativa sobre as respostas de osteoblastos. Em particular, nos dias de hoje, os defeitos ósseos de tamanho crítico dependem da engenharia de “scaffolds” que são suportes estruturais em 3D, permitindo a infiltração celular e posterior integração com o tecido nativo. Por esse motivo, o material sintetizado e funcionalizado com SINV foi introduzido em matrizes poliméricas de quitosana. Os compósitos formados apresentaram tamanho médio de partícula de 20 nm (HA-5h) e 18 nm (Fe_3O_4) e 40-100 nm (Fe_3O_4 -HA). Os difratogramas mostraram os picos característicos das fases cristalinas dos compósitos de acordo com a literatura, bem como as bandas de infravermelho.

Palavras-chave: Hidroxiapatita; magnetita; *scaffold*; regeneração óssea.

ABSTRACT

Hydroxyapatite (HA) has been widely used in the biomedical area, especially in orthopedic applications in the treatment of osteoporosis aiming its use as injectable HA nanoparticles can be targeted to various body locations to treat bone defects. The HA is very similar to mineral component of bone material. It is well established that osteoblasts (bone forming cells) grow better on HA-coated metal than for metals isolated. Simvastatin (SIMV) is a drug currently used to reduce cholesterol (oral), but recent studies have shown an interesting ability of this drug to increase the local regeneration process, when combined with hydroxyapatite. In this work, magnetite nanoparticles (Fe_3O_4) with an iron oxide magnetic properties recently studied as potentiating agent proliferation of bone cells, have been associated with HA with the aim of increasing regenerative processes. This system has undergone the hydrothermal treatment for controlling the crystal properties of the coating. Separately, Fe_3O_4 and HA are biocompatible and when combined, the nanoparticles improve several important markers of osteoblast differentiation, such as collagen synthesis and deposition of calcium by keeping their magnetic properties. It is recognized that the surface chemistry, surface energy and surface topography have a significant influence on osteoblast responses. In particular, nowadays, the critical size bone defect depends on the engineering "scaffold" which are structural supports 3D, allowing for cell infiltration and subsequent integration to the native tissue. For this reason, the material synthesized and functionalized with SIMV was added in chitosan polymeric matrices. The formed composite showed average particle size of 20 nm (HA-5h), 18 nm (Fe_3O_4) and 30-70nm (Fe_3O_4 -HA). The XRD patterns showed characteristic peaks of the crystalline phases of the composites according to the literature, as well as the IR bands.

Keywords: hydroxyapatite; magnetite; scaffolds; bone regeneration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Rede Cristalina da hidroxiapatita	25
Figura 2 - Representação da estrutura cristalina da magnetita.....	26
Figura 3 - Esquema hipotético de um sistema carreador de drogas.	32
Figura 4 - Estrutura da quitosana.....	36
Figura 5 - Micrografias de biomateriais em “scaffolds” como suporte para a fixação de células e formação de tecidos.....	38
Figura 6 - Estrutura química da sinvastatina.....	41
Figura 7 - Fluxograma de preparação das nanopartículas magnéticas.....	44
Figura 8 - Nanopartículas de Fe_3O_4 , HA e compósito de Fe_3O_4 -HA respectivamente.	45
Figura 9 - Esquematisação do nanobiocompósito.	47
Figura 10 - Scaffolds de quitosana pura (à direita) e de quitosana com Fe_3O_4 -HA@AO-SINV (à esquerda).	48
Figura 11 - DRX comparativo das amostras de Fe_3O_4 , HA e Fe_3O_4 - HA.....	53
Figura 12 - Gráficos de Williamson-Hall para as amostras de (a) Fe_3O_4 e (b) HA-5h sintetizadas.	56
Figura 13 - Espectros obtidos na região do infravermelho para as amostras de HA-5h, Fe_3O_4 , e Fe_3O_4 -HA.....	58
Figura 14 - Curvas de Magnetização para as amostras de Fe_3O_4 e Fe_3O_4 -HA.....	60
Figura 15 - Imagem mostrando atração das amostras de Fe_3O_4 -HA e Fe_3O_4 pelo ímã.....	61
Figura 16 - Micrografias do MEV do compósito Fe_3O_4 - HA.	63
Figura 17 - Micrografias obtidas do compósito de Fe_3O_4 -HA por microscopia eletrônica de transmissão e seu respectivo gráfico de distribuição de tamanho de partículas.....	65
Figura 18 - Fórmula estrutural do ácido oléico.....	66
Figura 19 - Representação esquemática do sistema Fe_3O_4 -HA@AO-SINV.	66
Figura 20 - FTIR das amostras de Fe_3O_4 -HA e Fe_3O_4 -HA@AO.....	67
Figura 21 - FTIR das amostras de ácido oleico.	68
Figura 22 - TG das amostras Fe_3O_4 - HA e Fe_3O_4 - HA@AO	69
Figura 23 - Espectro de absorção na região do ultravioleta da sinvastatina.	71
Figura 24 - FTIR da sinvastatina recristalizada.	72
Figura 25 - Curva DSC da sinvastatina em atmosfera de nitrogênio e razão de aquecimento de $10^\circ C/min$	74
Figura 26 - FTIR do sistema Fe_3O_4 -HA@AO-SINV em comparação.....	77
Figura 27 - TG comparativo dos compósitos em relação ao sistema Fe_3O_4 -HA@AO-SINV.	78
Figura 28 - Micrografias de MEV com EDX das nanopartículas de Fe_3O_4-HA@AO-SINV	79
Figura 29 - FTIR do <i>scaffold</i> de quitosana 86%.	80
Figura 30 - Microscopias de MEV/EDX da quitosana pura.....	82
Figura 31 - Microscopias de MEV/EDX do compósito/ <i>scaffold</i>	83
Figura 32 - Imagem do <i>scaffold</i> de quitosana adicionada de Fe_3O_4 -HA@AO-SINV sob ação do ímã... ..	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes utilizados bem como suas respectivas fórmulas moleculares, marcas e purezas.	42
Tabela 2 - Resultados dos parâmetros estruturais refinados pelo método de Rietveld para as amostras de HA-5h, Fe ₃ O ₄ e Fe ₃ O ₄ -HA.....	55
Tabela 3 - Bandas de absorção na região do infravermelho da HA, Fe ₃ O ₄ e Fe ₃ O ₄ -HA.....	59
Tabela 4 - Tabela mostrando a magnetização de saturação e tamanho de partícula ajustado pela função de Langevin.	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AO	Ácido Oleico
DRX	Difração de Raios-x
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EDX	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X
HA	Hidroxiapatita
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NP	Nanopartículas
PLGA	Poli (ácido láctico-co-glicólico)
QUIT	Quitosana
SINV	Sinvastatina
TG	Termogravimetria
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	Objetivo geral.....	19
2.2	Objetivos Específicos.....	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1	Biomateriais	20
3.2	Biocompatibilidade	21
3.3	Hidroxiapatita.....	23
3.3.1	<i>Estrutura e propriedades</i>	23
3.4	Magnetita.....	25
3.5	Métodos de obtenção.....	28
3.6	Reações Hidrotérmicas.....	30
3.7	Sistemas Carreadores de Fármacos	31
3.8	Biopolímeros	34
3.9	Quitosana.....	35
3.10	“Scaffolds”	37
3.11	Sinvastatina	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1	Desenvolvimento do nanobiocompósito	42
4.1.1	<i>Síntese da HA via tratamento hidrotérmico</i>	42
4.1.2	<i>Síntese da Magnetita via co-precipitação.</i>	43
4.1.3	<i>Síntese do compósito Fe₃O₄-HA</i>	45
4.1.4	<i>Modificação da superfície da Fe₃O₄-HA com ácido oleico (AO)</i>	46
4.1.5	<i>Extração da sinvastatina de cápsulas farmacêuticas</i>	46
4.1.6	<i>Adsorção de sinvastatina na superfície da Fe₃O₄-HA@AO</i>	46
4.1.7	<i>Preparo dos “scaffolds” de Quitosana com Fe₃O₄-HA@AO-SINV</i>	47
5	CARACTERIZAÇÃO.....	49
5.1	Difração de raios-x.....	49
5.2	Espectroscopia na região do infravermelho	49
5.3	Curvas de Magnetização	49
5.4	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	50

5.5	Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta	50
5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	51
5.7	Calorimetria Exploratória Diferencial.....	51
5.8	Análise Térmica	51
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
6.1	DRX	52
6.2	Espectroscopia na Região do Infravermelho.....	57
6.3	Medidas de Magnetização.....	59
6.4	MEV.....	62
6.5	MET	64
6.6	Caracterização do material funcionalizado Fe ₃ O ₄ -HA@AO.....	65
6.7	Caracterização da sinvastatina	70
6.8	Incorporação da sinvastatina em Fe ₃ O ₄ -HA@AO	76
6.9	Adição da Fe ₃ O ₄ -HA@AO-SINV em scaffolds de Quitosana.....	79
7	CONCLUSÃO.....	85
8	PUBLICAÇÕES NO PERÍODO DE MESTRADO	86
8.1	Artigo Submetido	86
8.2	Trabalhos/resumos publicados em anais de congresso	86
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

1 INTRODUÇÃO

A osteoporose tem sido recentemente reconhecida como um dos maiores problemas de saúde pública do mundo (MITCHELL; GRANT; AITCHISON), devido à alta taxa de mortalidade relacionadas com fraturas, particularmente entre mulheres idosas (PAIVA et al., 2002). A osteoporose é uma doença esquelética sistêmica caracterizada por diminuição da massa óssea e deterioração do tecido ósseo, com consequente aumento da fragilidade óssea e susceptibilidade à fratura (CHESNUT, 1984; NAVAS, 2002; RENNÓ ACM, 1993; SINAKI, 1982).

A perda de massa óssea é uma consequência inevitável do processo de envelhecimento (NORDIN, 1995). Entretanto, no indivíduo com osteoporose a perda é tão significativa que a massa óssea cai abaixo do limiar para fraturas, principalmente em determinados locais, como quadris, vértebras e antebraços (BREWER et al., 1983; CHESNUT, 1984; WHEDON, 1981). Uma redução de massa óssea pode ocorrer especialmente em mulheres após a menopausa (LUKERT, 1984; WHEDON, 1981). O osso é formado, predominantemente, pelo colágeno do tipo I, onde se depositam cálcio e fósforo na forma de cristais de hidroxiapatita. A resistência óssea depende da deposição mineral (SZEJNFELD, 2001).

As unidades de remodelação são independentes e individuais, compondo-se cada uma de osteoblastos e osteoclastos, para formação e reabsorção, respectivamente (P.G., 1997). Os osteoclastos são células sinciciais gigantes, que estão presentes principalmente nas partes mais altas das lacunas de reabsorção dos ossos trabeculares (P.G., 1997). Os osteoblastos são as células responsáveis pela formação da matriz que será posteriormente mineralizada. Entre as substâncias que produz, podemos citar a fosfatase alcalina, a proteína GLA, grandes quantidades de colágeno do tipo I e uma variedade de outras proteínas da matriz (P.G., 1997). Mudanças contínuas acontecem em todos ossos ao longo da vida. Estas acontecem em ciclos e são atribuídas à atividade dos grupos de osteoclastos e osteoblastos.

Osteoclastos aparecem na superfície do osso e são responsáveis pela reabsorção, que é o processo por meio do qual os cristais de fosfato de cálcio são removidos do osso e são

absorvidos pelo sangue. Depois que a fase de reabsorção é completada, os osteoblastos aparecem e são responsáveis pela formação de osso novo (CHESNUT, 1984; FRAME, 1985; LUKERT, 1984).

No Brasil, há escassez de dados referentes à população acometida pela osteoporose (RENNÓ, 2001). Estima-se que aproximadamente 10 milhões de brasileiros sofram com osteoporose no país (**International Osteoporosis Foundation (OIF)**, 2004), sendo que 2,4 milhões sofrem fraturas anualmente e destes, cerca de 200 mil morrerão em decorrência direta de suas fraturas (**International Osteoporosis Foundation (OIF)**, 2004). Calcula-se que a osteoporose afete cerca de 35% das mulheres acima de 45 anos de idade em nosso país (PAIVA et al., 2002).

Os primeiros estudos sobre a utilização de materiais cerâmicos como biomateriais começaram com Albee em 1930 (ALBEE, 1920), utilizando uma cerâmica de fosfato tricálcico para regenerar um defeito ósseo e para a formação de osso novo. Entretanto, somente 50 anos depois começaram a aparecer diferentes tipos de cerâmicas de fosfato de cálcio como materiais implantáveis para aplicação em medicina e odontologia.

A grande aceitação das biocerâmicas à base de sais de fosfato de cálcio deve-se, principalmente, ao seu alto grau de biocompatibilidade, que está relacionada com a sua similaridade química a dos materiais normalmente encontrados no tecido ósseo (DAVIES, 1990). Entre as cerâmicas com melhor desempenho, estão os biovidros, a alumina, o beta-fosfato tricálcico (β -TCP) e a hidroxiapatita (HA) (HENCH, 1991). Desta forma o grande interesse pela HA como biomaterial, está relacionado com o fato desta ser a principal fase mineral encontrada no tecido ósseo e ter alta biocompatibilidade (OGUCHI et al., 1995).

HA é um material muito semelhante ao mineral componente do osso. Está bem estabelecido que os osteoblastos (células formadoras do osso) crescem melhor em metais revestidos por HA do que para os metais sozinhos (COSTA-LOTUFO, 2010). Com a criação de características de rugosidade superficial em nanômetros a HA pode aumentar ainda mais a adesão dos osteoblastos, a proliferação e diferenciação, para fornecer mais rápido a regeneração do osso (NEER et al., 2001). A HA também foi testada clinicamente para a prevenção de osteoporose (WEBSTER et al., 2000; WEBSTER; SIEGEL; BIZIOS, 1999). A literatura reporta que os compostos de HA retardaram mais eficazmente a

perda de osso em comparação com pacientes não tratados (WHEDON, 1981) ou doentes tratados com carbonato de cálcio (WEBSTER et al., 2000). No entanto, estes tratamentos tiveram significativos inconvenientes, uma vez que aumentou a formação óssea não específica. No estudo atual, a combinação de HA com nanopartículas de Fe_3O_4 como um agente de crescimento ósseo e magneticamente controlada foi explorada. A presença de sinvastatina em compósitos cerâmicos de fosfatos de cálcio tem se mostrado bastante efetivo no processo de regeneração óssea (ROJBANI et al., 2011). Acredita-se que esta estratégia de entrega pode proporcionar uma forma direta e mais eficaz para tratar a osteoporose.

A magnetita (Fe_3O_4) juntamente com a hidroxiapatita (HA) possibilitou em vários estudos um aumento das funções de osteoblastos, permitindo assim uma maior regeneração óssea comparado com HA somente (TRAN; HALL; WEBSTER, 2012).

A sinvastatina faz parte dos antipilênicos, é amplamente utilizado para reduzir o colesterol, e proporciona uma abordagem importante e eficaz para o tratamento da hiperlipidemia e arteriosclerose. Também parecem modular a formação do osso, aumentando a expressão de proteína morfogenética do osso (MUNDY et al., 1999), proporcionando assim uma nova orientação no campo da terapia periodontal. Foram realizados estudos comprovando a ação da sinvastatina associada à HA na formação óssea (ROJBANI et al., 2011). Assim, estuda-se a possível utilização desses medicamentos na medicina, os quais poderiam vir a atuar, por exemplo, no reparo de defeitos ósseos causados por lesões intra-ósseas, em fraturas ou como adjuntos na terapia periodontal e auxiliando nos processos de osseointegração (ANBINDER; QUIRINO; ROCHA, 2006) .

A quitosana é um polímero bastante utilizado na área biomédica, tem uma larga escala de aplicações e podem ser usadas, por exemplo, em engenharia e biomedicina e isto se deve a facilidade de moldagem da quitosana e seus derivados, fazendo desse material um forte candidato a portador de uma variedade de drogas para sua liberação controlada (AZEVEDO, 2007). Desta forma, segundo os autores, a aplicação mais evidente se dá na área farmacêutica. A quitosana pode atuar na prevenção de formação de “biofilmes” de microrganismos (crescimento de fungos e bactérias) em procedimentos ou dispositivos de implantes (AZEVEDO, 2007).

Neste estudo, foi feita uma direção inovadora, baseada em nanopartículas como agentes terapêuticos que podem fornecer um tratamento mais eficiente e direto para defeitos do osso, tais como a osteoporose.

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Desenvolvimento de um nanobiocompósito com nanopartícula magnética (magnetita) e uma biocerâmica (hidroxiapatita), funcionalizada com ácido oleico, adsorvida com sinvastatina para a utilização em regeneração óssea.

2.2 *Objetivos Específicos*

- ❖ Sintetizar nanopartículas magnéticas de magnetita pelo método de co-precipitação;
- ❖ Produzir o nanobiocompósito pela associação da magnetita e hidroxiapatita ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$) em ácido oleico e sinvastatina, pelo método de co-precipitação;
- ❖ Obtenção de *scaffolds* de quitosana contendo o nanocompósito e posterior estudo de adsorção da sinvastatina.
- ❖ Através de técnicas de caracterização (DRX, FTIR, VSM, MET, MEV, UV, TG e DSC) identificar o composto formado, tamanho de partícula, homogeneidade, morfologia e propriedades magnéticas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Biomateriais*

Por definição, biomaterial é qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou não, que não sejam drogas ou fármacos, utilizado em aplicações biomédicas e que interagem com sistemas biológicos, tratando, aumentando ou substituindo quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (OLIVEIRA, L. S. D. A. F. O., C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P., 2010). Metais, cerâmicos, polímeros, compósitos e semicondutores são exemplos de biomateriais (CALLISTER JR., 2010). Estes devem apresentar um conjunto de propriedades físicas, químicas e biológicas que permitam desempenhar a função desejada, além de estimular uma resposta adequada dos tecidos vivos (GUASTALDI; APARECIDA, 2010).

O desenvolvimento de implantes médicos e odontológicos tem dado incentivo à pesquisa de biomateriais bem como das reações que ocorrem na interface tecido-implante. Inicialmente, utilizavam-se materiais inertes como os aços inoxidáveis e a alumina. Com a introdução do conceito de osteointegração como sendo a ligação direta, estrutural e funcional entre osso ordenado e vivo e a superfície de um implante sujeito a cargas funcionais, as pesquisas passaram a se concentrar em materiais e projetos, visando diminuir o tempo necessário para a aposição óssea e maior biocompatibilidade, que pode ser definida como a habilidade de um material desempenhar com uma resposta tecidual apropriada em uma aplicação específica (SILVA, 2006)

Biocerâmicas apresentam alto grau de bioatividade. Por outro lado, possuem propriedades mecânicas, em geral, não adequadas à necessidade de produção de implantes para fins estruturais. Cerâmicas são caracterizadas por apresentar baixa tenacidade à fratura e altos módulos de elasticidade quando comparadas com o osso cortical humano que comprometem o uso e processamento desses materiais para aplicações biomédicas. Como solução para a necessidade de produção de materiais bioativos com propriedades mecânicas mais comparáveis à de tecidos como o osso cortical, pode ser citada a produção de compósitos envolvendo a fase bioativa (cerâmica) e um segundo componente (SILVA JUNIOR; ORÉFICE, 2001).

Surge assim a produção de materiais que apresentem o comportamento bioativo típico de cerâmicas bioativas (capacidade de ligação com tecidos), além de possuir propriedades mecânicas comparáveis à de tecidos como o osso. Estudos levaram à preparação de compósitos de matriz polimérica reforçados por fases cerâmicas bioativas. Nesse caso, tais fases seriam responsáveis não apenas por reforçar a matriz polimérica, mas também por prover as características bioativas desejadas. Portanto, muitos estudos estão relacionados a uma linha de pesquisa voltada para o desenvolvimento de biomateriais capazes de elucidarem respostas inflamatórias e imunológicas controladas quando em contato com tecidos vivos (SILVA JUNIOR; ORÉFICE, 2001).

3.2 *Biocompatibilidade*

A biocompatibilidade chamou a atenção dos pesquisadores, inicialmente, entre 1940 e 1980, no contexto de implantes médicos e sua interação, ambos prejudiciais e/ou benéficos, com o corpo. Apenas nas últimas duas décadas, o termo foi definido formalmente sob sua denotação conceitual ao invés de descrição prática (WILLIAMS, . D.F. , 2008): "A capacidade de um material de realizar com uma resposta do hospedeiro apropriado numa situação específica" (DONARUMA, 1988). Há três dogmas que desempenham um papel importante nesta definição: Um material tem de desempenhar as suas funções pretendidas e não apenas estar presentes no tecido; A reação tem que ter indução adequada para a aplicação pretendida, e a natureza da reação para um material particular e a sua adequação pode ser diferente de um contexto para o outro (WILLIAMS, D.F., 1999). Em 2010, Kohane e Langer explicaram a biocompatibilidade no contexto da entrega da droga e definiu como biocompatibilidade: "Expressão da benignidade da relação entre o material e seu ambiente biológico" (KOHANE; LANGER, 2010). No entanto, alguns pesquisadores têm expandido essa definição denotando a funcionalidade de um biomaterial em um dado contexto biológico tão importante (KOHANE; LANGER, 2010). Como tal, Williams reviu o conceito de biocompatibilidade para dispositivos médicos implantáveis de longo prazo e produtos de engenharia de tecidos em detalhes (WILLIAMS, . D.F. , 2008).

Em geral, um grau elevado de biocompatibilidade é alcançado quando um material interage com o corpo, sem induzir respostas tóxicas, imunogênica trombogênico, e cancerígenos inaceitáveis. Há uma série de fatores relevantes que devem ser considerados para a avaliação da biocompatibilidade. Em primeiro lugar, a biocompatibilidade é anatomicamente bastante dependente, que conduz ao fato de que as reações a materiais particulares são diferentes de um local para outro. Por exemplo, nanobases poliméricas biodegradáveis e microesferas, tais como as baseadas em poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), em geral, fazem reação tecidual leve bem caracterizada, enquanto que as mesmas partículas introduzidas no tecido conjuntivo frouxo de nervos circundantes causam inflamações agudas bastante fortes (J.M. ANDERSON, 2008; JIANG et al., 2005; KOHANE; LANGER, 2010; NICOLETE; DOS SANTOS; FACCIOLI, 2011).

Portanto, outro fato a ser considerado é que se um biomaterial para uma determinada aplicação pode causar um efeito adverso em um tipo de tecido específico, não vai necessariamente provocar a mesma resposta se for utilizado para uma aplicação diferente, ou em um tipo de tecido diferente. Em segundo lugar e considerando uma perspectiva inter-relacionada, as características intrínsecas dos biomateriais não poderá exclusivamente determinar que se o material é biocompatível ou não. Por exemplo, nanopartículas de PLGA que possui uma rápida depuração do corpo, não costumam causar adesão peritoneal, enquanto que micropartículas de PLGA, que ficam mais tempo na cavidade peritoneal, causam aderências (KOHANE; LANGER, 2010; LIU, S.; MAHESHWARI; KIICK, 2009).

A exposição de meia-vida é outro fator importante que merece consideração. Em terceiro lugar, a biocompatibilidade é uma questão relativa que depende da relação risco-benefício, e se baseia em uma declaração subjetiva, pois, em geral, a inflamação iria desaparecer totalmente ao longo do tempo, e os tecidos vizinhos não exemplificam uma boa prova de danos. Por último, mas talvez o mais importante, a falta de dados adequados sobre processos biológicos em resposta a materiais estranhos, bem como a natureza insensível dos métodos disponíveis para a biocompatibilidade (JIANG et al., 2005; NAKAMURA et al., 1989; NICOLETE et al., 2011; O'HAGAN; SINGH, 2003) tem limitado a compreensão dos materiais. Podemos concluir que a biocompatibilidade dos materiais depende de sua estrutura, a formulação e muitos outros fatores como descrito acima, e pode referir-se a um efeito local ou total sobre o organismo. Deste modo, utilizando materiais biocompatíveis em sentido

absoluto faria parecer enganosa (JIANG et al., 2005; NAKAMURA et al., 1989; NICOLETE et al., 2011; O'HAGAN; SINGH, 2003).

3.3 Hidroxiapatita

Entre as biocerâmicas, a HA tem sido intensamente investigada por décadas e ocupa posição de destaque por sua larga aplicação no campo da medicina e da odontologia devido à sua biocompatibilidade e bioatividade (ROSSI, 2008).

A HA é um fosfato cerâmico – ou biocerâmica – que tem composição e estrutura similar à fase mineral de ossos e dentes. Dependendo de sua pureza, ela pode suportar aquecimentos superiores a 1.200 °C sem se decompor, além de, poder ser modelada como a maioria dos materiais cerâmicos (ROSSI, 2008).

A hidroxiapatita sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna um bom substituto ósseo e dentário em implantes e próteses, daí o grande interesse em sua produção. Estas propriedades somadas à sua alta capacidade de adsorver e/ou absorver moléculas fazem da HA um excelente suporte para ação prolongada de drogas anticancerígenas no tratamento de tumores ósseos (C.V. SOUZA; H. L. LIRA, 2009).

3.3.1 Estrutura e propriedades

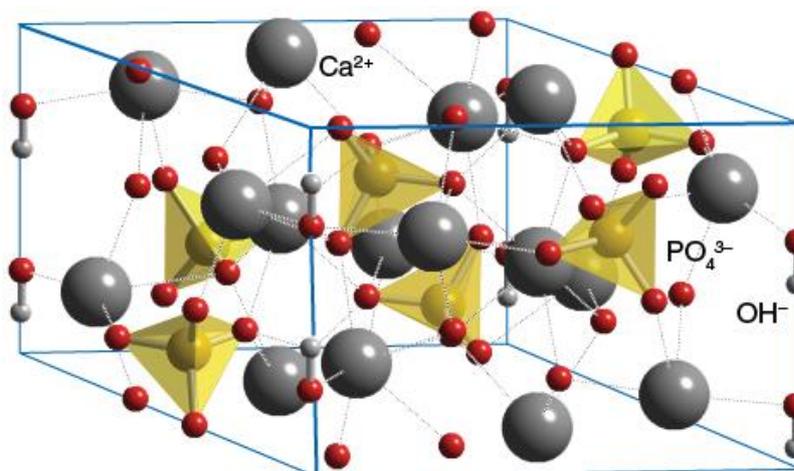
A HA apresenta fórmula química $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, podendo ser escrita também como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, mostrando a existência de 2 unidades de fórmula na célula unitária. Cristaliza-se quando pura sob a forma monoclinica com espaçamento do grupo espacial P_{21}/b ; no entanto, em temperaturas acima de 250°C existe a transição alotrópica da forma monoclinica para hexagonal com grupo espacial P_{63}/m , onde P indica que é um sistema hexagonal primitivo. Algumas impurezas ou substituições parciais da hidroxila por íons cloreto ou fluoreto,

estabilizam a forma hexagonal a temperatura ambiente. Por esse motivo, monocristais naturais de HA geralmente exibem uma conformação hexagonal.

Sua densidade é de $3,16 \text{ Kg/m}^3$ e os parâmetros de rede são $a = b = 9,43 \text{ \AA}$, $c = 6,88 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 120^\circ$ (C.V. SOUZA; H. L. LIRA, 2009; GUASTALDI; APARECIDA, 2010). A célula unitária hexagonal da hidroxiapatita contém 10 íons cálcio localizados em sítios não equivalentes, quatro no sítio I, tetraédricos (CaI) e seis no sítio II, octaédricos (CaII). Os íons cálcio no sítio I estão alinhados em colunas, enquanto os íons cálcio do sítio II estão em triângulos equiláteros perpendiculares à direção c da estrutura. Os cátions do sítio I estão coordenados a 6 átomos de oxigênio pertencentes a diferentes tetraedros de PO_4 e também a 3 outros átomos de oxigênio relativamente distantes. A existência de dois sítios de íons cálcio traz consequências importantes para as HAs que contém impurezas catiônicas, pois suas propriedades estruturais podem ser afetadas dependendo do sítio ocupado pelo cátion da impureza (MAVROPOULOS, 1999).

Os átomos de cálcio e fósforo formam um arranjo hexagonal no plano perpendicular ao eixo cristalino de mais alta simetria (eixo c). Colunas constituídas pelo empilhamento de triângulos equiláteros de íons óxidos (O^{2-}) e de íons cálcio (Ca^{2+}) estão ligados entre si por íons fosfato. Os átomos de oxigênio dos íons hidroxila estão situados a $0,9 \text{ \AA}$ abaixo do plano formado pelos triângulos de cálcio e a ligação O-H forma um ângulo de aproximadamente 30° com a direção c . Dos quatro átomos de oxigênio que constituem os grupos fosfatos, dois estão situados em planos perpendiculares à direção c e os outros dois são paralelos a esta direção (C.V. SOUZA; H. L. LIRA, 2009). A Figura 1 mostra o arranjo de uma célula unitária da HA.

Figura 1 - Rede Cristalina da hidroxiapatita



Fonte: (<http://www.chemtube3d.com/solidstate/SShydroxyapatite.htm>, acessado em 10/03/2014.)

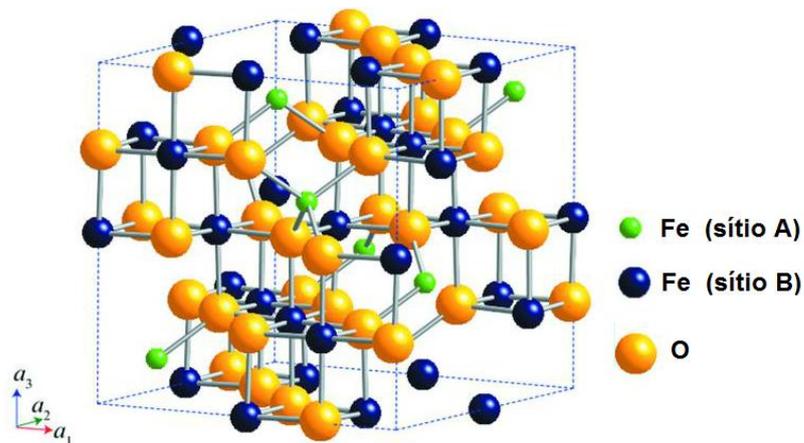
Os tetraedros dos grupos PO_4 estão arranjados de tal forma que possibilitam a formação de dois tipos de canais perpendiculares ao plano basal. O primeiro canal com diâmetro de 2\AA é paralelo aos eixos ternários e são ocupados por átomos de Ca(I) . Em cada célula unitária, encontram-se 2 canais ocupados por íons Ca(I) que estão localizados em $z = 0$ e $z = \frac{1}{2}$ do parâmetro de rede cristalino. O segundo canal que tem diâmetro de $3,0$ a $3,5\text{\AA}$, é constituído por íons Ca(II) e estão localizados em $z = \frac{1}{4}$ e $z = \frac{3}{4}$. No interior desses canais dá-se a distinção entre a forma hexagonal e a monoclinica. Na estrutura hexagonal o grupo hidroxila ocupa apenas 50% das posições estatisticamente possíveis. Deformações na rede causadas pelo deslocamento das hidroxilas tornam a estrutura monoclinica, um arranjo mais fechado, com grupo espacial $P_{21/b}$. Exceto a posição do grupo OH , todas as outras posições atômicas na $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, são essencialmente iguais (MAVROPOULOS, 1999).

3.4 Magnetita

A magnetita é um óxido de ferro magnético de valência mista com estrutura cúbica de espinélio inverso, sua fórmula química é melhor representada por $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$. A estrutura do tipo espinélio tem fórmula geral dada por $(\text{A})[\text{B}]_2\text{O}_4$. Cada célula unitária (Figura 2) é

constituída pela fórmula $A_8B_{12}O_{32}$ e apresenta os íons oxigênio regularmente distribuídos em posições cúbicas ao longo do eixo [111]. Os cátions divalentes, no caso da magnetita Fe^{2+} , e os cátions Fe^{3+} ocupam os espaços entre os íons oxigênio, sendo estes espaços de dois tipos, os sítios tetraédricos e os octaédricos. O sítio tetraédrico ou sítio (A) é assim chamado porque o cátion encontra-se no centro do tetraedro que tem como vértices os íons oxigênio. O sítio octaédrico (sítio B) tem os oxigênios ocupando os vértices de um octaedro e os cátions ocupando os espaços entre eles. A magnetita apresenta metade dos íons Fe^{3+} coordenados tetraedricamente, a outra metade ocupa os sítios octaédricos juntamente com os íons Fe^{2+} (TEBBLE R. S., 1969).

Figura 2 - Representação da estrutura cristalina da magnetita



Fonte: (OKUBE; YASUE; SASAKI, 2012)adaptado.

Dentre as várias aplicações das nanopartículas magnéticas uma que se destaca é o transporte de fármacos através da aplicação de um campo magnético que permite direcionar sua localização para um alvo específico. A utilização de nanopartículas magnéticas como carregadores de fármacos visa a redução de muitos problemas relacionados à administração sistêmica destes medicamentos. Estes incluem a biodistribuição de fármaco no corpo, a falta de

especificidade, a necessidade de grandes doses para alcançar altas concentrações locais e outros efeitos colaterais derivados desse último (CATHERINE; ADAM, 2003; FARAJI; WIPF, 2009).

Em geral, grandes partículas ou aglomerados de partículas superparamagnéticas, resistem ao fluxo dinâmico dentro do sistema circulatório, principalmente em grandes veias e artérias. Partículas superparamagnéticas são atraídas fortemente por um campo magnético, mas, assim que esse campo é removido, sua magnetização é reduzida a zero, não apresentando magnetização residual (G.C. HADJIPANAYIS, 1991). As partículas com diâmetros em torno de 200 nm são facilmente sequestradas pelo fígado e eventualmente são removidas por células de fagocitose do sistema, portanto, seu tempo de circulação no sangue será reduzido. Partículas menores que 10 nm, são rapidamente removidas através de liberação renal. As partículas que têm diâmetros entre 10 e 100 nm são pequenas o suficiente para penetrar pequenos capilares dos tecidos, oferecendo uma distribuição mais efetiva nos tecidos, além de apresentam um maior tempo de circulação no sangue (CATHERINE; ADAM, 2003; PANKHURST et al., 2003).

Recentemente, a utilização de nanopartículas magnéticas (NPMs) para efeitos biológicos e médicos tem aumentado e sua biocompatibilidade tem sido observada por diversos estudos (JAIN et al., 2008; PRIJIC et al., 2010; SUN et al., 2010). NPMs são aplicáveis em diversas áreas na medicina (por exemplo, a hipertermia, o contraste agente de ressonância magnética, a entrega de droga e receptor manipulado de célula mecânico-sensitiva para induzir a diferenciação celular), enquanto que apenas alguns autores propuseram abordagens para a sua utilização em engenharia de tecidos (AMIRFAZLI, 2007; ARRUEBO et al., 2007; GLOSSOP; CARTMELL, 2010; GOULD, 2006; KANCZLER et al., 2010). Existem várias limitações para a aplicação clínica de um campo magnético para a terapia específica de uma droga magnética ou de entrega de células. Na verdade, uma vez que o gradiente magnético diminui com a distância do alvo, a principal limitação da entrega magnética refere-se a força do campo externo, que pode ser aplicado para obter o gradiente magnético necessário para controlar o tempo de residência de NPMs na área desejada ou que desencadeia a dessorção da droga (FOY et al., 2010; HUA et al., 2010). As limitações inerentes à utilização de campos magnéticos externos podem ser contornados por introdução de magnetos internos localizados na proximidade do

alvo por cirurgia minimamente invasiva ou usando um scaffold superparamagnético sob a influência de um campo magnético aplicado externamente (PHILLIPS; GRAN; PEPPAS, 2010; POLYAK et al., 2008). Os scaffolds atuarão eficazmente como uma estação fixa que proporciona, em longo prazo, a manutenção para as construções de tecidos implantados, proporcionando a possibilidade única de ajustar a atividade dos scaffolds para as necessidades pessoais do paciente, superando as presentes dificuldades de orientação magnética. Com isso em mente, tem-se desenvolvido compósitos magnéticos totalmente interligados a scaffolds porosos, bem como cerâmicas (hidroxiapatita), por uma técnica de "espuma", em que diferentes concentrações de nanopartículas de magnetita foram adicionadas durante a síntese (PANSERI et al., 2012).

3.5 *Métodos de obtenção*

Um grande número de técnicas foi desenvolvido para a síntese do pó de HA (SANTOS et al., 2005), sendo os principais métodos de obtenção através de reações no estado sólido (PRAMANIK et al., 2007), co-precipitação (KONG; MA; BOEY, 2002), reações hidrotérmicas (TOYAMA; NAKASHIMA; YASUE, 2002; WANG et al., 2010), sol-gel (CHEN, J. et al., 2011), microemulsões (PONOMAREVA et al., 2010) e mecanossíntese (ALMEIDA et al., 2004). Para cada rota são sintetizados produtos com diferentes características e propriedades.

O método seco tem a grande vantagem de atingir uma composição estequiométrica (Ca/P = 1,67) em comparação com o método por via úmida. O método úmido é realizado através de precipitação a partir de misturas de soluções aquosas ou de hidrólise dos fosfatos de cálcio. A HA obtida pelo processo úmido geralmente possui uma elevada área superficial e tamanho de partícula menor, no entanto, são não-estequiométricas (Ca deficiente) e de baixa cristalinidade. Por outro lado, pós de HA com várias razões de Ca/P (1,50 – 1,67) podem ser obtidos facilmente a partir da síntese hidrotérmica (LIU, H. S. et al., 1997).

O método de síntese adotado para a obtenção de HA ou o seu tratamento posterior pode levar ao aparecimento ou não de outras fases de compostos de fosfato de cálcio. Estando presentes, podem ser detectadas através das análises de difração de raios-X. Normalmente, estas fases apresentam-se em quantidades pequenas (ao redor de 5%) em compostos comerciais. Entretanto, é preciso tomar certas precauções para controlar a quantidade destes compostos, uma vez que estes possuem propriedades extremamente diferentes da hidroxiapatita, podendo comprometer a osteocondução, como no caso do surgimento de pirofosfato de cálcio ou metafosfato de cálcio, ou ainda comprometer a integridade e eficiência mecânica do material em função de sua solubilização (COSTA et al., 2009).

Entre os vários processos químicos por via úmida para a produção de nanopartículas de HA com alta dispersão e diferentes morfologias, a síntese hidrotérmica se revela um dos métodos mais viáveis (L. WANG, 2010). Este é idêntico ao método de precipitação em solução aquosa, mas são usadas nestas sínteses temperaturas e pressões moderadamente elevadas. Em particular, o método hidrotérmico provou ser um método eficaz e conveniente para a preparação de vários materiais inorgânicos como será explorado no tópico 3.6 a seguir.

A magnetita pode ser obtida principalmente pelo método de co-precipitação. Este método baseia-se na formação estequiométrica de soluções aquosas formadas pelos cátions metálicos constituintes da estrutura de espinélio formada após a reação. A referida solução é formada por sais de Fe^{3+} e Fe^{2+} obedecendo a uma relação estequiométrica de 2:1, respectivamente. Exemplos de cátions divalentes que podem ser utilizados substituindo o íon Fe^{2+} na formação de ferritas mistas são Ni^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} dentre outros.

São utilizados diversos procedimentos sequenciais de síntese para a obtenção de ferritas por essa rota (FERREIRA, 2009; RIBEIRO, 2008). Entretanto, geralmente o processamento inicial é a dissolução de quantidades estequiométricas dos sais em água seguida pela adição de um agente precipitante. Usualmente, se utilizam os hidróxidos de sódio (NaOH) ou amônio (NH_4OH), todavia outros agentes precipitantes podem ser utilizados (AQUINO et al., 2002). Como objetivo de tornar o meio alcalino, fazendo com que os sais precipitem na forma de óxidos. Estes podem passar ainda por vários processos tais como filtração, lavagem, centrifugação, secagem etc. Em alguns casos, ao término de todos os processos citados anteriormente, o material obtido passa por processos de aquecimento em altas temperaturas,

como a calcinação para que haja a formação do óxido de ferro em forma de espinélio. Entretanto, nem todas as ferritas necessitam de tal processo. Dentre elas, podemos citar a Fe_3O_4 (FERREIRA, 2009) no qual promove a cristalização do material sem a necessidade do processo de calcinação. Para a síntese da magnetita (Fe_3O_4) dispensa-se de um gasto elevado de energia, diminuindo os custos de obtenção em relação a outros métodos.

O método da co-precipitação traz uma série de vantagens e representa um grande avanço para a obtenção de ferritas uma vez que este promove elevada homogeneidade do material obtido, além de uma baixa distribuição do tamanho de partícula (VALENZUELA, 1994). Além disso, o tempo de síntese se inclui em suas principais vantagens, pois a Fe_3O_4 pode ser obtida em menos de 24h.

3.6 Reações Hidrotérmicas

A síntese de materiais cerâmicos envolvendo processos hidrotérmicos baseia-se no aquecimento da suspensão formada pelos precursores metálicos sob condições de elevada temperatura e pressão. Desta forma, os processos de nucleação e crescimento são conduzidos a formarem partículas com tamanho reduzido além do controle da morfologia apenas variando parâmetros tais como temperatura e tempo (ZHAO, 2002).

O termo hidrotérmico implica na ocorrência de reações em meio aquoso submetidas a elevadas temperaturas ($T > 25^\circ\text{C}$) e pressões ($P > 100 \text{ kPa}$) (SUCHANNEK, 2006). Tais condições propiciam materiais com elevada cristalinidade diretamente em solução. Este método apresenta uma série de vantagens sobre os métodos convencionais e não-convencionais devidos a sua versatilidade no preparo de materiais cerâmicos. Outra importante característica é a precipitação do pó já cristalino diretamente na solução. Portanto, é possível regular a taxa e a uniformidade da nucleação, crescimento e envelhecimento, para promover o controle do tamanho e morfologia do cristal, além de reduzir os níveis de agregação dos mesmos (RIMAN, 1993).

3.7 *Sistemas Carreadores de Fármacos*

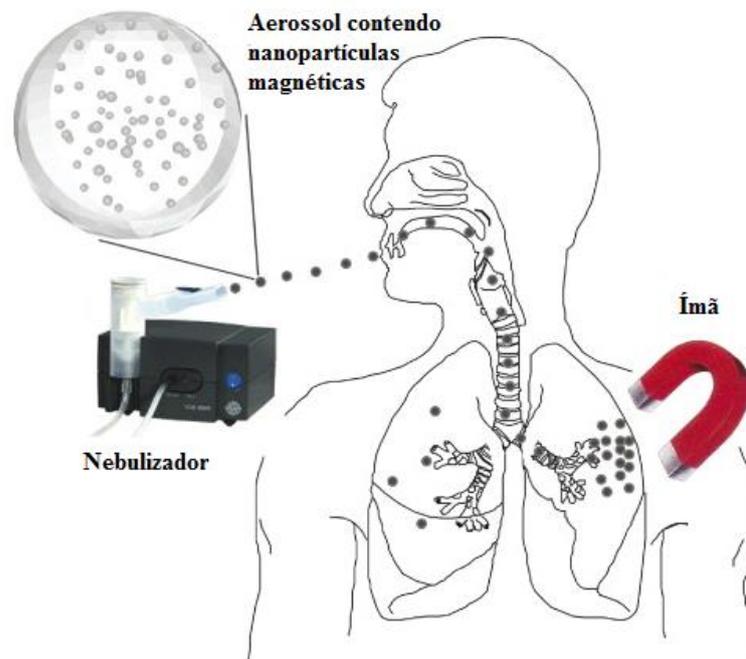
Paul Ehrlich (1854-1915) foi o primeiro pesquisador a propor que em ação de medicamentos de forma eficaz, o princípio ativo deveria ser seletivo e somente atacar o organismo ou agente causador da doença. Para isso, ele também idealizou que um agente ativo poderia ser entregue juntamente com o agente de seletividade, ou seja, uma espécie de transporte para conduzir o agente ativo até o alvo (ARRUEBO et al., 2007). Diante disto, várias formulações envolvendo nanomateriais foram propostas para sistemas carreadores de fármacos. Dentre elas, podemos citar a utilização de dendrímeros, micelas, emulsões, lipossomas e nanopartículas magnéticas (VARANDAN, 2008).

No entanto, esta última merece grande destaque, pois se apresenta como um vetor sensível a estímulos externos. Inicialmente, as nanopartículas magnéticas foram utilizadas como agente de contraste para terapia de radiação localizada, como por exemplo, as imagens de ressonância magnética ou tomografias computadorizadas (MEYERS; CRONIC; NICE, 1963) e para induzir oclusão vascular de tumores (ALKSNE; FINGERHUT, 1965). Somente em 1970, em trabalho desenvolvido por Freeman e colaboradores (FREEMAN; ARROTT; WATSON, 1960), foi publicado o primeiro artigo visando à utilização de nanopartículas magnéticas como sistema carreador de um agente ativo. Desde então, vários trabalhos foram desenvolvidos utilizando partículas magnéticas para o direcionamento de fármacos a um local específico (ARRUEBO et al., 2007).

Sistemas nanoparticulados apresentam uma série de vantagens quanto a sua utilização para sistemas carreadores de fármacos, tais como o transporte do fármaco a um sítio alvo desejado e a redução da quantidade de fármaco utilizado na formulação. É extremamente importante controlar a quantidade administrada da droga, pois acarretará numa redução da concentração no sítio alvo, reduzindo os efeitos colaterais (RITTER et al., 2004). Consequentemente diminui um dos principais problemas em tratamentos contra o câncer, onde a administração do fármaco ocorre em elevadas concentrações que podem afetar também as células normais, devido sua baixa especificidade (FARAJI; WIPF, 2009). Contudo, compósitos carreadores contendo nanopartículas magnéticas em sua formulação apresentam uma vantagem adicional que é a possibilidade de direcionamento específico através de um campo magnético

externo (LATHAM; WILLIAMS, 2008). Um esquema hipotético de um sistema nanoparticulado carreador de fármacos sendo guiado por um campo magnético externo é apresentado na Figura 3.

Figura 3 - Esquema hipotético de um sistema carreador de drogas.



Fonte:(PLANK, 2008) adaptado.)

A utilização de nanopartículas magnéticas como sistemas carreadores de fármacos devem ser controlada devido a limitações relacionadas ao seu tamanho, propriedades magnéticas e biocompatibilidade (ARRUEBO et al., 2007). Para diminuir efeitos colaterais aumentando sua biocompatibilidade, pode-se revesti-lo com outros compostos biocompatíveis (VARANDAN, 2008). Assim, seu uso em formulações de sistemas nanoparticulados para tratamentos contra o câncer continua sendo de interesse. Uma das propriedades magnéticas de partículas de óxido de ferro essenciais para uso biomédico é que esta apresenta o superparamagnetismo, pois desta forma, após a retirada do campo magnético, as nanopartículas não tendem a se aglomerar causando uma possível embolização dos vasos capilares

(ARRUEBO et al., 2007). Por fim, o tamanho das nanopartículas influencia diretamente em sua eliminação do organismo (SUN et al., 2010). Neste caso, tamanhos menores que 5,5 nm são rapidamente removidas através da depuração renal (SOO CHOI et al., 2007), enquanto que nanopartículas maiores que 200 nm são acumulados no fígado e baço (CHEN, L. T.; WEISS, 1973). Assim, é possível inferir que as nanopartículas magnéticas devem ser pequenas o suficiente para evitar a rápida filtração esplênica, mas suficientemente grande para evitar a depuração renal. Portanto, a faixa ideal de tamanho para sistemas carreadores de fármacos localiza-se entre 5,5 e 200 nm.

Adicionalmente, é importante ressaltar a possibilidade dos tratamentos simultâneos de hipertermia magnética e entrega de fármacos. Trabalhos na literatura (EDELMAN et al., 1985; KOST et al., 1985; KOST; WOLFRUM; LANGER, 1987) publicados na década de 80 já mostravam a utilização de campo magnético para controlar a liberação do fármaco encapsulado em matriz polimérica. Juntamente com isso, uma série de fármacos de atividade conhecida contra células cancerígenas, como a doxorrubicina e o paclitaxel, tem sido usados em formulações de sistemas nanoparticulados carreadores de fármacos (WIDDER; SENYEL; SCARPELLI, 1978; ZHANG et al., 2011). Contudo, novos fármacos como a piplartina, biflorina e o pisosterol (COSTA-LOTUFO, 2010) vêm sendo descobertos e testados para verificar suas ações contra várias células de linhagens tumorais diferentes.

Adicionalmente, recentes estudos demonstram que nanopartículas magnéticas podem ser utilizadas para gerar calor intenso dentro de uma matriz polimérica criando espaços vazios para a liberação de fármacos encapsulados (KUMAR; MOHAMMAD, 2011). Desta forma, sistemas formulados com o objetivo de acoplar os dois tratamentos apresentam grande potencial.

3.8 *Biopolímeros*

Os biopolímeros são polímeros ou copolímeros aplicados como biomateriais produzidos a partir de matérias-primas como milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina e outras (BRITO et al., 2011).

Materiais poliméricos sintéticos têm sido amplamente utilizados em fontes médicas descartáveis, materiais protéticos, materiais dentários, implantes, pensos, dispositivos extracorporais, encapsulantes, sistemas de entrega de drogas poliméricas, produtos de engenharia de tecidos, e orthodoses como os de metal e cerâmica substituintes (PARK; BRONZINO, 2002), enquanto polímeros porosos têm sido bastante empregados no campo de biomateriais na produção de membranas, suportes para crescimento celular e implantes.

Alguns fatores ambientais e sócio-econômicos que estão relacionados ao crescente interesse pelos biopolímeros são: os grandes impactos ambientais causados pelos processos de extração e refino utilizados para produção dos polímeros provenientes do petróleo, a escassez do petróleo e aumento do seu preço. Outro fator preponderante é a não biodegradabilidade da grande maioria dos polímeros produzidos a partir do petróleo, pois contribui para o acúmulo de lixo plástico sem destino apropriado que levará de dezenas a centenas de anos para ser novamente assimilado pela natureza (BRITO et al., 2011).

Apesar de todas as vantagens, os biopolímeros possuem algumas limitações que tornam difícil seu uso como produto final. Assim, diversos estudos tem se dedicado a modificação dos biopolímeros para viabilizar o processamento e uso dos mesmos em diversas aplicações (FECHINE, 2010). Para isso, blendas (BALAKRISHNAN et al., 2010), compósitos (CHEN, L. J.; WANG, 2002), nanocompósitos (CHIVRAC et al., 2010), têm sido estudados no intuito de melhorar propriedades como processabilidade, resistência térmica, propriedades mecânicas, propriedades reológicas, permeabilidade a gases e taxa de degradação.

Polímeros biodegradáveis são compostos nos quais a degradação resulta, por exemplo, da ação de microorganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas (INTERNATIONAL, 2004), podendo ser consumidos em semanas ou meses sob condições

favoráveis de biodegradação (MOHANTY, 2005). Eles podem ser provenientes de fontes naturais renováveis como milho, celulose, batata, cana-de-açúcar, ou serem sintetizados por bactérias a partir de pequenas moléculas. Dentre os polímeros biodegradáveis, os que têm atraído mais atenção são os obtidos a partir de fontes renováveis, devido ao menor impacto ambiental causado com relação a sua origem, o balanço positivo de dióxido de carbono (CO₂) após compostagem, e a possibilidade de formação de um ciclo de vida fechado (RAY, 2005).

3.9 *Quitosana*

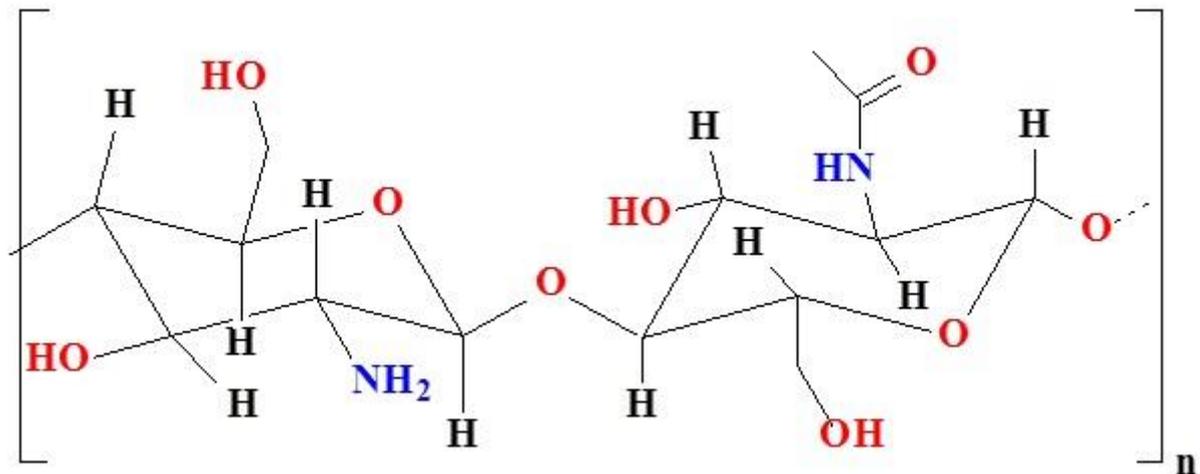
A quitosana, β -(1-4)-D-glicosamina, é a forma parcialmente desacetilada da quitina, β -(1-4)-N-acetil-D-glicosamina (WESKA et al., 2007). Quimicamente, a quitosana é um biopolímero de alto peso molecular, sendo uma poliamina na qual os grupos amino estão disponíveis para reações químicas (preparação de derivados) e formação de sais com ácidos. Os grupos hidroxila C-6 (primário) e C-3 (secundário) também podem ser utilizados na preparação de derivados.

As variações nos métodos de preparação da quitosana resultam em diferenças no seu grau de desacetilação, na distribuição dos grupamentos acetil, na viscosidade e na massa molecular ou grau de polimerização (BERGER et al., 2005; RONG HUEI; HWA, 1996). Estes parâmetros influenciam na solubilidade, atividade antimicrobiana e outras propriedades, sendo que a quitosana comercial possui, geralmente, grau de desacetilação variando de 70 a 95%, com uma massa molecular na faixa de 50 a 2000 kDa (REGE; GARMISE; BLOCK, 2003). Este biopolímero é insolúvel em água, álcalis, álcool e acetona, porém, sua solubilidade é completa quando adicionada a ácidos orgânicos abaixo de pH 6,0, como ácido acético, fórmico e cítrico (CRAVEIRO, 1999).

A quitosana (Figura 4) é obtida a partir da desacetilação da quitina por processos de hidrólise básica e composta pelas unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopirranose, as quais são unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4). Esse biopolímero apresenta importantes propriedades biológicas tais como baixa

toxicidade, não causa alergia, pode ser empregado como anticoagulante, é biodegradável, biocompatível e possui propriedades antibacterianas (JANEGITZ et al., 2007).

Figura 4 - Estrutura da quitosana.



Fonte: Próprio autor.

A quitosana pode atuar na prevenção de formação de “biofilmes” de microrganismos (crescimento de fungos e bactérias) em procedimentos ou dispositivos de implantes. Uma investigação preliminar dos efeitos de um revestimento de quitosana sobre o desenvolvimento de biofilmes bacterianos ou fúngicos, sugere que o revestimento destrói os micróbios essencialmente pela imobilização ou fixação dos mesmos, evitando que os microrganismos se agrupem à superfície do implante. Embora sejam necessárias maiores investigações, caso seja comprovado que a possibilidade da quitosana ser uma cobertura efetiva, este pode se tornar um aditivo poderoso capaz de reduzir de forma significativa as taxas de infecções associadas a implantes e diminuir o risco dos microrganismos desenvolverem resistência aos antibióticos que são utilizados atualmente no revestimento de implantes (V. V. C. AZEVEDO, 2007).

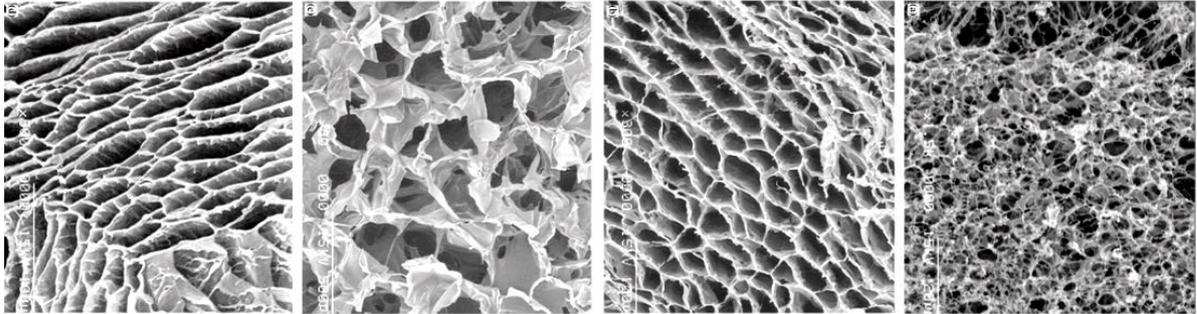
Majeti e Kumar (RAVI KUMAR, 2000) mostraram em seu trabalho que a quitina e a quitosana tem uma larga escala de aplicações e podem ser usadas, por exemplo, em aplicações de engenharia e biomédica e isto se deve a facilidade de moldagem da quitosana e seus derivados, fazendo desse material um forte candidato a portador de uma variedade de drogas para sua liberação controlada. Desta forma, segundo os autores, a aplicação mais evidente se dá na área farmacêutica

Khor e Lim (KHOR; LIM, 2003) realizaram estudos sobre a aplicação da quitosana em vários tipos de implantes (ortopédico e odontológico), reconstituição de tecidos e liberação controlada de drogas, uso como cicatrizante e biocompatibilizante entre tecidos, onde ficou comprovada o uso promissor desse material nas aplicações acima mencionadas.

3.10 “Scaffolds”

A engenharia de tecidos, através de estudos experimentais, tem contribuído para o avanço da medicina regenerativa, por desenvolver suportes sintéticos ou utilizar arcabouços naturais, conhecidos como “scaffolds”, que substituam as funções fisiológicas do tecido ósseo, formando um meio ou microambiente apropriado para as células se organizarem em estruturas funcionalmente similares ao tecido original. Este meio apropriado, de natureza biodegradável, permite a adesão celular ao suporte, a proliferação e segregação do suporte do tecido ósseo, até a obtenção de um substituto artificial funcional com características do tecido original (OLSSON et al., 2008). Na Figura 5 temos micrografias que representam algumas dessas estruturas que servem de suporte para a formação celular.

Figura 5 - Micrografias de biomateriais em “scaffolds” como suporte para a fixação de células e formação de tecidos.



Fonte: adaptado de (FRANCIS SUH; MATTHEW, 2000)

Biomateriais na forma de “scaffolds” são aqueles que possuem arcabouços tridimensionais porosos, propriedades bioativas e biodegradáveis, que servem de molde para a formação do novo tecido (LIU, X.; MA, 2004). A estrutura deste deve possuir cinco fatores considerados desejáveis: superfície que permita adesão e crescimento celular; nenhum componente ou subproduto de sua degradação deve provocar reações inflamatórias ou tóxicas; apresentar estrutura tridimensional; a porosidade deve proporcionar elevada área superficial para interação célula-“scaffold” e ter espaço para a regeneração da matriz extra-celular (OLSSON et al., 2008).

A porosidade dos “scaffolds” influencia o desenvolvimento das células osteoblásticas e, em combinação com as condições de cultura para a funcionalidade dos tecidos formados *in vitro*, facilitando a chegada de células indiferenciadas desde o periósteo, endósteo e matriz óssea, que se localizam entre as trabéculas do implante e se diferenciam em osteoblastos, formando novo osso (OLSSON et al., 2008).

3.11 *Sinvastatina*

As estatinas como sinvastatina (SINV), lovastatina e pravastatina são inibidores competitivos específicos do 3-hidroxi-2-metil-glutaril coenzima A redutase (HMG-CoA). (GOODSON, 1994; OKUDA et al., 1992). Estes agentes são amplamente utilizados para reduzir o colesterol, e proporcionam uma abordagem importante e eficaz para o tratamento da hiperlipidemia e arteriosclerose. As estatinas também parecem modular a formação do osso, aumentando a expressão de proteína morfogenética do osso (MUNDY et al., 1999), proporcionando assim uma nova orientação no campo da terapia periodontal. Vários estudos com animais (HENWOOD; HEEL, 1988; KISHIDA et al., 1991; TODD; GOA, 1990) revelaram que SINV auxilia na regeneração óssea, bem como o efeito anti-inflamatório quando entregues ou aplicados localmente.

Sakoda et al. (SAKODA et al., 2006) mediu o efeito de SINV na produção de interleucina (IL) -6 e -8 e de uma linha de células epiteliais humanas cultivadas (células KB) em resposta a IL-1. SINV diminuiu a produção de IL-6 e -8, um efeito que foi revertido por adição de mevalonato pirofosfato ou geranylgeranilo, mas não farnesil pirofosfato. SINV reduziu o fator nuclear kappa B e a atividade da proteína ativadora 1 promotora em células KB, o que indica um efeito anti-inflamatório para SINV em células epiteliais bucais humanas, aparentemente envolvendo a inibição da Rac1 GTPase, uma enzima hidrolase que se pode ligar e hidrolisar o trifosfato de guanosina. A uma concentração baixa, SINV apresenta um efeito positivo sobre a proliferação e diferenciação de células osteoblásticas humanas PDL, e estes efeitos podem ser causados por inibição da via do mevalonato. SINV é relatada para estimular o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) de libertação de uma forma dependente da dose e os autores sugeriram que as estatinas podem promover a diferenciação dos osteoblastos e a formação de nódulos ósseos, estimulando a expressão de VEGF no tecido ósseo (HENWOOD; HEEL, 1988).

A terapia periodontal exige um efeito focado em defeitos específicos, sugerindo a importância da aplicação local da droga. Um número de estudos têm-se concentrado sobre os efeitos da administração local de SINV sobre a formação óssea (JEON et al., 2008; MORRIS et al., 2008; VAZIRI et al., 2007). Também tem sido observado que a aplicação do presente

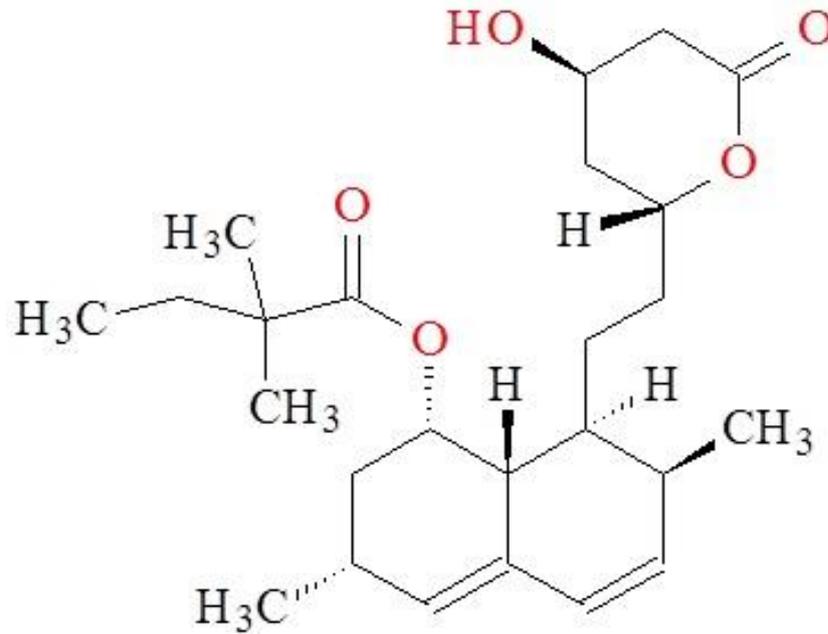
agente para uma cultura de células do ligamento periodontal humanas aumenta a sua proliferação e o metabolismo (YAZAWA et al., 2005). Portanto, a SINV poderia desempenhar um papel significativo como um agente terapêutico no tratamento da doença periodontal.

Inibidores da 3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, ou simplesmente estatinas, são medicamentos muito utilizados nas duas últimas décadas para a redução de níveis elevados de colesterol plasmático. Curiosamente, estudos recentes relataram a ação dessas substâncias na formação óssea, pela estimulação da expressão da proteína morfogenética óssea (BMP)-2 (ANBINDER et al., 2006). Em 1999, Mundy et al. estudaram a estimulação da formação óssea pelas estatinas, *in vitro* e *in vivo*, em roedores.

Para investigar os feitos biológicos das estatinas no osso, lovastatina, sinvastatina, fluvastatina ou mevastatina foram adicionadas à cultura de calvária murina neonatal. As estatinas aumentaram a formação óssea em duas a três vezes. Os autores injetaram também lovastatina ou sinvastatina, via subcutânea, sobre a calvária de camundongos jovens e após tratamento, três vezes ao dia durante cinco dias, utilizando dose de 5 ou 10 mg.kg⁻¹ por dia, encontraram que o osso tratado era 50% mais espesso que o encontrado no grupo controle. Os autores testaram ainda os efeitos da sinvastatina em ratas ovariectomizadas ou não, para que os efeitos da menopausa fossem simulados. Nos animais que receberam doses orais de 5 a 50 mg.kg⁻¹ por dia por 35 dias, as tíbias, os fêmures e as vértebras apresentaram-se com aumento entre 39 e 94% no volume de osso trabecular. Essa pesquisa foi bastante discutida na literatura e estimulou várias pesquisas sobre as ações das estatinas no tecido ósseo, embora alguns poucos estudos anteriores já lidassem com o assunto.

A sinvastatina é um antilipêmico, de fórmula molecular C₂₅H₃₈O₅, amplamente consumido no Brasil, e está incluída na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais para o tratamento de cardiopatia isquêmica e de hipercolesterolemia (OLIVEIRA, M. A. D. et al., 2010). Trata-se de uma lactona inativa que é convertida em seu β,δ-hidroxiácido correspondente (forma ativa), via metabolismo hepático pelo citocromo P450, após administração oral. Este fármaco (Figura 6) é um potente inibidor da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMGCoA) redutase, que catalisa a síntese de colesterol (POLONINI et al., 2011).

Figura 6 - Estrutura química da sinvastatina.



Fonte: Próprio Autor

Rojbani (ROJBANI et al., 2011) realizou um estudo comprovando a ação da sinvastatina associada à hidroxiapatita na formação óssea, no qual ratas sofreram um defeito ósseo de 5 mm de diâmetro na a dura-máter do cérebro em cada lateral em relação ao plano sagital. Os defeitos foram preenchidos com partículas de substituição. O grupo de cobaias que recebeu preenchimento contendo sinvastatina apresentou maior quantidade de osso novo e taxa de degradação que o grupo que recebeu substituintes sem SINV (ROJBANI et al., 2011).

Sendo assim, estuda-se a possível utilização desses medicamentos na medicina que poderiam vir a atuar, por exemplo, no reparo de defeitos ósseos causados por lesões intra-ósseas, em fraturas ou como adjuntos na terapia periodontal e auxiliando nos processos de osseointegração (ANBINDER et al., 2006) .

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenvolvimento do nanobiocompósito

Na síntese do biocompósito todos os reagentes utilizados não passaram por qualquer tratamento prévio visando sua purificação. A Tabela 1 mostra os reagentes utilizados bem como suas respectivas procedências.

Tabela 1 - Reagentes utilizados bem como suas respectivas fórmulas moleculares, marcas e purezas.

Reagentes	Fórmula Molecular	Marca	Pureza (%)
Cloreto de Ferro (III)	FeCl ₃ . 6H ₂ O	Dinâmica	97,0
Sulfato de Ferro	FeSO ₄ . 7H ₂ O	Vetec	99,0
Cloreto de Cálcio	CaCl ₂ . H ₂ O	Dinâmica	99,67
Ácido Fosfórico	H ₃ PO ₄	Quimex	85,0
Hidróxido de Amônio	NH ₄ OH	Dinâmica	30,0
Cloreto de Amônio	NH ₄ Cl	Vetec	99,5
Ácido Clorídrico	HCl	Vetec	37,0
Ácido Oléico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	Dinâmica	NI*
Acetonitrila	CH ₃ CN	Vetec	99,8
Clorofórmio	CHCl ₃	Synth	99,8
Ácido Acético	CH ₃ COOH	Dinâmica	99,7

Fonte: Próprio Autor; * Não informado (NI)

4.1.1 Síntese da HA via tratamento hidrotérmico

Uma solução aquosa de H₃PO₄ 0,3M foi adicionada a uma outra de CaCl₂.H₂O 0,5M sob agitação e com uma relação molar Ca/P=1,67. Formou-se um precipitado branco com a adição de NH₄OH sob forte agitação até pH 9, mantendo a suspensão sob agitação por mais

duas horas com o pH mantido em 9. O precipitado foi lavado com água destilada e filtrado a vácuo.

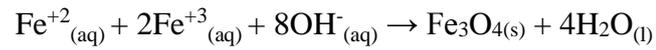
O pó foi disperso em uma solução de NH_4Cl 0,1M, com o pH mantido em 9. Razão de peso entre o precipitado e a solução foi de 1:10. As suspensões foram colocadas em um autoclave de Teflon de aproximadamente 50mL com camisa de aço inox para receberem o tratamento hidrotérmico a 150°C por 5h. Após essa etapa o material foi filtrado a vácuo, lavado e secado a 80°C. A equação química abaixo representa a reação de formação da HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).



4.1.2 Síntese da Magnetita via co-precipitação.

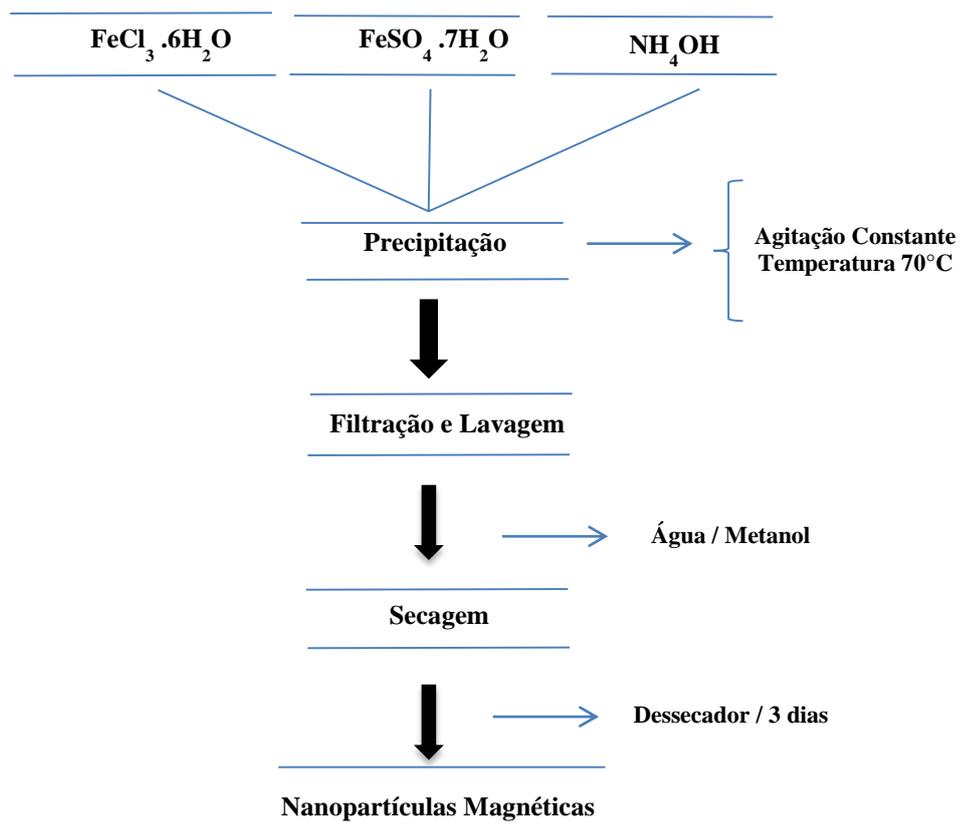
A síntese das nanopartículas magnéticas foi realizada seguindo a metodologia utilizada por Barreto e colaboradores (BARRETO et al., 2011). Num béquer de 100mL foram colocados cerca de 30ml de água mili-Q, posteriormente foi acidificada com uma solução de ácido clorídrico 5% até o ajuste de pH entre 3 e 4 e posta sob agitação constante e temperatura de 70°C. Para a síntese da ferrita, utilizou-se uma chapa aquecedora e um agitador mecânico para aquecer e agitar a reação. Foram pesadas e dissolvidas em água mili-Q os sais dos metais precursores Fe^{+2} : Fe^{+3} numa razão molar de 1:2. Para tal, foi produzido uma solução aquosa de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1,08M e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,54M, em seguida misturadas no meio previamente acidificado e aquecido.

Em seguida foi acrescentado na mistura uma solução de NH_4OH 5% (v/v) até ajustar o pH para 10. Foi observada uma mudança na coloração da solução final e a formação de um precipitado negro, que representa a formação da magnetita de acordo com a reação estequiométrica:



Resfriou-se a mistura até a temperatura ambiente e o precipitado foi separado por decantação magnética, lavado repetidas vezes com água destilada e metanol. Depois o mesmo foi seco em um dessecador sob vácuo constante. O fluxograma (Figura 7) mostra as etapas da síntese.

Figura 7 - Fluxograma de preparação das nanopartículas magnéticas.



Fonte: Próprio autor.

4.1.3 Síntese do compósito Fe_3O_4 -HA

A síntese consiste primeiramente na produção da magnetita pelo método descrito acima. Após seco, a magnetita foi inserida numa solução de $CaCl_2 \cdot H_2O$ 0,5M sob agitação constante, usando um agitador mecânico. Após a homogeneização do meio, gotejou-se lentamente uma solução aquosa de H_3PO_4 0,3M. A formação da HA ocorreu após a precipitação com NH_4OH até pH 9,0, onde houve a junção da magnetita na cerâmica. Um precipitado cinza foi produzido, lavado com água destilada, seco e levado ao autoclave de teflon, disperso em uma solução de 0,1M de NH_4Cl (90% m/m), com o pH mantido em 9 onde fora submetido ao tratamento hidrotérmico a 150°C por 5h. Após essa etapa o material foi filtrado a vácuo, lavado e secado a 80°C. A razão m/m pretendida do compósito foi de 90:10 (HA: Fe_3O_4) (PANSERI et al., 2012). É possível visualizar os aspectos das amostras sintetizadas na figura 8.

Figura 8 - Nanopartículas de Fe_3O_4 , HA e compósito de Fe_3O_4 -HA respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

4.1.4 Modificação da superfície da Fe₃O₄-HA com ácido oleico (AO)

Uma quantidade de 0,3 g de Fe₃O₄-HA foi submetida a forte agitação mecânica em clorofórmio 50mL por 10 min e, em seguida, dispersas na solução por tratamento ultrassônico durante 30 min. Gotejou-se 4 mL de ácido oleico sob agitação. A mistura foi aquecida a 75°C por 30 minutos ((LUO et al., 2010) adaptado). Após a agitação o sistema foi centrifugado a 3.000 rpm por 20 minutos e lavado repetidas vezes com água destilada e uma vez com etanol para retirar o ácido que não reagiu. O material lavado foi seco a temperatura ambiente e armazenado à vácuo.

4.1.5 Extração da sinvastatina de cápsulas farmacêuticas

Macerou-se os comprimidos (2 unidades) de sinvastatina 40 mg vendidos comercialmente (Sinvasmax – Globo) em farmácias e posteriormente adicionado 20 mL de acetonitrila. A suspensão formada após agitação a temperatura ambiente durante 30 minutos foi filtrada para separar a sinvastatina (filtrado) do excipiente. A SINV se recristalizou a temperatura ambiente e após seca, armazenada a vácuo e sem contato com luz para evitar oxidação.

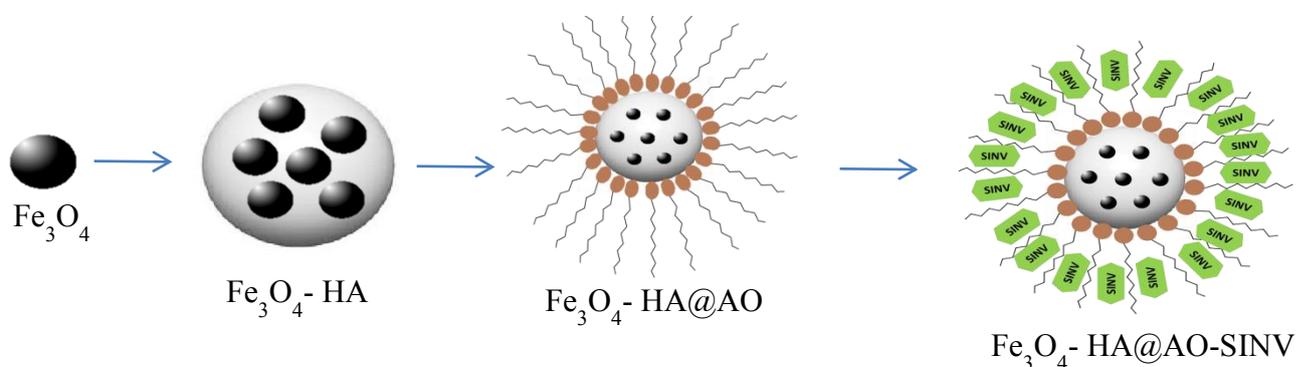
4.1.6 Adsorção de sinvastatina na superfície da Fe₃O₄-HA@AO.

Em um tubo falcon foi adicionado 100 mg de Fe₃O₄-HA previamente preparada e 10 mL da solução de sinvastatina com concentração de 2000 µg.mL⁻¹ solubilizada em acetonitrila. Segundo Carvalho (CARVALHO, 2013), essa concentração se comportou como a melhor quantidade de fármaco a ser adsorvido em maior quantidade pelo compósito. O tubo foi submetido à forte agitação horizontal por 24 horas e a quantidade adsorvida foi verificada

através da medida da absorvância. O gráfico de calibração foi preparado a partir dos dados de concentração (mg/L) versus absorvância (A) (YIN et al., 2003).

O equipamento utilizado foi o GENESYS 10S da THERMO SCIENTIFIC, no laboratório de adsorção e catálise LANGMUIR do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da UFC. Todas as medidas foram realizadas em cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. A Figura 9 é um esquema meramente ilustrativo da preparação do nanobiocompósito.

Figura 9 - Esquemática do nanobiocompósito.



Fonte: Próprio Autor.

4.1.7 Preparo dos “scaffolds” de Quitosana com Fe_3O_4 -HA@AO-SINV

Uma solução de quitosana (86%) foi preparada utilizando 4g de quitosana em pó e 200mL de solução de ácido acético 1% (v/v), sob forte agitação por aproximadamente 3h em uma proporção de 2% (m/v). Em seguida, a solução foi centrifugada a 4000 rpm por 30 minutos para separação de possíveis impurezas (Figura 10).

A mistura foi submetida a agitação por 10 minutos enquanto ocorreu a adição do compósito Fe_3O_4 -HA@AO-SINV e sonicada por 30 minutos. Aproximadamente 8 g da mistura foi colocada em moldes de 5 cm de diâmetro. A solução de quitosana + compósito foi congelada

em nitrogênio líquido. Em seguida, liofilizou-se por 48h (Figura 10). A liofilização do material foi feita no laboratório de Bioquímica (Labalgas) da Universidade Federal do Ceará com a colaboração da Profa. Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas.

Figura 10 - *Scaffolds* de quitosana pura (à direita) e de quitosana com $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA@AO-SINV}$ (à esquerda).



Fonte: Próprio autor.

5 CARACTERIZAÇÃO

5.1 *Difração de raios-x*

As medidas de Difração de raio-X (DRX) foram realizadas em um aparelho X-ray powder diffractometer Xpert MPD (Panalytical), equipado com tubo de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ nm}$), voltagem de 40 kV com uma corrente de 30 mA em um intervalo de varredura $2\theta = 20 - 80^\circ$, tendo sido realizadas as medidas no laboratório de raios-X no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, Brasil. Para interpretação e análise dos difratogramas foi utilizado o método Rietveld de refinamento de estrutura com uso do software DBWS tools, versão 2.4 para obter os padrões de difração ICDD.

5.2 *Espectroscopia na região do infravermelho*

Para a obtenção dos espectros no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), as amostras foram maceradas em almofariz de ágata e prensadas em forma de pastilhas com KBr, em uma proporção 1:10 entre amostra: KBr. Após o processo de prensagem, foram registrados os espectros de intervalo de $4.000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$, em um aparelho Shimadzu FTIR 8300, na Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Brasil.

5.3 *Curvas de Magnetização*

As medidas magnéticas foram obtidas à temperatura ambiente e à 5K utilizando um magnetômetro de amostra vibrante (VSM) da marca Cryogenic 5 Tesla VSM system, com

campo magnético de até 5 Tesla e faixa de temperatura de 2 a 300 K (Departamento de Física da Universidade de Santiago de Chile – USACH). Este, por sua vez, foi previamente calibrado usando um fio de Níquel puro. Posteriormente, realizou-se a medição da massa de cada amostra para avaliar as propriedades magnéticas e seu resultado foi mostrado em emu/g.

5.4 *Microscopia eletrônica de transmissão (MET)*

A análise de Microscopia Eletrônica de Transmissão foi realizada em um equipamento Jeol JEM – 1011 operando em 100kV e equipado com uma câmera CCD Orius 831 da Gatan. As amostras foram diluídas, depositadas em grades de carbono e revestidas com cobre. Posteriormente as amostras depositadas foram secas completamente a 60°C por uma noite, antes da análise. Estas análises foram realizadas em parceria com a Università del Salento, Itália.

5.5 *Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta*

Na caracterização da SINV, os espectros na região do ultravioleta foram traçados na faixa de comprimento de onda 190 a 300 nm, utilizando-se solução de 16 µg/mL de SINV em acetonitrila. Os máximos de absorção foram comparados com os descritos na literatura. O equipamento utilizado foi o GENESYS 10S da THERMO SCIENTIFIC, no laboratório de adsorção e catálise LANGMUIR do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará. Todas as leituras foram realizadas em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho ótico.

5.6 *Microscopia Eletrônica de Varredura.*

As micrografias obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura do laboratório da Central Analítica da Universidade Federal do Ceará, Brasil. O equipamento utilizado foi o Microscópio Eletrônico Quanta FEG 450, FEI ambiental. As amostras foram fixadas em fitas de carbono, secas ao ar e cobertas com uma fina camada de ouro para atribuir uma boa condutividade requerida para as imagens de MEV. O compósito em pó foi fixado em cola de prata, utilizando o mesmo equipamento.

5.7 *Calorimetria Exploratória Diferencial*

As curvas DSC foram obtidas no equipamento DSC Q20 V24.9 Build 121 sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 10°C/min, com aquecimento até 450°C. As análises foram feitas na Universidade Federal do Ceará, Brasil.

5.8 *Análise Térmica*

As amostras foram submetidas à análise termogravimétrica (TG) em equipamento modelo TGA Q50 V20.13 Build 39 da TA Instruments, da Universidade Federal do Ceará, Brasil. A faixa de temperatura usada foi de 0 a 900°C, com razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ em atmosfera artificial. Com vazão de 25 mL.min⁻¹.

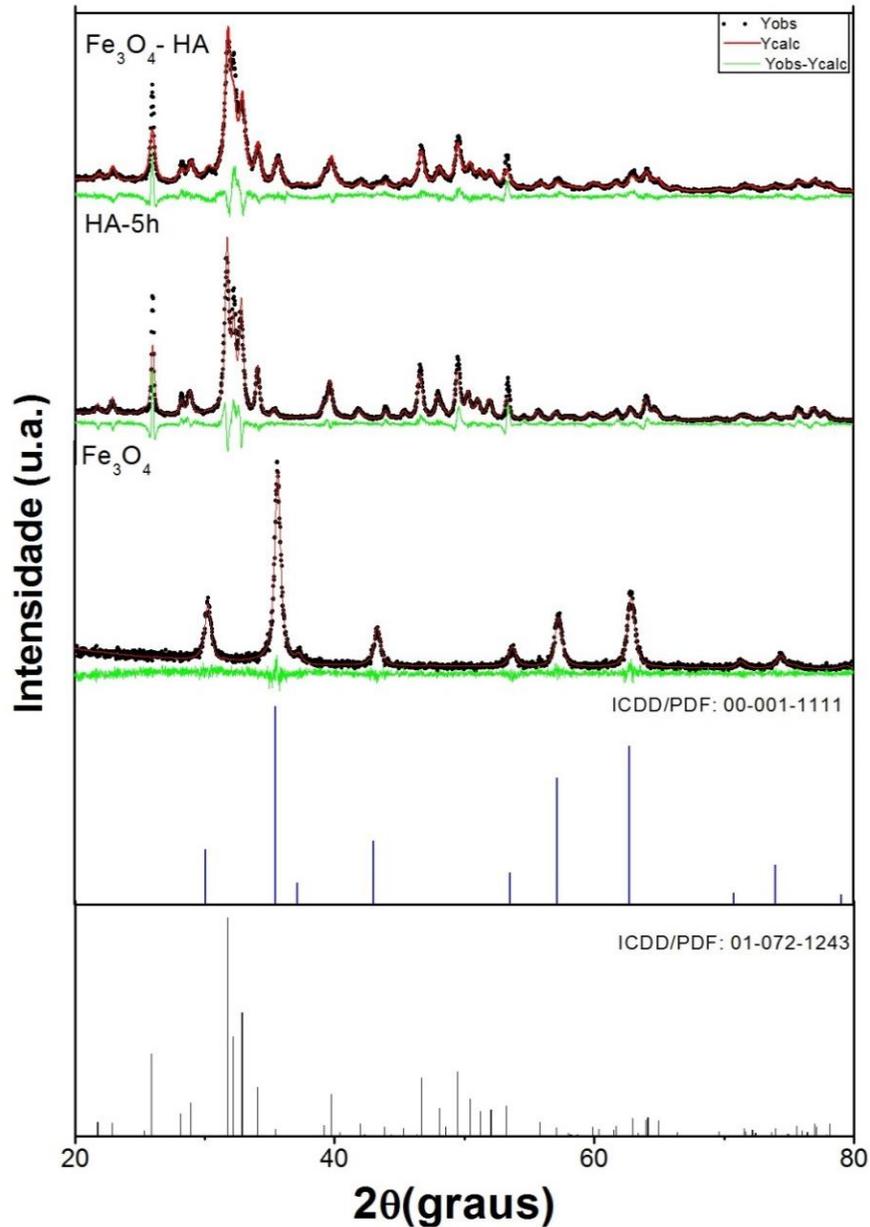
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização da Fe₃O₄-HA

6.1 DRX

As medidas de DRX foram realizadas com intuito de caracterizar estruturalmente as amostras de HA, Fe₃O₄ e do compósito sintetizado (Fe₃O₄-HA). Os dados das amostras foram tratadas matematicamente pelo refinamento de Rietveld, com o auxílio do programa DBWS Tools versão 2.4. Foi considerado o tamanho do cristalito para cálculo do tamanho de partícula, pois em sistemas nanométricos com um único domínio admite-se que o tamanho do cristalito esteja próximo ao de partícula (NAKAMURA et al., 1989). Com base nesses cálculos, se obtiveram informações sobre as amostras de HA-5h, Fe₃O₄ e Fe₃O₄-HA (Figura 11).

Figura 11 - DRX comparativo das amostras de Fe_3O_4 , HA e Fe_3O_4 -HA



Fonte: próprio autor.

As fases cristalinas foram examinadas por comparação aos difratogramas com o banco de dados ICDD relativo ao padrão da HA (ICDD/PDF-01-072-1243) e do Fe_3O_4 (ICDD/PDF: 00-001-1111). Na amostra de HA com tratamento hidrotérmico de 5h (Figura 11) apresentara nítidas definições nos difratogramas, devido a uma maior cristalinidade obtida durante o tratamento hidrotérmico. Esta amostra apresentou uma única fase, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$,

com sistema cristalino hexagonal. Para a amostra de Fe_3O_4 a síntese foi executada com êxito comparando os resultados com o padrão ICDD durante o refinamento (Figura 11). Os picos cristalográficos obtidos são relativos ao sistema cristalino cúbico de grupo espacial $Fd-3m$ que representam as características das células unitárias para o espinélio da magnetita. O compósito produzido foi analisado após o refinamento e observou-se os picos característicos predominantemente da HA, novamente bem definidos devido ao tratamento hidrotérmico, como também alguns picos de Fe_3O_4 que apareceram discretamente, sendo possível observar com exatidão apenas um pico em torno de $2\theta = 36$ graus. Os resultados indicam, como esperado, que o tratamento hidrotérmico favoreceu o crescimento dos cristalitos.

Adicionalmente, deve-se ressaltar que no método de Rietveld, um dos valores mais importantes a serem avaliados são o R_{wp} (porcentagem de erro obtido) e o S (razão do erro previsto pelo erro esperado), uma vez que estes se referem à concordância e ao progresso do refinamento (Tabela 2) (ARAÚJO, 2006). A literatura reporta que valores considerados bons de R_{WP} são de 2-10%, enquanto que os valores típicos obtidos variam de 10-20% (FANCIO, 1999). Valores de $S \leq 1,3$ indicam um refinamento satisfatório (CASAGRANDE; BLANCO, 2005). Para todas as amostras caracterizadas, somente a HA-5h mostrou um valor de S acima do satisfatório, o que se pôde justificar durante o tratamento hidrotérmico que ocorre um crescimento preferencial no eixo c , dificultando o refinamento observado no pico [002] próximo de 25 graus. A variação dos valores de tamanho de partícula para as amostras analisadas foram 4,9 – 19,9 nm e porcentagem molar de 93,5% para HA e 6,5% para Fe_3O_4 quando juntos no compósito formado, como observado na Tabela 1.

Tabela 2 - Resultados dos parâmetros estruturais refinados pelo método de Rietveld para as amostras de HA-5h, Fe₃O₄ e Fe₃O₄-HA.

Amostra	Fase cristalina	% Molar	Tamanho médio de cristalito (nm)	Rwp (%)	S
Hidroxiapatita (5h)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	100	19,9	17,7	2,33
Magnetita	Fe ₃ O ₄	100	18,01	14,91	0,91
Magnetita-Hidroxiapatita	HA Fe ₃ O ₄	93,5 (HA) 6,5 (Fe ₃ O ₄)	14,6 (HA) 4,9 (Fe ₃ O ₄)	12,13	1,48

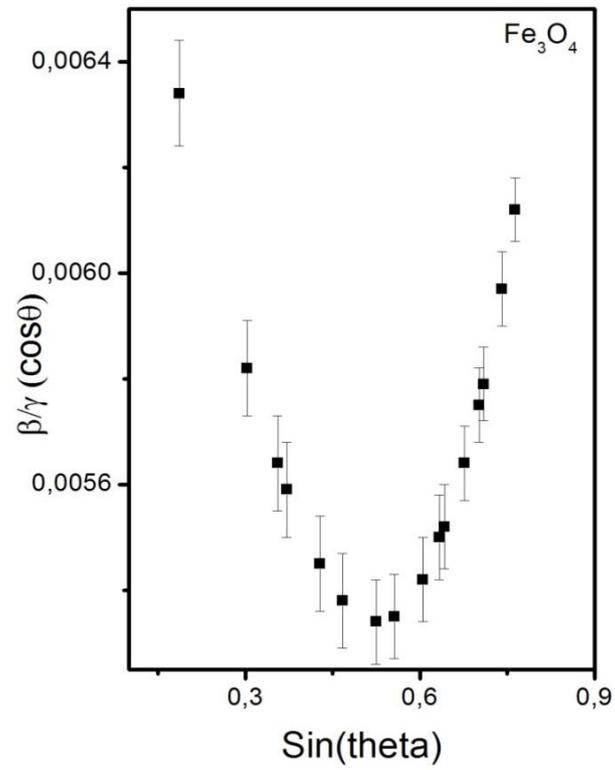
Fonte: próprio autor.

Nota-se ainda na Figura 11, que os picos observados (pontos pretos) são aproximadamente coincidentes com os picos calculados (linha vermelha), o que pode ser verificado na linha (linha verde) que representa a diferença entre intensidade observada e intensidade calculada. Como pretendido, a razão (m/m) do compósito 90:10 foi aproximado, comparado com a porcentagem molar do compósito (tabela 2). O tamanho médio de partícula dos três materiais analisados, mostraram valores próximos, mesmo após a formação do compósito Fe₃O₄+HA, o qual apresentou valor de 19,5nm aproximadamente se considerado a soma dos dois valores das fases isoladas. Vale salientar que tal refinamento não se pode calcular valores de tamanho do compósito, uma vez que o software analisa cada fase separadamente na amostra.

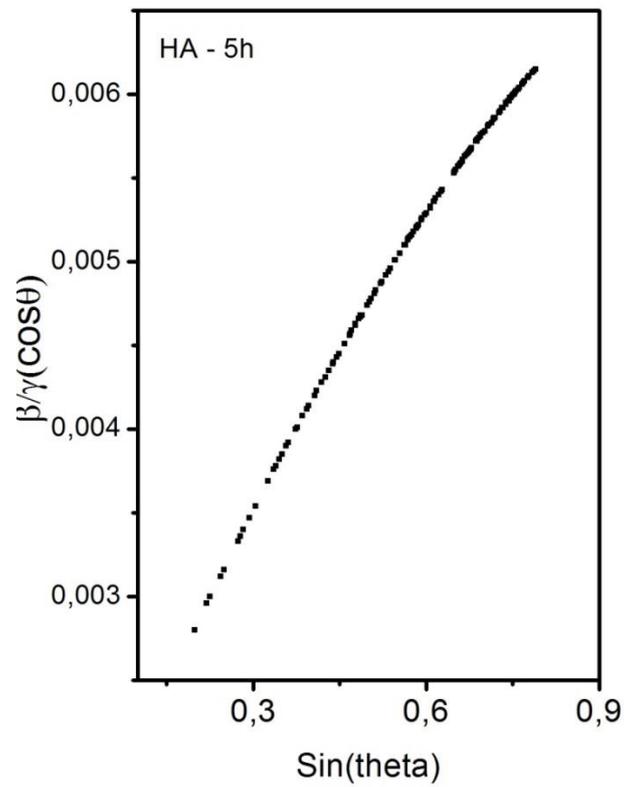
Os gráficos de Williamson Hall (Figura 12) mostram uma linearidade no perfil da amostra de HA-5h (Figura 12 (b)), que reflete uma homogeneidade da partícula. A amostra de Fe₃O₄ (Figura 12 (a)) não apresentou perfil linear, exibindo pontos de contração e expansão da rede cristalina e uma alta heterogeneidade da partícula.

Figura 12 - Gráficos de Williamson-Hall para as amostras de (a) Fe_3O_4 e (b) HA-5h sintetizadas.

(a)



(b)

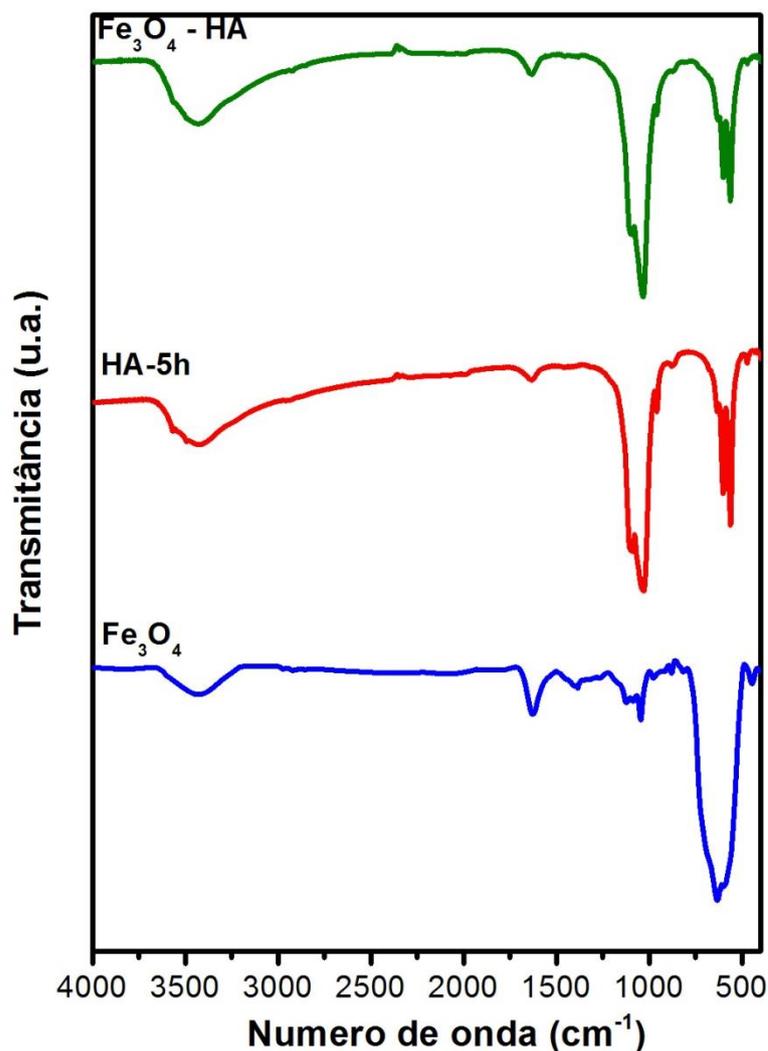


Fonte: Próprio autor.

6.2 *Espectroscopia na Região do Infravermelho*

No espectro do infravermelho estão presentes as bandas que caracterizam as fases das amostras HA, Fe₃O₄ e o compósito (Fe₃O₄-HA) obtido pelos dois materiais. Os espectros de FTIR para as amostras tratadas em solução 0,1 M de NH₄Cl (Figura 13), indicam que os íons introduzidos não permanecem na estrutura dos produtos finais, que poderiam causar problemas em aplicações biológicas. Além disso, houve um comparativo entre as amostras a fim de detectar as bandas presentes no compósito formado com os materiais precursores. Para a amostra de magnetita foi observado bandas relativas às ligações para o espinélio de ferro, com número de onda de 582 cm⁻¹, referente ao estiramento das ligações de Fe no sítio tetraédrico, 1400 cm⁻¹ referente à vibração angular relativo à ligação Fe-O, 1635 cm⁻¹ e 3410 cm⁻¹ referentes respectivamente à vibração angular e estiramento das ligações O-H presentes nas nanopartículas devido ao fato de sua síntese ser realizada em meio aquoso. Isso faz com que a superfície do material fique recoberta por grupos hidroxila oriundas da água (CAN; OZMEN; ERSOZ, 2009; YAMAURA et al., 2004).

Figura 13 - Espectros obtidos na região do infravermelho para as amostras de HA-5h, Fe₃O₄, e Fe₃O₄-HA.



Fonte: próprio autor.

Todos os modos vibracionais dos grupos funcionais da HA foram identificados (Tabela 3). As bandas muito fortes observadas, respectivamente, em 1097 e 1033 cm⁻¹ foram associadas com estiramentos vibracionais fora do plano de P-O, ao passo que a banda fraca centralizada em 960 cm⁻¹ foi atribuída à vibração de estiramento simétrico de O-P-O. Os modos vibracionais fortes do O-P-O podem ser observados nos números de onda entre 563 e 603 cm⁻¹. As vibrações associadas ao CO₃²⁻ estão entre 1417 e 1460 cm⁻¹, 873 e 875 cm⁻¹. A presença de CO₃²⁻ é atribuída à incorporação de espécies provenientes do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera e em solução aquosa (ARENDS et al., 1987; VISWANATHAN; NAYAR; ARULDHAS, 1986).

Tabela 3 - Bandas de absorção na região do infravermelho da HA, Fe₃O₄ e Fe₃O₄-HA

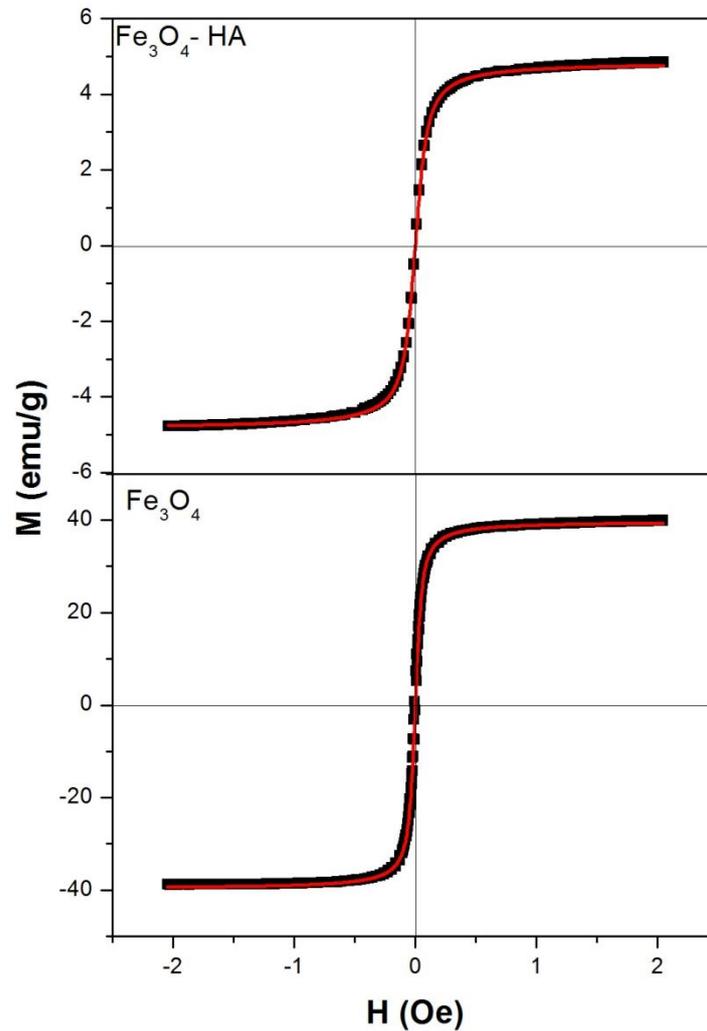
	Tentativa de atribuição dos espectros de FTIR (cm⁻¹)			
	Número de Onda (cm ⁻¹)			
	HA	HA-5h	Fe ₃ O ₄	Fe ₃ O ₄ -HA
$\nu_{\text{O-H}}$ de H ₂ O adsorvida e O-H de grupos OH	3700 – 2500	3444	3410	3444
$\delta_{\text{O-H}}$ de H ₂ O adsorvida	1620	1637	1635	1637
$\nu_{\text{P-O}}$ do grupo PO ₄ ³⁻	1087	1097	-	1097
$\nu_{\text{P-O}}$ do grupo PO ₄ ³⁻	1030	1033	-	1033
$\nu_{\text{P-O}}$ do grupo PO ₄ ³⁻	956	960	-	960
$\nu_{\text{P-O(H)}}$ do grupo PO ₄ ³⁻	865	875	-	875
$\delta_{\text{O-H}}$ de grupo OH	640	634	635	634
$\delta_{\text{P-O}}$ do grupo PO ₄ ³⁻	610	603	-	603
$\delta_{\text{P-O(H)}}$ do grupo HPO ₄ ²⁻	560, 450	563	-	563
$\nu_{\text{Fe-O}}$ [Td]	-	-	580	
$\delta_{\text{Fe-O}}$	-	-	1400	

Fonte: próprio autor.

6.3 Medidas de Magnetização

As curvas de magnetização foram utilizadas para fazer o estudo das propriedades magnéticas. As amostras de nanopartículas foram analisadas a temperatura ambiente e a Figura 14 apresenta o gráfico da curva de magnetização, comportamento específico de material superparamagnético (GOLDMAN, 2005). As amostras apresentaram coercividade e magnetização remanescentes iguais à zero, indicando que tanto o Fe₃O₄ quanto a mesma misturada (Fe₃O₄-HA) são superparamagnéticas.

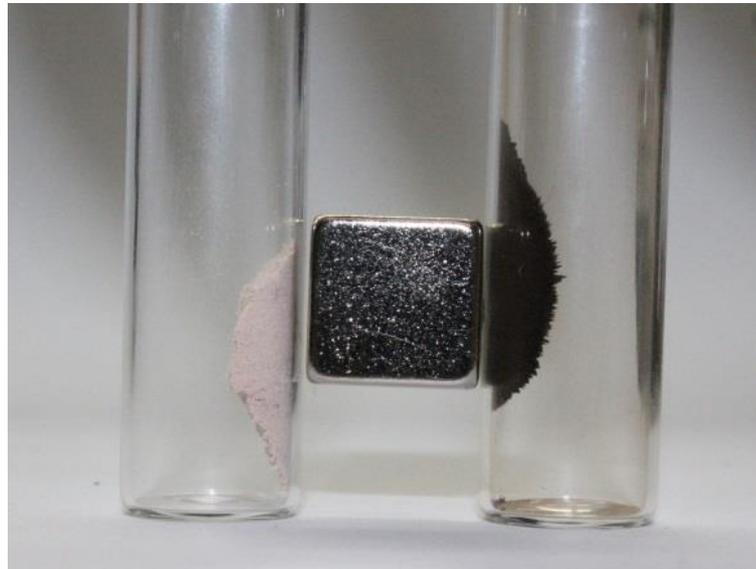
Figura 14 - Curvas de Magnetização para as amostras de Fe_3O_4 e $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$.



Fonte: próprio autor.

Notou-se também uma diminuição na intensidade (emu/g) da $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$ devido a proporção em massa dos dois compostos (10:90 respectivamente), no qual houve um aumento de massa de material não-magnético. Isso apenas diminui a magnetização de saturação, porém não altera a propriedade superparamagnética do composto em si. É possível verificar na figura 15 que a magnetita e o composto de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$ possuem forte atração pelo ímã mesmo após adição de grande massa de HA na magnetita.

Figura 15 - Imagem mostrando atração das amostras de Fe₃O₄-HA e Fe₃O₄ pelo ímã.



Fonte: Próprio autor.

As curvas de magnetização a temperatura ambiente das amostras estudadas podem ser descritas pela função de Langevin (AURIC et al., 1982).

$$M = N\mu^2H / 3K_B T \quad \text{Equação 1}$$

Onde N , K_B , T e H indicam, respectivamente, o número de íons de Fe^{2+} , a constante de Boltzmann, a temperatura e o campo magnético aplicado. O tamanho de partícula também pode ser inferido a partir de tal função ajustando o parâmetro $a = m/K_B$, que está relacionado com o diâmetro médio das partículas, com $a = 4\rho(d/2)^3M_0/3K_B$, onde d representa o diâmetro da partícula. Então, utilizando as referidas funções obteve-se o diâmetro médio das nanopartículas (DE CARVALHO et al., 2013). Os valores são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Tabela mostrando a magnetização de saturação e tamanho de partícula ajustado pela função de Langevin.

Amostra	Magnetização de Saturação (emu/g)	Tamanho de partícula por Langevin (nm)
Fe₃O₄	39,78	13,3
Fe₃O₄-HA	4,85	27,5

Fonte: Próprio autor.

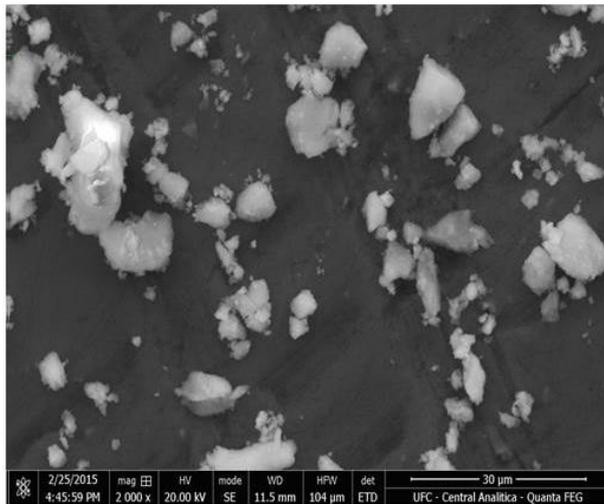
Observou-se que os tamanhos de partícula encontrados pela curva de magnetização em torno de 13,3nm para a Fe₃O₄ e 27,5nm para Fe₃O₄-HA, sendo portanto, possível calcular um valor aproximado desse composto. Apenas a amostra de Fe₃O₄ apresentou um valor próximo do calculado por DRX, o que não se pode afirmar para o composto (Fe₃O₄-HA), que pode estar relacionado ao fato de que as medidas de magnetização detecta somente a presença de compostos magnéticos, mostrando assim valores não precisos.

6.4 MEV

As micrografias das nanopartículas magnéticas foram obtidas a fim de verificar a presença dos elementos químicos que os constituem como mostrado na Figura 16 (a) e (b). Nota-se na análise de EDX (Figura 16-b) que os átomos de ferro, cálcio e fosforo estão presentes na amostra e em quantidade em massa próxima da prevista pela metodologia na razão 90:10.

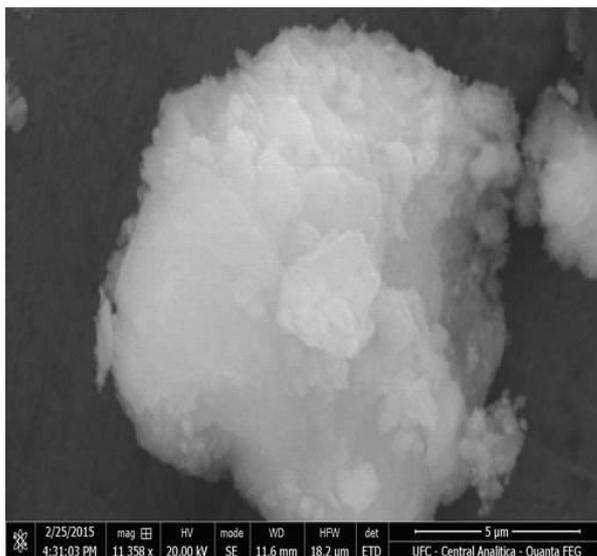
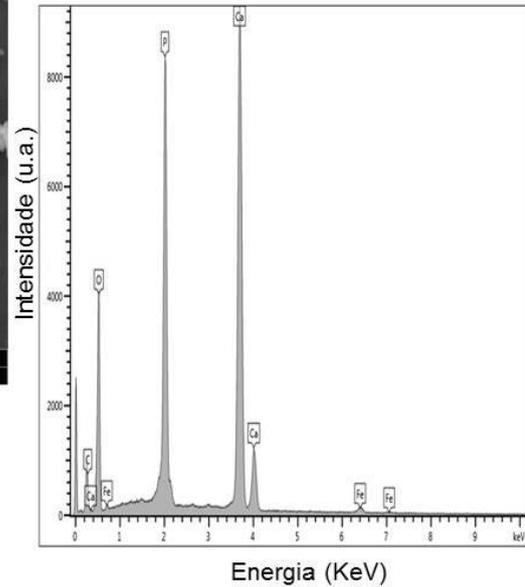
Não se verificou uma morfologia bem definida das nanopartículas, aparentemente em forma de placas (Figura 16 (b)), porém esta análise serve para auxiliar na identificação dos elementos químicos via EDX.

Figura 16 - Micrografias do MEV do compósito Fe₃O₄ - HA.



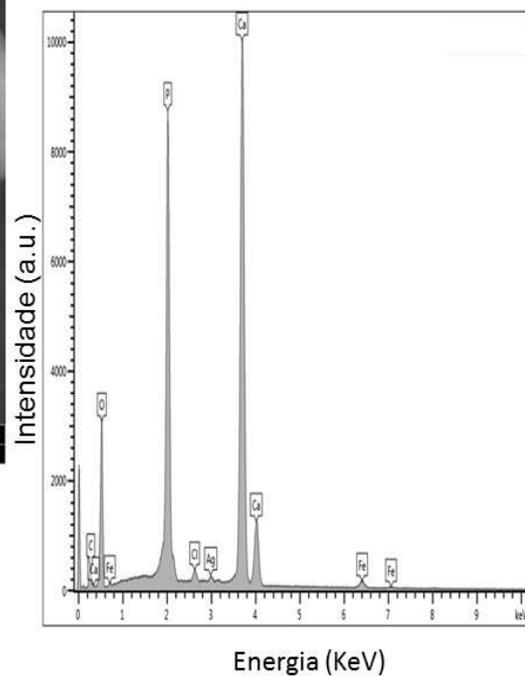
Elementos	Massa(%)
Carbono	10,7
Cálcio	32,14
Oxigênio	40,56
Ferro	0,94
Fósforo	15,66

(a)



Elementos	Massa (%)
Carbono	5,10
Cálcio	37,80
Oxigênio	36,70
Ferro	1,33
Fósforo	17,76

(b)



Fonte: Próprio autor.

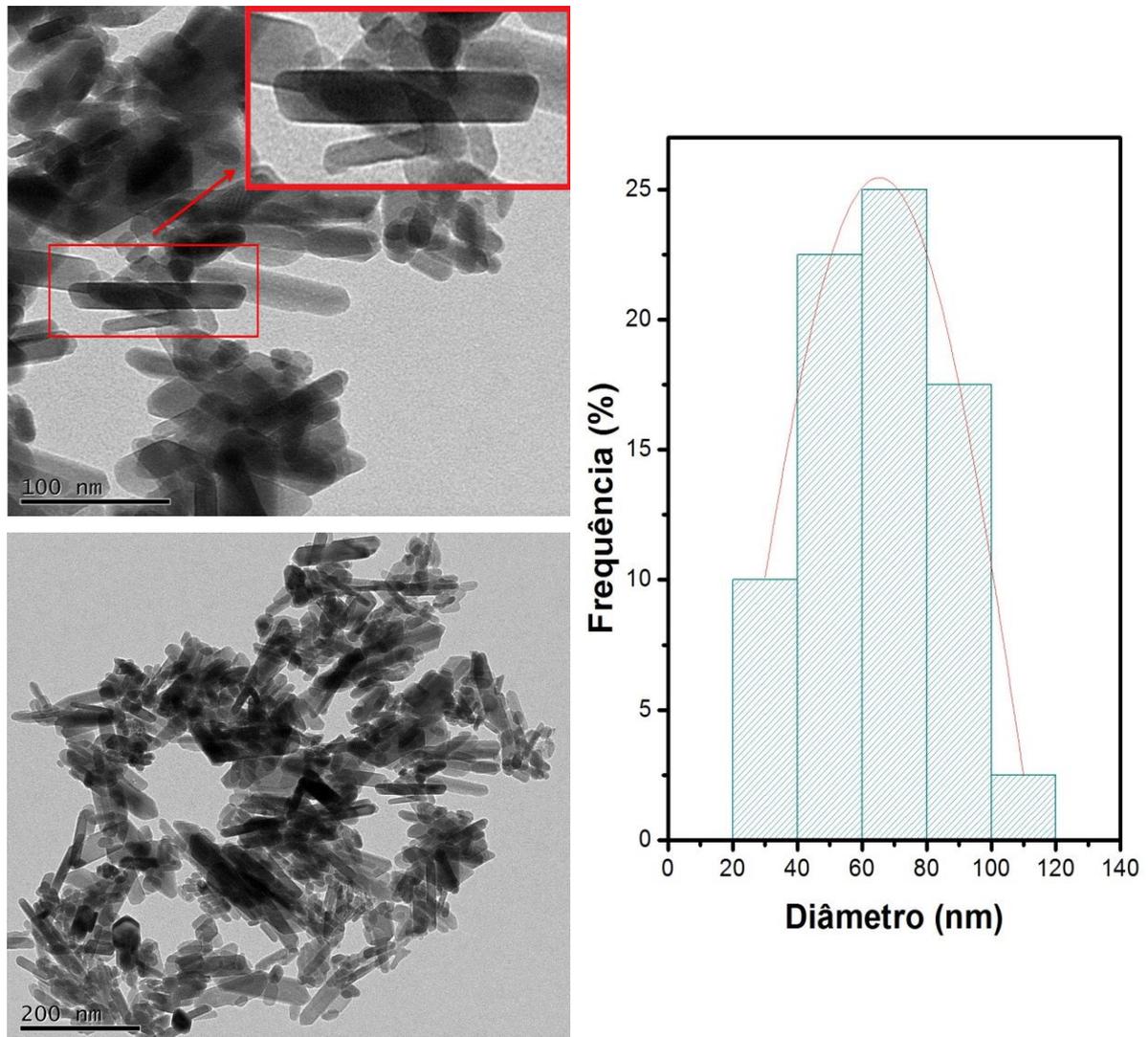
Foi calculado a porcentagem dos elementos constituintes das amostras para determinar a razão (m/m) de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$. Para isso, calculou-se as massas molares das duas fases e analisou-se a contribuição em massa de cada. A massa de oxigênio (%) corresponde as duas fases, uma vez que ambas possuem este elemento em sua constituição, sendo 86,67% de oxigênio contido na HA e 13,34% para Fe_3O_4 . Assim, analisando os resultados de EDX, percebeu-se que 6% de Fe_3O_4 e 82,95% de HA em massa, estão presentes no compósito (Figura 16 (a)) e 6,5% de Fe_3O_4 e 87,36% HA (Figura (b)). Estes valores se aproximam da metodologia pretendida como descrito anteriormente.

6.5 MET

A Figura 17 exhibe as imagens de MET para a amostra $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$. É evidente a tendência de crescimento para desenvolver a morfologia em forma de haste. Wang e colaboradores (L. WANG, 2010) também obtiveram nanopartículas de HA em forma de haste e sugeriram que os íons cloreto desempenham um importante papel no controle da morfologia das nanopartículas (KNOWLES et al., 1996). Portanto, existe uma clara orientação preferencial em direção ao eixo c (KNOWLES et al., 1996) na cristalização das amostras que foram submetidas ao tratamento hidrotérmico. Vale salientar a importância dessa morfologia e o tamanho das partículas do compósito, uma vez que a HA encontrado no osso humano, possui morfologia de haste assim como tamanho nanométrico (ZHOU; LEE, 2011).

A distribuição do tamanho de partícula, obtido através da inspeção das micrografias, foi indicado valores de tamanho de partícula do compósito, considerando 60 unidades escolhidas aleatoriamente descritas na figura 17. Foi observado valores médios de 40-100nm.

Figura 17 - Micrografias obtidas do composto de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$ por microscopia eletrônica de transmissão e seu respectivo gráfico de distribuição de tamanho de partículas.



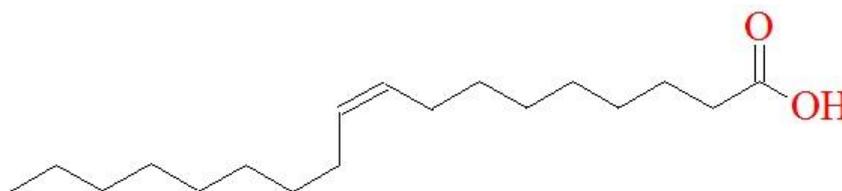
Fonte: Próprio autor.

6.6 Caracterização do material funcionalizado $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA@AO}$

Visando um sistema eficiente com adsorção e liberação controlada, a superfície da $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$ foi funcionalizada com ácido oleico (AO), uma vez que esse material magnético possui uma superfície hidrofílica, devido a presença de grupos hidroxilas. O ácido oleico (Figura 18) é um ácido graxo surfactante o qual proporcionam um efeito de confinamento que

limita a nucleação da partícula, o seu crescimento e a sua aglomeração (MATHEW; JUANG, 2007). Nesta técnica, geralmente utilizam-se surfactantes de baixo peso molecular. A SINV por sua vez, possui característica hidrofóbica, necessitando de um agente ligante do fármaco e o compósito.

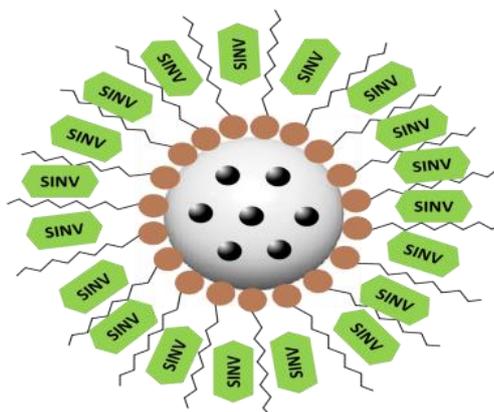
Figura 18 - Fórmula estrutural do ácido oléico.



Fonte: Próprio autor.

Luo e colaboradores (LUO et al., 2010) sugere que a nanopartícula forma um núcleo envolvido por uma monocamada, semelhante a uma “concha”, de moléculas de AO quimicamente adsorvidas, enquanto as moléculas do fármaco ancoram nos interstícios formados pelas longas cadeias carbônicas do ácido oleico, como mostra o esquema na Figura 19.

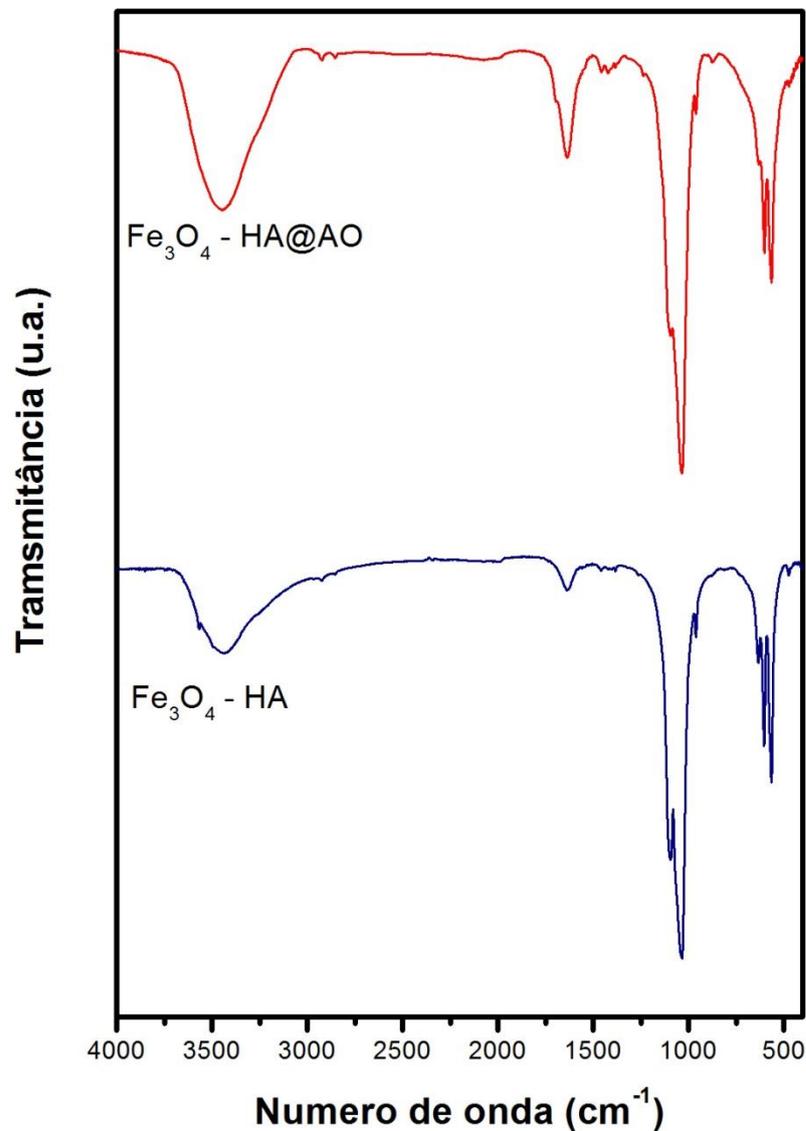
Figura 19 - Representação esquemática do sistema Fe_3O_4 -HA@AO-SINV.



Fonte: Próprio autor.

O espectro de FTIR na Figura 20, em que a amostra modificada com ácido oleico é designada Fe_3O_4 -HA@AO, indica que ocorreu a ligação química entre a superfície da Fe_3O_4 -HA (coberta por hidroxilas) e as moléculas de ácido oleico.

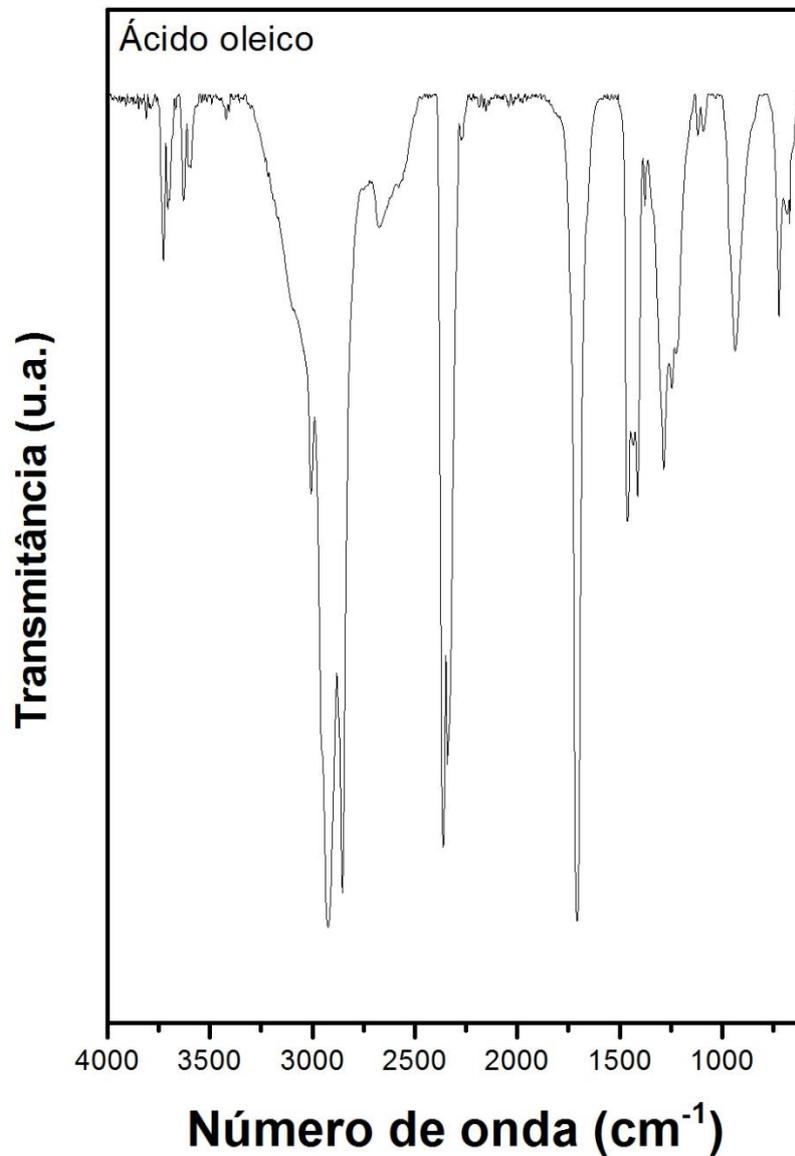
Figura 20 - FTIR das amostras de Fe_3O_4 -HA e Fe_3O_4 -HA@AO.



Fonte: próprio autor.

Este fato é evidenciado pela diminuição brusca da intensa banda referente ao estiramento ν (C=O) de ácido oleico puro (Figura 21), aproximadamente em 1711 cm^{-1} , no espectro de FTIR da amostra revestida com AO (MA; XIA; LIAO, 2011). Em vez disso, duas bandas características aparecem em 1554 e 1458 cm^{-1} , que podem ser atribuídas aos estiramentos assimétrico ($\nu_{as}\text{ COO}^-$) e simétrico ($\nu_s\text{ COO}^-$), respectivamente. Como $\Delta \approx 96\text{ cm}^{-1}$, indicando que a cadeia de ácido oleico é fixada numa interação bidentada com os dois oxigênios simetricamente coordenados à superfície (MA et al., 2011).

Figura 21 - FTIR das amostras de ácido oleico.



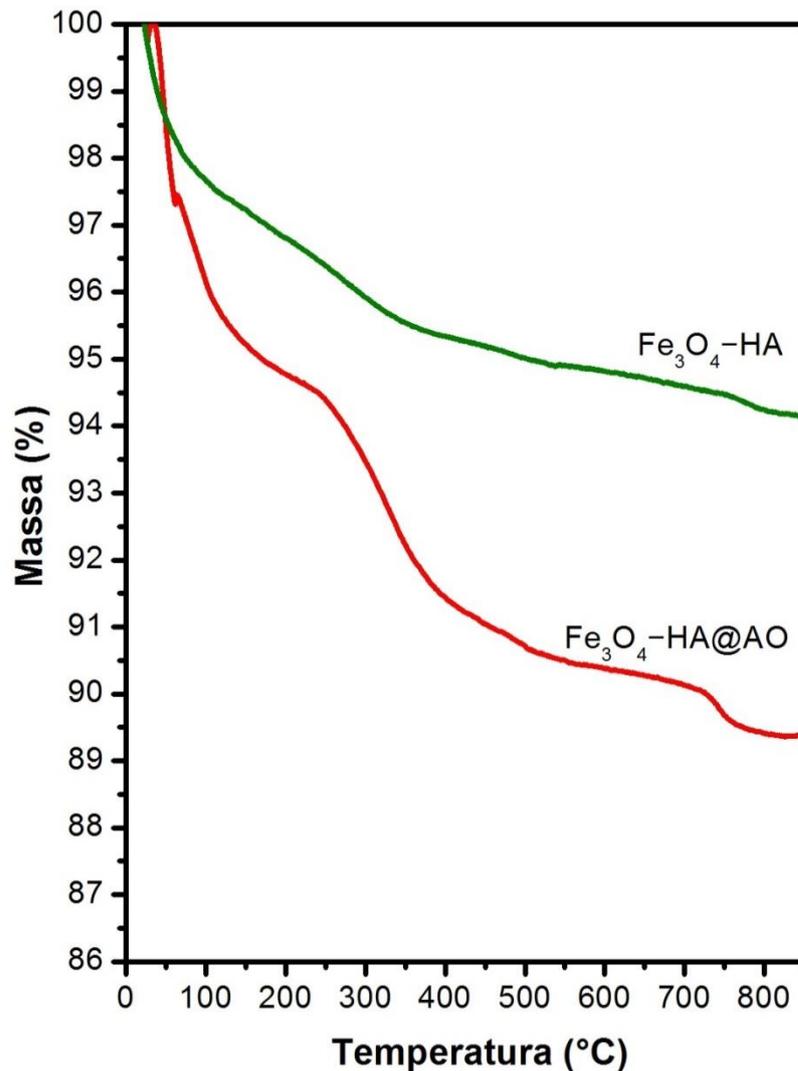
Fonte: Próprio autor.

O estiramento não simétrico de metil, $\nu_{as}(\text{CH}_3)$, é visto com um ombro na banda 2927 cm^{-1} . A banda seguinte e a encontrada em 2853 cm^{-1} , são atribuídas aos estiramentos antissimétricos e assimétricos de metileno ($\nu_{as}(\text{CH}_2)$, $\nu_s(\text{CH}_2)$). A nitidez das bandas indica que as cadeias de hidrocarbonetos estão bem ordenadas. O espectro não exhibe bandas em posições que indicam presença do ácido oleico puro (SODERLIND et al., 2005).

Portanto, de acordo com os espectros de FTIR, pode-se afirmar que o ácido oleico recobriu a superfície do nanossistema com sucesso, o que pode promover uma maior facilidade de dispersão em solventes não polares (MA et al., 2011).

Além do estudo através do FTIR, também se realizou uma análise termogravimétrica (TG) da amostra para verificar a presença de moléculas de oleato através do evento de perda de massa. Desta forma, a Figura 22 mostra os termogramas das amostras sem e com modificação superficial, respectivamente.

Figura 22 - TG das amostras Fe_3O_4 -HA e Fe_3O_4 -HA@AO



Fonte: próprio autor.

O primeiro termograma indica que até 850 °C, a perda de massa da *Fe₃O₄-HA* é de 5,8% da inicial. Além disso, neste termograma constata-se a estabilidade da biocerâmica a temperaturas elevadas (GRANDE et al., 2009). Na primeira e maior perda de massa foi de 3,5%, ocorrendo até aproximadamente 400°C. Inicialmente, a perda corresponde a termodessorção da água da superfície da NP. Próximo de 200°C, a perda de massa é atribuída à eliminação de H₂O estrutural da rede cristalina. Essa longa faixa de temperatura em que ocorre perda de massa indica que a água não interage de maneira uniforme com a estrutura, o que é compatível com a existência de diferentes sítios estruturais. Entre 500 e 600°C, observa-se uma perda de massa de 0,4% e, entre 700 e 800°C, uma perda de 0,6% que são atribuídas a eliminação de CO₃²⁻ presentes na amostra, como se observou na Figura 8 (BARAKAT et al., 2008).

A perda total de massa para a amostra modificada com ácido oleico foi de 10,75%. A ligeira perda de massa observada abaixo de 200°C indica algumas moléculas de H₂O adsorvidas na superfície da amostra Fe₃O₄-HA@AO. Um evento térmico observado entre 200 e 400°C pode ser atribuído a dessorção das moléculas de ácido oleico. No entanto, a eventual perda de massa acima de 400 °C pode indicar interações distintas entre as moléculas de oleato e os átomos superficiais, conduzindo a diferenças nas intensidades dessas interações. Pode-se então determinar que a perda de massa analisando as duas amostras em relação ao ácido oleico foi de 5,85%, ou seja, a quantidade de AO adsorvida na amostra de Fe₃O₄-HA@AO é de aproximadamente este valor.

6.7 Caracterização da *sinvastatina*

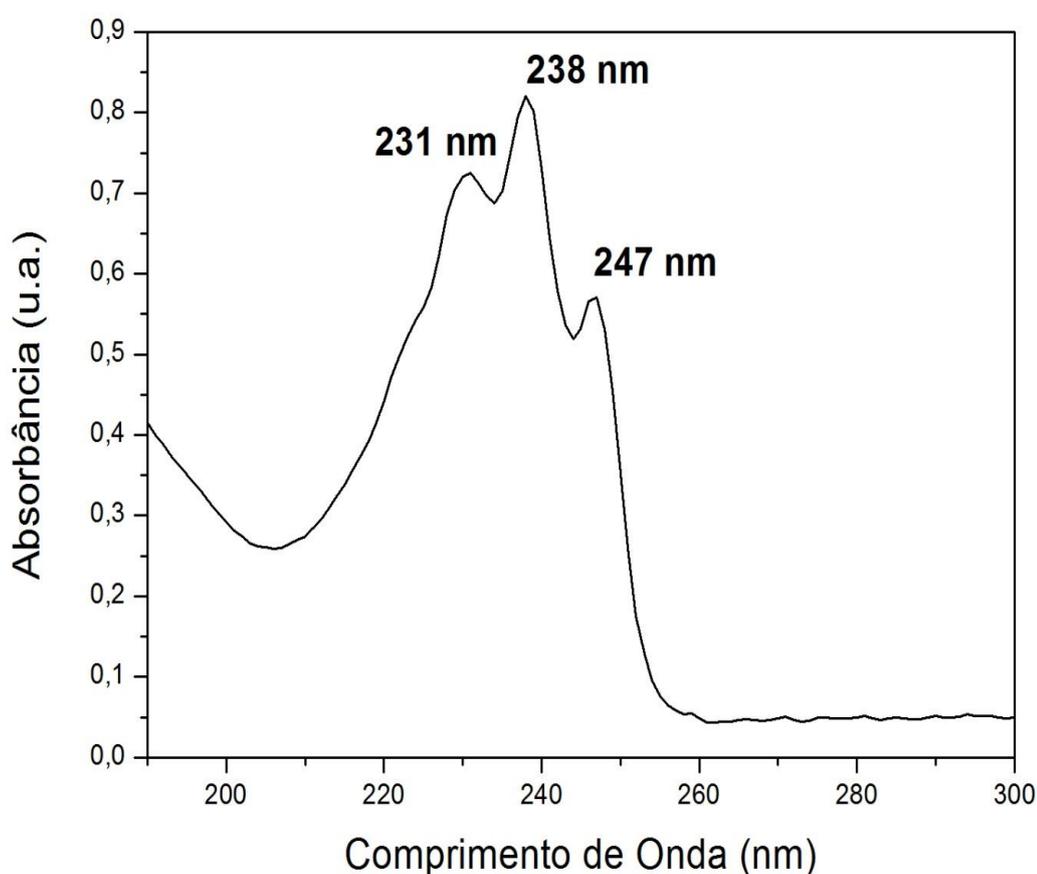
A SINV utilizada para adsorção na superfície do sistema foi extraída de cápsulas comercializadas adquiridas em farmácias e, posteriormente, recristalizadas. Por isso, houve a necessidade de caracterização para garantir a qualidade da droga.

Para as formulações farmacêuticas industrializadas são reportados vários métodos fundamentados em algumas técnicas analíticas para avaliar a *sinvastatina*, tais como,

espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta (UV), FTIR e análise térmica (MARKMAN; ROSA, 2011).

Os espectros obtidos na região do UV para a SINV estão representados na Figura 23 e concordam com os espectros descritos na literatura com máximos de absorção em 231, 238 e 247 nm (O'NEIL, 2006). O espectro evidencia a não interferência dos excipientes na leitura espectrofotométrica e é possível visualizar o pico principal situado em 238 nm,

Figura 23 - Espectro de absorção na região do ultravioleta da sinvastatina.

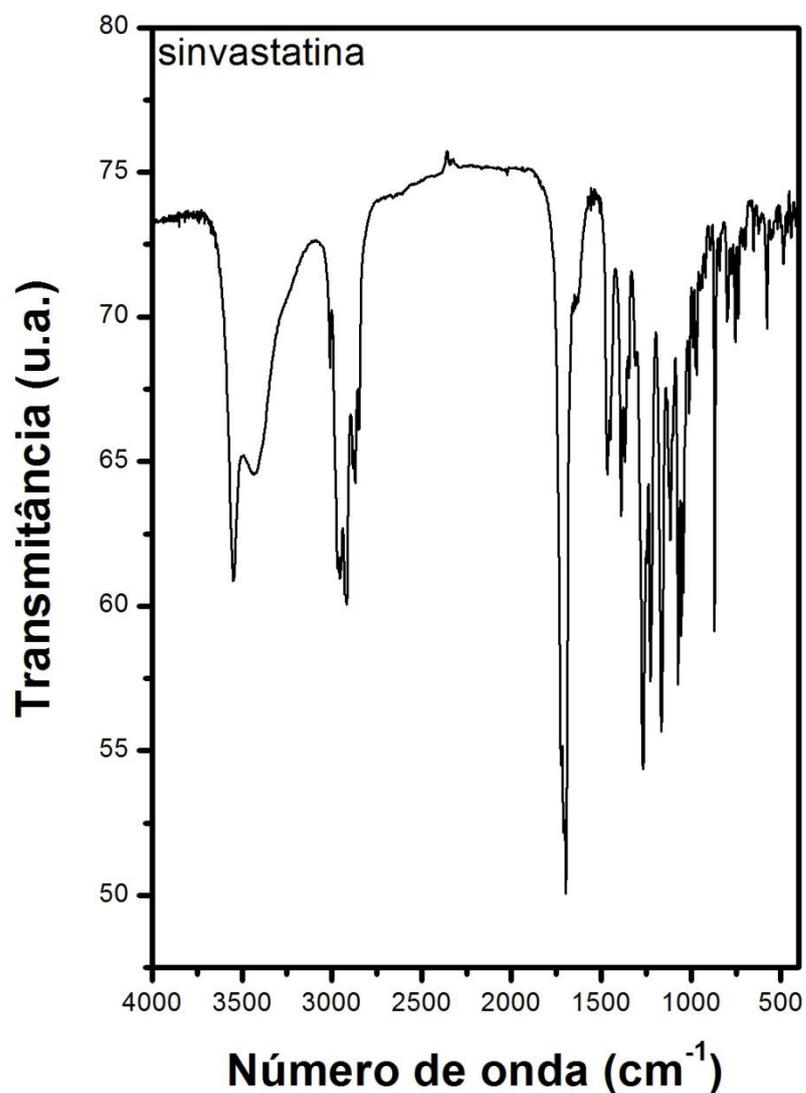


Fonte: próprio autor.

As principais bandas na região do infravermelho descritas para sinvastatina estão localizadas nos seguintes números de ondas: 1718, 1459, 1389 e 1267 cm^{-1} (MOFFAT et al., 2004). Essas bandas podem ser observadas nos espectros da Figura 24, em número de ondas aproximado. A banda em 3500 cm^{-1} indica deformação axial de O-H livre. As bandas

aproximadas 3012 , 2952 e 2875 cm^{-1} se referem a vibrações de estiramento de ligações C-H. As bandas com números de onda em torno de 1726 e 1700 indicam deformação axial C=O de éster e lactona. Em aproximadamente 1567 cm^{-1} temos deformação axial de C=O de carboxilato. Em torno de 1465 e 1389 cm^{-1} , deformação angular de metil e metileno. Nas bandas observadas em 1267 e 1074 cm^{-1} , temos a deformação axial de C-O-C de éster e lactona. As bandas observadas em 1160 e 1182 cm^{-1} , podem ser atribuídas à deformação angular da espécie O-H (TANDALE; JOSHI; GAUD, 2011).

Figura 24 - FTIR da sinvastatina recristalizada.



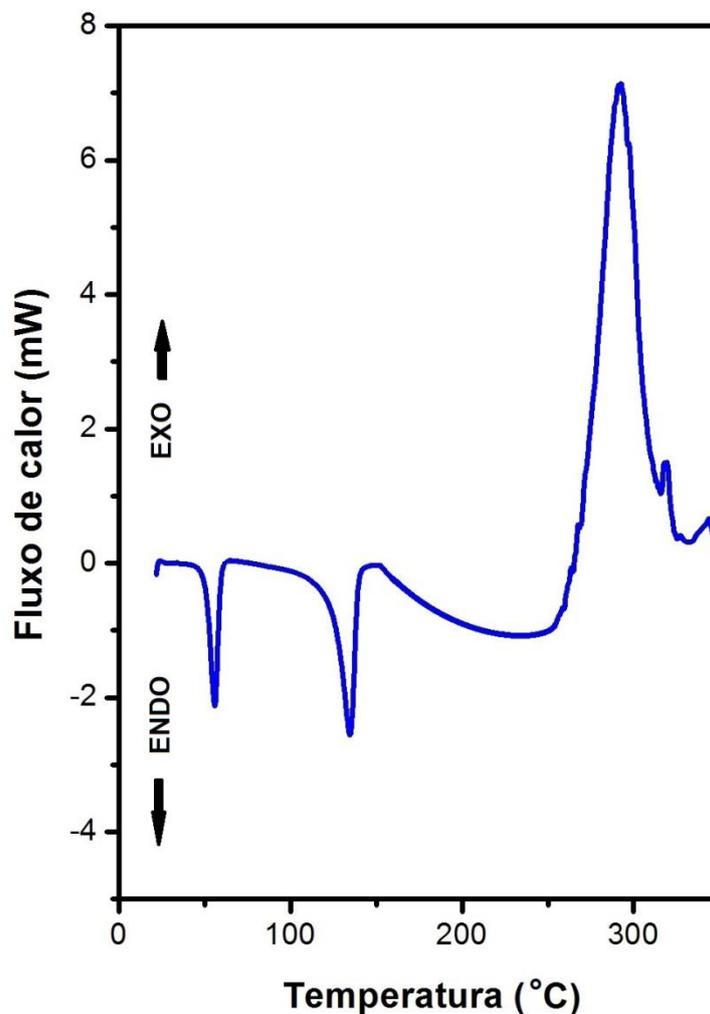
Fonte: próprio autor.

A sinvastatina foi caracterizada utilizando a técnica de DSC para medir a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento. Este método de caracterização térmica e determinação da pureza de fármacos é bastante utilizado na indústria de medicamentos (OLIVEIRA, M. A. D.; YOSHIDA; LIMA GOMES, 2011).

Vários estudos relacionados à aplicação de análises térmicas na caracterização, avaliação de pureza, compatibilidade de formulação farmacêutica, identificação de polimorfismo, estabilidade e decomposição térmica de fármacos e medicamentos encontram-se descritos na literatura (OLIVEIRA, M. A. D. et al., 2011).

A curva DSC da sinvastatina (Figura 25) demonstra o primeiro evento endotérmico, na faixa de temperatura a partir de 52,46°C, com um consumo de energia, que provavelmente se refere ao ponto de ebulição do solvente utilizado na recristalização, no caso, a acetonitrila. O segundo evento, característico do processo de fusão da substância, sinvastatina, se inicia em 122,85°C, com um consumo de energia. Portanto, de acordo com a curva, a sinvastatina apresentou temperatura de fusão em 134,5 °C.

Figura 25 - Curva DSC da sinvastatina em atmosfera de nitrogênio e razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: próprio autor.

A determinação do grau de pureza da sinvastatina foi realizada através de DSC, utilizando a Equação de van't Hoff na faixa de fusão do fármaco (OLIVEIRA, M. A. D. et al., 2010).

A determinação do ponto de fusão utilizando métodos calorimétricos vem sendo bastante empregada como método de avaliação do grau de pureza de fármacos (RODRIGUES et al., 2005). A avaliação da pureza por DSC pode ser realizada pelo simples acompanhamento visual da curva DSC, observando a presença dos eventos térmicos característicos do fármaco,

ou utilizando uma determinação quantitativa pelo método da Equação de van't Hoff (2). Este último determina a pureza a partir da faixa de fusão do analito, podendo, assim, determinar a fração molar de impurezas contidas neste material (OLIVEIRA, M. A. D. et al., 2011; RODRIGUES et al., 2005).

$$T_f = T_0 - X \cdot \left(\frac{RT_0^2}{\Delta H_f} \right) \quad \text{equação (2)}$$

Onde T_f representa a temperatura de fusão das impurezas no processo de fusão, T_0 o ponto de fusão do maior componente expresso em Kelvin (K), R a constante dos gases (8,3143 J K⁻¹ mol⁻¹), a concentração molar das impurezas na fase líquida e ΔH_f o calor de fusão do maior componente expresso em J.mol⁻¹ (RODRIGUES et al., 2005).

Quando uma substância é submetida a um aquecimento, o conjunto das impurezas é fundido formando no sistema uma fase líquida. Acima desta temperatura então, a fase sólida consiste somente em substância pura (FORD; TIMMINS, 1989). Quando a fase eutética das impurezas é formada a temperatura decresce fazendo com que a fração molar das impurezas na fase líquida seja constantemente diminuída desde que a substância pura dissolva na solução eutética. A equação (3) descreve esta relação (RODRIGUES et al., 2005).

$$X = \frac{x_1}{F} \quad \text{equação (3)}$$

Onde $\frac{x_2}{F}$ é a fração molar das impurezas na fase líquida.

A equação (3) pode ser substituída na equação (2) dando origem a uma expressão (4) que descreve a relação linear entre temperatura de fusão das impurezas (T_f) e fração molar das impurezas:

$$T_f = T_0 - \frac{x_1}{F} \cdot \left(\frac{RT_0^2}{\Delta H_f} \right) \quad \text{equação (4)}$$

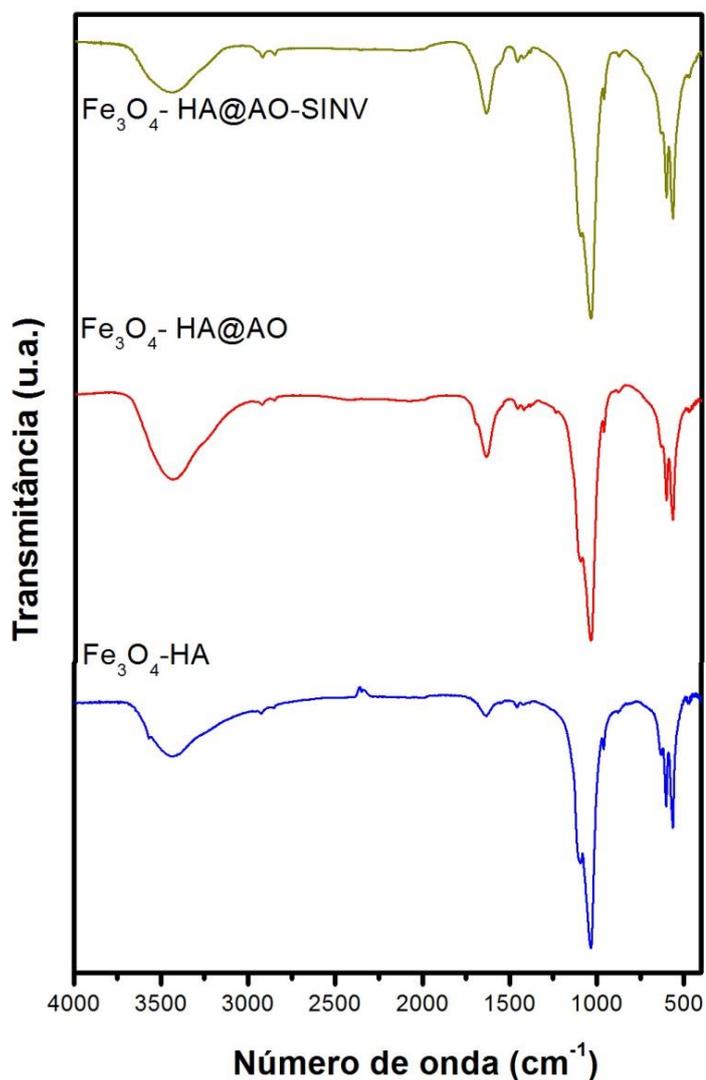
Na avaliação de pureza absoluta pelo método da Equação de van't Hoff, sabe-se que quanto maior a concentração de impurezas na amostra, menor é o ponto de fusão e mais larga é a faixa de fusão (OLIVEIRA, M. A. D. et al., 2011).

O ponto de fusão da sinvastatina, de acordo com a literatura, varia entre 135-138°C. (SAEED ARAYNE et al., 2009). Logo, a pureza da sinvastatina recristalizada mostrou-se em torno de 94 a 97%.

6.8 Incorporação da sinvastatina em Fe_3O_4 -HA@AO

No caso das amostras em contato com a solução SINV 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, a presença da droga incorporada foi analisada. O espectro de FTIR do sistema Fe_3O_4 -HA@AO-SINV (Figura 26) apresenta bandas, já discutidas anteriormente, que indicam a presença dos seus componentes.

Figura 26 - FTIR do sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA@AO-SINV}$ em comparação.



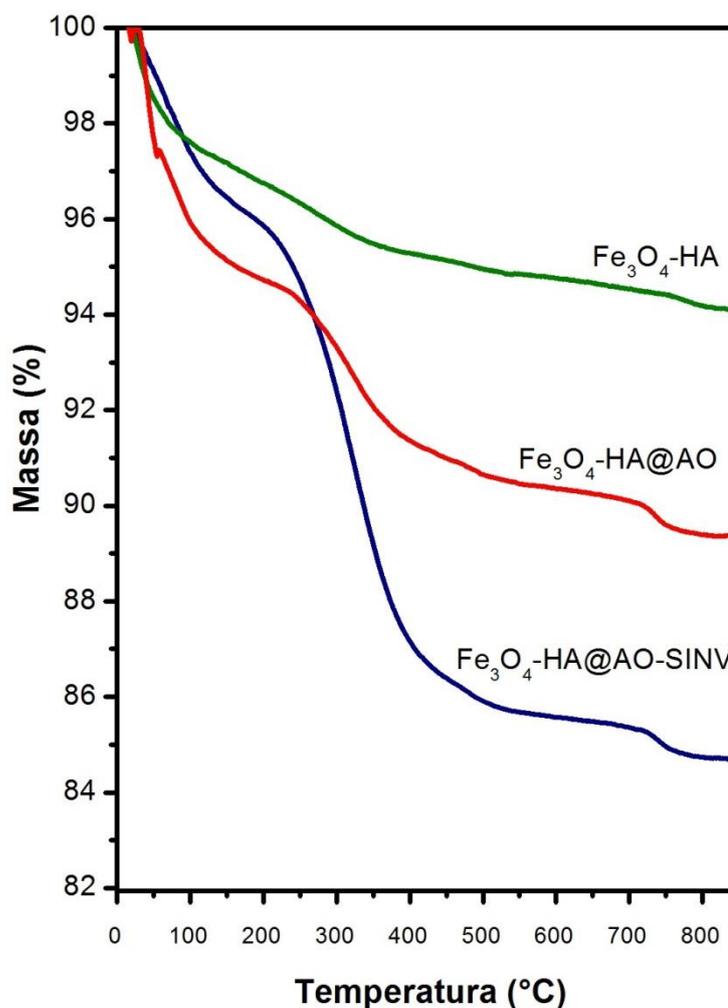
Fonte: próprio autor.

As bandas características da molécula de SINV podem ser observadas no espectro da Figura 26, em número de ondas aproximado como descrito no subitem 6.7. Foi observado que algumas bandas relativas a SINV foram sobrepostas pelas de HA, porém algumas das principais puderam ser observadas. Por exemplo, as bandas em torno de 2921,9 e 2850,6 cm^{-1} podem ser atribuídas a vibrações de estiramento de ligações C-H (TANDALE et al., 2011).

O termograma na Figura 27 apresenta quatro eventos para a amostra do compósito funcionalizado com sinvastatina, indicando a presença de espécies fisissorvidas, com perda de

massa total de 15,4%. Na faixa de temperatura, de 175-600°C, aproximadamente, na qual 14,5% da massa foi eliminada, observa-se três eventos que podem ser atribuídos a decomposição de SINV e perda de ácido oleico, fisissorvido e quimissorvido. A Figura 27 também exibe um comparativo entre os termogramas das três amostras, evidenciando as diferentes perdas de massa. A maior estabilidade térmica apresentada pela $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA}$ indica que a incorporação de AO e SINV à sua superfície foram realizadas com sucesso, pois não se observou perda de massa considerável para o compósito não funcionalizado.

Figura 27 - TG comparativo dos compósitos em relação ao sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA@AO-SINV}$.



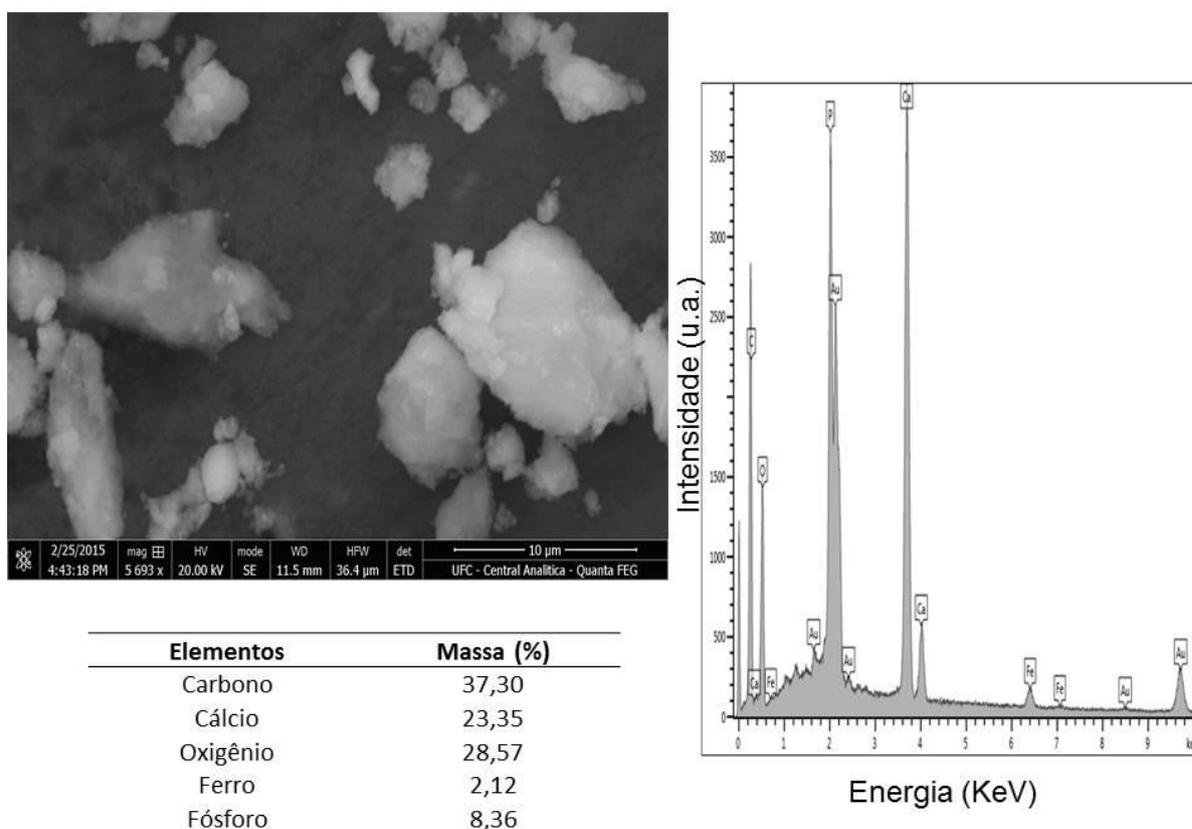
Fonte: próprio autor.

Diversos fatores podem ter influência sobre os resultados obtidos para incorporação de sinvastatina. Entre eles, a quantidade de ácido oleico adsorvida na NP. Além disso, outros aspectos relevantes a serem considerados são o desempenho dos dois sistemas na liberação do fármaco e o comportamento no organismo vivo.

6.9 Adição da Fe_3O_4 -HA@AO-SINV em scaffolds de Quitosana.

As nanopartículas funcionalizadas foram analisadas por microscopia eletrônica conforme a Figura 28. A morfologia das partículas demonstrou-se aparentemente amorfa, com placas sobrepostas formando grãos de tamanhos variados. É possível identificar a presença de carbono, constituinte principal da SINV, bem como os outros elementos do sistema via EDX.

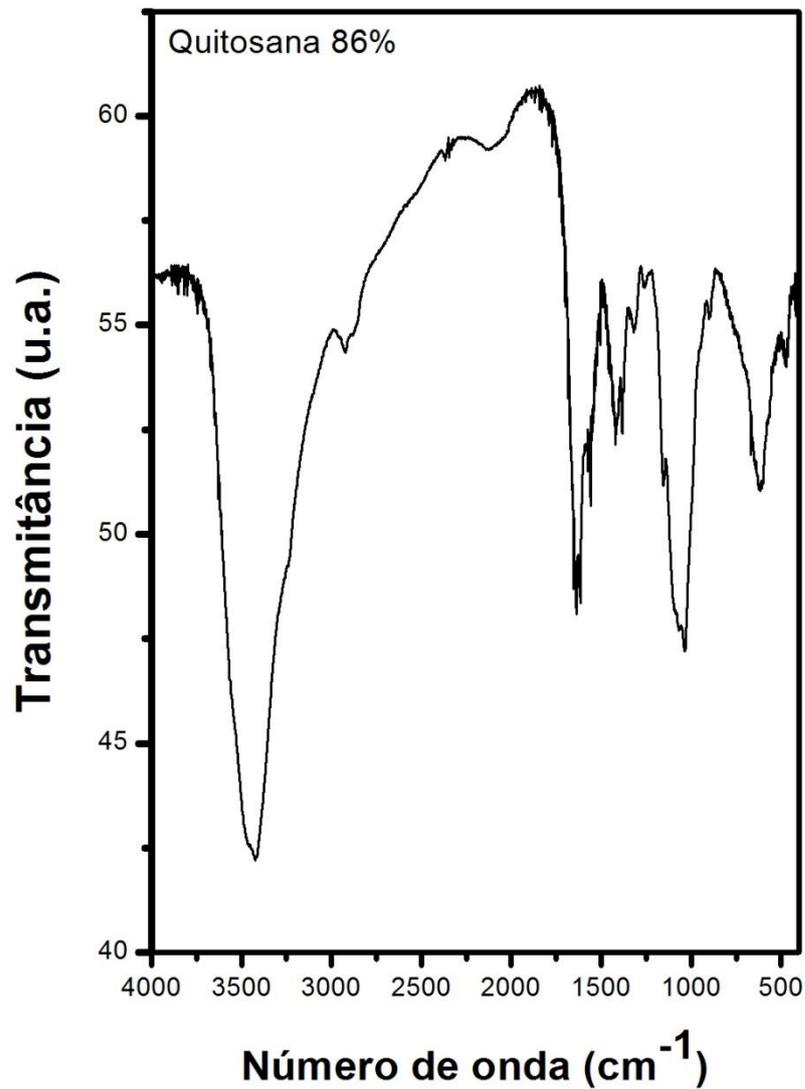
Figura 28 - Micrografias de MEV com EDX das nanopartículas de Fe_3O_4 -HA@AO-SINV



Fonte: Próprio autor.

A quitosana obtida comercialmente foi caracterizada por FTIR (Figura 29) para determinar as bandas correspondentes deste polímero após ter sido solubilizado em meio ácido, sonificado, congelado em nitrogênio líquido e em seguida liofilizado afim de obter um *scaffold* com porosidade e elasticidade com qualidade.

Figura 29 - FTIR do *scaffold* de quitosana 86%.

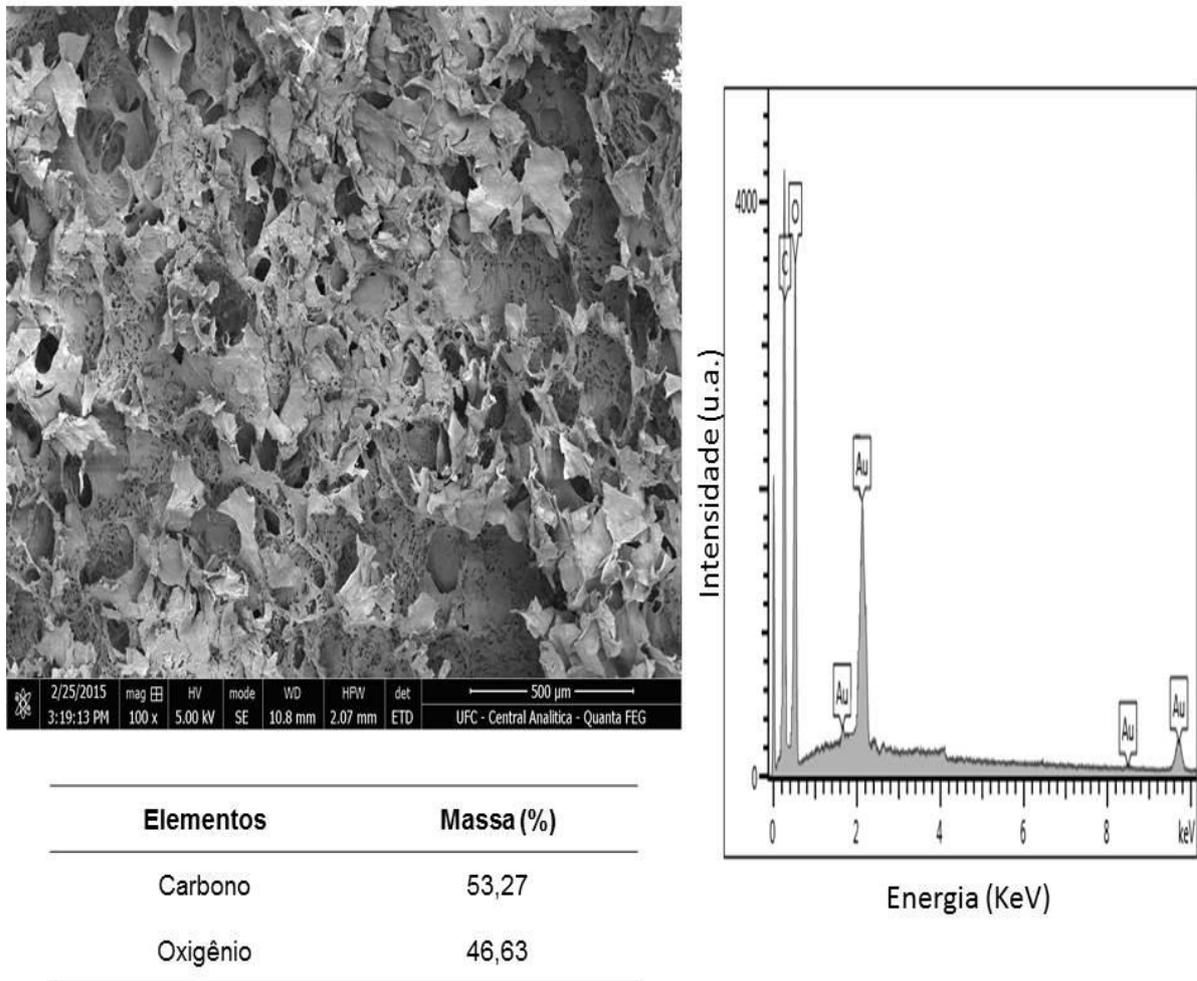


Fonte: Próprio autor.

As principais bandas evidenciadas em $\nu 3454\text{cm}^{-1}$ e em $\delta 1580\text{ cm}^{-1}$ (PAWLAK; MUCHA, 2003; ZHENG et al., 2001) referentes as ligações N-H, $\nu 2879\text{cm}^{-1}$ das ligações C-C, 1648 cm^{-1} da amida II e $\nu 1151\text{cm}^{-1}$ e 1021 cm^{-1} das ligações C-O da quitosana (KWEON; UM; PARK, 2001).

As microestruturas dos *scaffolds* de quitosana juntamente com o nanobiocompósito foram visualizadas no MEV (Figura 30). É possível observar uma estrutura com grandes quantidades de macroporos de diversos tamanhos, presentes na superfície e no interior do polímero. Esta característica é essencial para aplicação na engenharia de tecidos, contribuindo para elevar a taxa de difusão e permitir a melhor vascularização. Assim, pode melhorar o transporte de oxigênio, de nutrientes e remoção de resíduos (FONTES, 2010). Foi calculado uma média de diâmetro dos poros aleatoriamente no qual obteve-se valores de 11,75 - 57,3 μm .

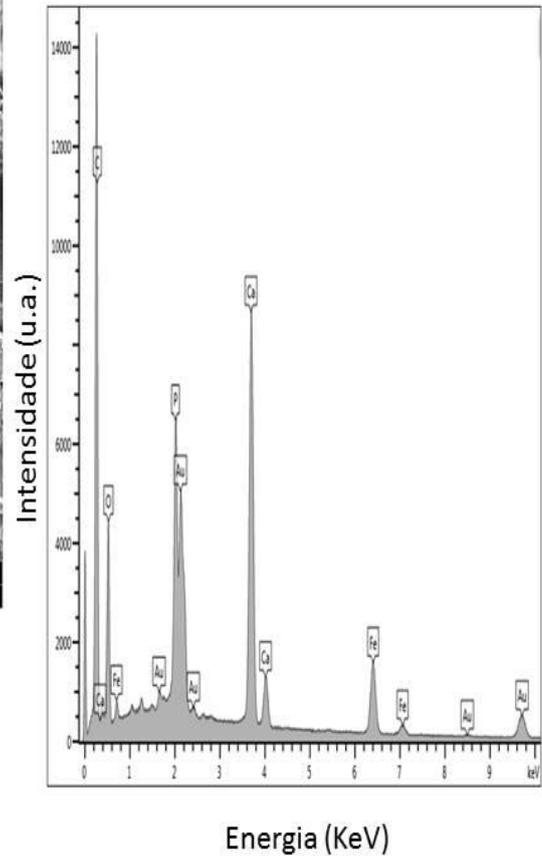
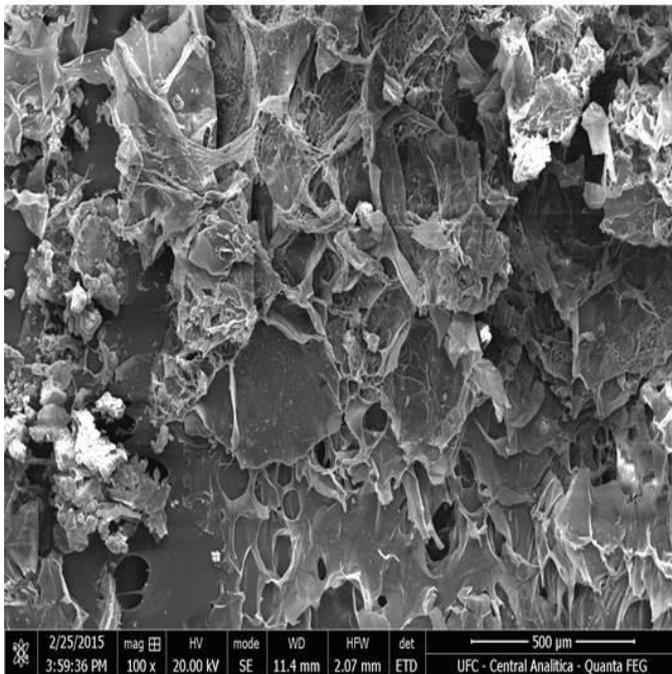
Figura 30 - Microscopias de MEV/EDX da quitosana pura.



Fonte: Próprio autor.

As esponjas de quitosana (*scaffolds*) foram misturadas com as nanopartículas funcionalizadas com SINV como determinado nas micrografias do MEV juntamente com EDX para analisar a composição do material (Figura 31). É possível perceber que os componentes presentes no compósito como ferro, cálcio, fósforo e oxigênio, bem como carbono que constitui o fármaco adsorvido e do ácido oleico. Nota-se também que as partículas estão distribuídas em todo o *scaffold*, entre as fibras de quitosana, assim como entre as membranas do polímero, o que indica uma homogeneidade na dispersão do compósito. Deve-se ressaltar que a presença da nanopartícula magnética torna o *scaffold* de quitosana um material com atração a um campo eletromagnético.

Figura 31 - Microscopias de MEV/EDX do compósito/*scaffold*.



Elementos	Massa (%)
Carbono	47,48
Cálcio	15,86
Oxigênio	23,76
Ferro	8,34
Fósforo	4,56

Fonte: Próprio autor.

Notou-se que após todo o processo de síntese dos *scaffolds*, o qual foi submetido a temperaturas negativas ao serem congeladas em nitrogênio líquido e em seguida liofilizadas, as esponjas de quitosana apresentaram magnetismo como se observa na Figura 32.

Figura 32 - Imagem do *scaffold* de quitosana adicionada de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA@AO-SINV}$ sob ação do ímã.



Fonte: Próprio autor.

As amostras de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-HA@AO-SINV}$ que foram inseridas nas esponjas de quitosana, mudaram a coloração da mesma evidenciando visualmente a presença dessas partículas magnéticas. A atração magnética sofrida pelo *scaffold* indicou a manutenção das propriedades do compósito, garantindo portanto, a presença de ferro na estrutura o que poderá ser utilizado nos testes *in vivo* como diferencial frente aos nanomateriais cerâmicos utilizados atualmente como agentes promotores de regeneração óssea. HA é um material muito similar ao mineral do osso, estando bem definido que osteoblastos (células formadoras de osso) crescem melhor na presença de HA cobertas com metais (WEBSTER et al., 1999). Acredita-se que a SINV se seletivamente direcionada ao osso, pode apresentar benefícios no tratamento de fraturas e osteoporose (MUNDY et al., 1999). A tecnologia de *scaffolds* utilizada atualmente, utilizando biomateriais para regeneração de tecidos, vem sendo explorada em larga escala e a quitosana se enquadra nos biopolímeros mais usados nessa área (KHOR; LIM, 2003).

7 CONCLUSÃO

Os resultados confirmam que o método hidrotérmico foi eficiente para a síntese de nanocristais de HA com controle de parâmetros estruturais e morfológicos. Os dados obtidos por DRX confirmaram a obtenção de HA sem fases secundárias e indicaram que a maior duração do tratamento hidrotérmico resulta no aumento de tamanho de partícula na direção do eixo-c. As microscopias de transmissão confirmaram esse resultado por apresentar cristais em formato de bastões produzindo um material com morfologia semelhante à HA natural do osso para assegurar ao produto final uma maior biocompatibilidade.

As nanopartículas magnéticas tiveram caráter superparamagnético. Observou-se que os valores para a Fe_3O_4 foi de aproximadamente 13,3nm (VSM) e 18,01nm (DRX). O ajuste das curvas de magnetização foi encontrado um valor aproximado de 27,5nm para o compósito magnético (Fe_3O_4 -HA). O estudo por espectroscopia na região do infravermelho revelou bandas ativas referentes às ligações para a HA e Fe_3O_4 isoladas, o que não tornou possível discriminar todas as bandas das ligações Fe-O no compósito formado.

O tamanho das partículas observado pelo MET foi de 40-100nm, levando-se em conta que fora escolhido aleatoriamente partículas visualizadas nas imagens. A pureza da SINV foi determinada por UV e DSC os quais concordaram com a literatura a respeito das características físico-químicas do fármaco. As micrografias obtidas pelo MEV do compósito e dos *scaffolds* foram analisadas e juntamente com o EDX de cada amostra, pode-se verificar a presença de todos os constituintes das partículas, bem como a porosidade das esponjas, o qual permite uma melhor assimilação do material ao alvo (tecido ou osso) a ser regenerado. Além da porosidade, a distribuição homogênea do material no *scaffold* foi observada, determinando um material sintetizado com êxito.

8 PUBLICAÇÕES NO PERÍODO DE MESTRADO

8.1 *Artigo Submetido*

CHAVES, A. V.; CARVALHO, E. V.; FREIRE, R. M.; FEITOSA, V. P.; DENARDIN, J. C.; RICARDO, N. M. P. S.; FECHINE, P. B. A. **Nanobiocomposite of hydroxyapatite and magnetite as pharmaceuticals carriers in chitosan scaffolds for bone regeneration (2015).**

8.2 *Trabalhos/resumos publicados em anais de congresso*

- CHAVES, A. V.; FEITOSA, V. P. ; MARTINS, D. V. ; MALLMANN, E. J. J. ; FECHINE, P. B. A. ; FREIRE, T. M. ; CUNHA, F. A. ; ROCHA, J. S. ; FREIRE, R. M. ; COSTA, V. M. . Novel Biomaterial composed by hydroxyapatite, magnetite and inoculation in scaffolds of chitosan for bone regeneration. 2014.
- CHAVES, A. V.; FECHINE, P. B. A. ; FEITOSA, V. P. ; FREIRE, T. M. ; ABREU, J. M. ; ANDRADE NETO, D. M. ; RODRIGUES, R. B. ; CARDOSO, F. A. C. . Syntesis of chitosan scaffolds octacalcium phosphate (OCP), dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) and b-tricalcium phosphate (b-tcp) for application in bone regeneration. 2014. XIII Encontro da SBPMat, 2014.
- CHAVES, A. V. ; CARDOSO, F. A. C. ; FECHINE, P. B. A. ; ANDRADE NETO, D. M. ; FEITOSA, V. P. ; CARVALHO, E. V. . Syntesis of octacalcium phosphate (OCP), dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) and b-tricalcium phosphate (b-tcp) for application in bone regeneration. 2014. XIII Encontro da SBPMat, 2014.
- CHAVES, A. V. ; MORAES, S. F. ; FEITOSA, V. P. ; COSTA, V. M. ; MARTINS, D. V. ; MALLMANN, E. J. J. ; FECHINE, P. B. A. . Novel nanobiocomposite based TiO₂ covered with hydroxyapatite coating for orthopedic and dental implants. 2014. XIII Encontro da SBPMat, 2014.

- CARVALHO, E.V.; COSTA, V. M.; NETO, D. M. A.; CHAVES, A. V.; CÂNDIDO, M. C. L.; SOUZA, N. D. G.; MARTINS, D. V.; FECHINE, P. B. A. Novel scaffold for bone regeneration compound of the hydroxyapatite, simvastatin and galactomanan. In: XII Encontro da SBPMat, 2013.
- CÂNDIDO, M. C. L.; CARVALHO, E.V.; COSTA, V. M.; NETO, D. M. A.; CHAVES, A. V.; SOUZA, N. D. G.; MARTINS, D. V.; CARDOSO, F. A. C. C.; FECHINE, P. B. A. Synthesis of octacalcium phosphate (OCP), dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) and inoculation of chitosan matrix for application in bone regeneration. . In: XII Encontro da SBPMat, 2013
- COSTA, V. M.; CHAVES, A.V.; CARVALHO, E.V.; PAIVA, D. V.M.; CÂNDIDO, M. C. L.; SOUZA, N. D. G.; MALLMANN, E. J. J.; FECHINE, P. B. A. Photoluminescent nanocomposites obtained from Magnetite / APTES system. In. : XII Encontro da SBPMat, 2013.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBEE, F. H. STUDIES IN BONE GROWTH: TRIPLE CALCIUM PHOSPHATE AS A STIMULUS TO OSTEOGENESIS. **Annals of Surgery**, v. 71, n. 1, p. 32-39, 1920.
- ALKSNE, J. F.; FINGERHUT, A. G. Magnetically controlled metallic thrombosis of intracranial aneurysms. A preliminary report. **Bull Los Angeles Neurol Soc**, v. 30, n. 3, p. 153-5, Sep 1965.
- ALMEIDA, A. F. L. et al. Optical and electrical properties of barium titanate-hydroxyapatite composite screen-printed thick films. **Solid State Sciences**, v. 6, n. 3, p. 267-278, 2004.
- AMIRFAZLI, A. Nanomedicine: magnetic nanoparticles hit the target. **Nat Nanotechnol**, v. 2, n. 8, p. 467-8, Aug 2007.
- ANBINDER, A. L.; QUIRINO, M. R. D. S.; ROCHA, R. F. D. Statins and bone tissue: a literature review. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 35, n. 4, p. 239-246, 2006.
- AQUINO, R. et al. Size control of MnFe₂O₄ nanoparticles in electric double layered magnetic fluid synthesis. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 252, n. 0, p. 23-25, 11// 2002.
- ARAÚJO, T. S. **Produção de Hidroxiapatita Pura e Dopada para Aplicação em Biosensores**. 2006. Dissertação (Mestrado). Física, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe.
- ARENDS, J. et al. A calcium hydroxyapatite precipitated from an aqueous solution: An international multimethod analysis. **Journal of Crystal Growth**, v. 84, n. 3, p. 515-532, 9// 1987.
- ARRUEBO, M. et al. Magnetic nanoparticles for drug delivery. **Nano Today**, v. 2, n. 3, p. 22-32, 6// 2007.
- AURIC, P. et al. Superparamagnetism and ferrimagnetism of the small particles of magnetite in a silicate matrix. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 50, n. 1, p. 97-106, 6// 1982.
- AZEVEDO, V. V. C. C., S. A; BEZERRA, D. C; LIA FOOK, M. V; COSTA, A. C. F. M. **Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais**. **REMAP**. Paraíba, Brasil. 2.3: 27-34 p. 2007.
- BALAKRISHNAN, H. et al. Novel toughened polylactic acid nanocomposite: Mechanical, thermal and morphological properties. **Materials & Design**, v. 31, n. 7, p. 3289-3298, 8// 2010.
- BARAKAT, A. M. N. et al. Physicochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: Extraction of biologically desirable HAp. **Materials Science and Engineering C**, v. 28, p. 1381-1387, 2008.
- BARRETO, A. C. H. et al. Magnetic nanoparticles for a new drug delivery system to control quercetin releasing for cancer chemotherapy. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 13, n. 12, p. 6545-6553, 2011/12/01 2011.
- BERGER, J. et al. Pseudo-thermosetting chitosan hydrogels for biomedical application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 288, n. 2, p. 197-206, 1/20/ 2005.
- BREWER, V. et al. Role of exercise in prevention of involutional bone loss. **Med Sci Sports Exerc**, v. 15, n. 6, p. 445-9, 1983.
- BRITO, G. F. et al. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6.2, p. 127-139, 2011.

C.V. SOUZA; H. L. LIRA, A. C. F. M. C. M. G. L. L. H. M. A. L. V. V. C. K. M. S. V. **Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações.** . Revista Eletrônica de Materiais e Processos. Universidade Federal de Campina Grande - PB, Brasil. 4: 29-38 p. 2009.

CALLISTER JR., W. D. **Materials Science and Engineering: An Introduction**. 8ª. 2010.

CAN, K.; OZMEN, M.; ERSOZ, M. Immobilization of albumin on aminosilane modified superparamagnetic magnetite nanoparticles and its characterization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 71, n. 1, p. 154-159, 6/1/ 2009.

CARVALHO, E. V. **Desenvolvimento de nanobiocompósitos para aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos**. 2013. 81 Dissertação (Mestrado). Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

CASAGRANDE, S. P.; BLANCO, R. C. Método de Ritveld para el estudio de estructuras cristalinas. **Revista De La Facultad de Ciencias De LA Uni - REVCIUNI**, v. 9, n. 1, 2005.

CATHERINE, C. B.; ADAM, S. G. C. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, n. 13, p. R198, 2003.

CHEN, J. et al. A simple sol-gel technique for synthesis of nanostructured hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic powders. **Materials Letters**, v. 65, n. 12, p. 1923-1926, 2011.

CHEN, L. J.; WANG, M. Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB-PHV copolymer. **Biomaterials**, v. 23, n. 13, p. 2631-9, Jul 2002.

CHEN, L. T.; WEISS, L. The role of the sinus wall in the passage of erythrocytes through the spleen. **Blood**, v. 41, n. 4, p. 529-37, Apr 1973.

CHESNUT, C. H. **Treatment of postmenopausal osteoporosis**. Compr Ther apud Aisenbrey JA. 1987. 10: 14-7 p. 1984.

CHIVRAC, F. et al. Starch-based nano-biocomposites: Plasticizer impact on the montmorillonite exfoliation process. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 4, p. 941-947, 3/17/ 2010.

COSTA-LOTUFO, L. V. **A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará**. Rev. Virtual Quim. 2: 47-58 p. 2010.

COSTA, A. C. F. D. M. et al. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 4, n. 3, 2009.

CRAVEIRO, A. A. C., A. C.; QUEIROZ, D. C. **Quitosana: a fibra do futuro**. Fortaleza, Ceará: Parque de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC, 1999. 124

DAVIES, J. E. **The bone material interface**. 1990. University of Toronto Press., Canada.

DE CARVALHO, J. F. et al. Synthesis of magnetite nanoparticles by high energy ball milling. **Applied Surface Science**, v. 275, n. 0, p. 84-87, 6/15/ 2013.

DONARUMA, L. G. Definitions in biomaterials, D. F. Williams, Ed., Elsevier, Amsterdam, 1987, 72 pp. **Journal of Polymer Science Part C: Polymer Letters**, v. 26, n. 9, p. 414-414, 1988.

EDELMAN, E. R. et al. Regulation of drug release from polymer matrices by oscillating magnetic fields. **J Biomed Mater Res**, v. 19, n. 1, p. 67-83, Jan 1985.

- FANCIO, E. **Aplicação do Método de Rietveld para Análise Quantitativa de fases dos polimorfos da zircônia por difração de raios x**. 1999. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FARAJI, A. H.; WIPF, P. Nanoparticles in cellular drug delivery. **Bioorg Med Chem**, v. 17, n. 8, p. 2950-62, Apr 15 2009.
- FECHINE, G. J. M. **A Era dos Polímeros Biodegradáveis**. Plástico Moderno 2010.
- FERREIRA, R. V. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com Núcleo Magnético de Magnetita**. 2009. Dissertação (Mestrado). Química, Universidade Federal de Minas Gerais
- FONTES, R. A. M. **Fabrico e Caracterização de Scaffolds à Base de Fosfatos de Cálcio**. 2010. Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- FORD, J. L.; TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis: techniques and applications**. Ellis Horwood, 1989. ISBN 9780745803463.
- FOY, S. P. et al. Optical imaging and magnetic field targeting of magnetic nanoparticles in tumors. **ACS Nano**, v. 4, n. 9, p. 5217-24, Sep 28 2010.
- FRAME, B., MCKENNA, M.J. . **Osteoporosis: Postmenopausal or secondary?** . Hosp Pract: 37-46 p. 1985.
- FRANCIS SUH, J. K.; MATTHEW, H. W. T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. **Biomaterials**, v. 21, n. 24, p. 2589-2598, 12/15/ 2000.
- FREEMAN, M. W.; ARROTT, A.; WATSON, J. H. L. Magnetism in Medicine. **Journal of Applied Physics**, v. 31, n. 5, p. S404-S405, 1960.
- G.C. HADJIPANAYIS, G. A. P. **Science and Technology of Nanostructured Magnetic Materials** 1991st. NATO Advanced Study Institute, Series B, 1991. ISBN 0306439247.
- GLOSSOP, J. R.; CARTMELL, S. H. Tensile strain and magnetic particle force application do not induce MAP3K8 and IL-1B differential gene expression in a similar manner to fluid shear stress in human mesenchymal stem cells. **J Tissue Eng Regen Med**, v. 4, n. 7, p. 577-9, Oct 2010.
- GOLDMAN, A. **Modern ferrite technology**. 2ª. Springer Science+Business Media, Incorporated, 2005. 438 ISBN 9780387294131.
- GOODSON, J. M. Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. **Periodontology** 2000, v. 5, n. 1, p. 142-168, 1994.
- GOULD, P. Nanomagnetism shows in vivo potential. **Nano Today**, v. 1, n. 4, p. 34-39, 11// 2006.
- GRANDE, C. J. et al. Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 5, p. 1605-1615, 2009.
- GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v. 33, p. 1352-1358, 2010.
- HENCH, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487-1510, 1991.
- HENWOOD, J. M.; HEEL, R. C. Lovastatin. A preliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic use in hyperlipidaemia. **Drugs**, v. 36, n. 4, p. 429-54, Oct 1988.
- HUA, M. Y. et al. Magnetic-nanoparticle-modified paclitaxel for targeted therapy for prostate cancer. **Biomaterials**, v. 31, n. 28, p. 7355-63, Oct 2010.

INTERNATIONAL, A. **Standard Specification for Compostable Plastics** 2004.

International Osteoporosis Foundation (OIF). . Congresso Mundial de Osteoporose da OIF - o primeiro congresso mundial na região com foco na doença que torna ossos frágeis. Rio de Janeiro: 14-18 p. 2004.

J.M. ANDERSON, A. R., D.T. CHANG, . **Foreign body reaction to biomaterials**. Semin. Immunol: 86-100 p. 2008.

JAIN, T. K. et al. Biodistribution, clearance, and biocompatibility of iron oxide magnetic nanoparticles in rats. **Mol Pharm**, v. 5, n. 2, p. 316-27, Mar-Apr 2008.

JANEGITZ, B. C. et al. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. **Química Nova**, v. 30, p. 879-884, 2007.

JEON, J. H. et al. Localized intermittent delivery of simvastatin hydroxyacid stimulates bone formation in rats. **J Periodontol**, v. 79, n. 8, p. 1457-64, Aug 2008.

JIANG, W. et al. Biodegradable poly(lactic-co-glycolic acid) microparticles for injectable delivery of vaccine antigens. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 57, n. 3, p. 391-410, Jan 10 2005.

KANCZLER, J. M. et al. Controlled differentiation of human bone marrow stromal cells using magnetic nanoparticle technology. **Tissue Eng Part A**, v. 16, n. 10, p. 3241-50, Oct 2010.

KHOR, E.; LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2339-49, Jun 2003.

KISHIDA, Y. et al. [Research and development of pravastatin]. **Yakugaku Zasshi**, v. 111, n. 9, p. 469-87, Sep 1991.

KNOWLES, J. C. et al. Structural changes of thermally sprayed hydroxyapatite investigated by Rietveld analysis. **Biomaterials**, v. 17, n. 6, p. 639-45, Mar 1996.

KOHANE, D. S.; LANGER, R. Biocompatibility and drug delivery systems. **Chemical Science**, v. 1, n. 4, p. 441-446, 2010.

KONG, L. B.; MA, J.; BOEY, F. Nanosized hydroxyapatite powders derived from coprecipitation process. **Journal of Materials Science**, v. 37, n. 6, p. 1131-1134, 2002.

KOST, J. et al. Magnetically controlled release systems: effect of polymer composition. **J Biomed Mater Res**, v. 19, n. 8, p. 935-40, Oct 1985.

KOST, J.; WOLFRUM, J.; LANGER, R. Magnetically enhanced insulin release in diabetic rats. **J Biomed Mater Res**, v. 21, n. 12, p. 1367-73, Dec 1987.

KUMAR, C. S.; MOHAMMAD, F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 63, n. 9, p. 789-808, Aug 14 2011.

KWEON, H.; UM, I. C.; PARK, Y. H. Structural and thermal characteristics of *Antheraea pernyi* silk fibroin/chitosan blend film. **Polymer**, v. 42, n. 15, p. 6651-6656, 7// 2001.

L. WANG, L. W., L. WANG, S. SONG Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanoparticles with various counterions as templates **J. Ceram. Soc. Japan** n. 118, p. 1195-1198 2010

LATHAM, A. H.; WILLIAMS, M. E. Controlling Transport and Chemical Functionality of Magnetic Nanoparticles. **Accounts of Chemical Research**, v. 41, n. 3, p. 411-420, 2008/03/01 2008.

- LIU, H. S. et al. Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method. **Ceramics International**, v. 23, n. 1, p. 19-25, 1997.
- LIU, S.; MAHESHWARI, R.; KIICK, K. L. Polymer-Based Therapeutics. **Macromolecules**, v. 42, n. 1, p. 3-13, 2009/01/13 2009.
- LIU, X.; MA, P. X. Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 3, p. 477-486, 2004.
- LUKERT, B. P. **Diagnosis and management of osteoporosis**: Compr Ther 10: 8-14 p. 1984.
- LUO, Y. et al. Docetaxel loaded oleic acid-coated hydroxyapatite nanoparticles enhance the docetaxel-induced apoptosis through activation of caspase-2 in androgen independent prostate cancer cells. **J Control Release**, v. 147, n. 2, p. 278-88, Oct 15 2010.
- MA, T.; XIA, Z.; LIAO, L. Effect of reaction systems and surfactant additives on the morphology evolution of hydroxyapatite nanorods obtained via a hydrothermal route. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 9, p. 4384-4388, 2011.
- MARKMAN, B. E. O.; ROSA, P. C. P. Avaliação de cápsulas manipuladas de simvastatina por análise térmica (DSC) e CLAE-UV. **Boletim do Instituto Adolfo Lutz Bial.**, v. 21, n. 1, p. 9-11, 2011.
- MATHEW, D. S.; JUANG, R.-S. An overview of the structure and magnetism of spinel ferrite nanoparticles and their synthesis in microemulsions. **Chemical Engineering Journal**, v. 129, n. 1-3, p. 51-65, 5/1/ 2007.
- MAVROPOULOS, E. **A hidroxiapatita como removedora de chumbo**. 1999. Escola Nacional de Saúde Pública e Toxicologia., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. .
- MEYERS, P. H.; CRONIC, F.; NICE, C. M., JR. EXPERIMENTAL APPROACH IN THE USE AND MAGNETIC CONTROL OF METALLIC IRON PARTICLES IN THE LYMPHATIC AND VASCULAR SYSTEM OF DOGS AS A CONTRAST AND ISOTOPIC AGENT. **Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med**, v. 90, p. 1068-77, Nov 1963.
- MITCHELL, S. L.; GRANT, S.; AITCHISON, T. Physiological Effects of Exercise on Post-menopausal Osteoporotic Women. **Physiotherapy**, v. 84, n. 4, p. 157-163,
- MOFFAT, A. C. et al. **Clarke's analysis of drugs and poisons: in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material**. Pharmaceutical Press, 2004. ISBN 9780853694731.
- MOHANTY, A. K. M., M; DRZAL, L. T. **Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites**. CRC Press, 2005. 896 ISBN 9780849317415.
- MORRIS, M. S. et al. Injectable simvastatin in periodontal defects and alveolar ridges: pilot studies. **J Periodontol**, v. 79, n. 8, p. 1465-73, Aug 2008.
- MUNDY, G. et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. **Science**, v. 286, n. 5446, p. 1946-9, Dec 3 1999.
- NAKAMURA, T. et al. Bioabsorption of polylactides with different molecular properties. **J Biomed Mater Res**, v. 23, n. 10, p. 1115-30, Oct 1989.
- NAVAS, L., LYLES, KW. **Osteoporose. In: Duthie, Katz. . Geriatria Pediátrica**. Rio de Janeiro: 211-20 p. 2002.
- NEER, R. M. et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. **N Engl J Med**, v. 344, n. 19, p. 1434-41, May 10 2001.

- NICOLETE, R.; DOS SANTOS, D. F.; FACCIOLI, L. H. The uptake of PLGA micro or nanoparticles by macrophages provokes distinct in vitro inflammatory response. **Int Immunopharmacol**, v. 11, n. 10, p. 1557-63, Oct 2011.
- NORDIN, B. C., B. NEED, A. HOROWITZ, M. The definition, diagnosis and classification of osteoporosis. **Elsevier B.V.**, p. 395-414, 1995.
- O'HAGAN, D. T.; SINGH, M. Microparticles as vaccine adjuvants and delivery systems. **Expert Rev Vaccines**, v. 2, n. 2, p. 269-83, Apr 2003.
- O'NEIL, M. J. **The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals**. Wiley, 2006. ISBN 9780911910001.
- OGUCHI, H. et al. Long-term histological evaluation of hydroxyapatite ceramics in humans. **Biomaterials**, v. 16, n. 1, p. 33-8, Jan 1995.
- OKUBE, M.; YASUE, T.; SASAKI, S. Residual-density mapping and site-selective determination of anomalous scattering factors to examine the origin of the Fe K pre-edge peak of magnetite. **Journal of Synchrotron Radiation**, v. 19, n. 5, p. 759-767, 2012.
- OKUDA, K. et al. Minocycline slow-release formulation effect on subgingival bacteria. **J Periodontol**, v. 63, n. 2, p. 73-9, Feb 1992.
- OLIVEIRA, L. S. D. A. F. O., C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. **Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras**. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*. UFBA. 9: 37-44 p. 2010.
- OLIVEIRA, M. A. D. et al. Análise térmica aplicada à caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 33, p. 1653-1657, 2010.
- OLIVEIRA, M. A. D.; YOSHIDA, M. I.; LIMA GOMES, E. C. D. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, p. 1224-1230, 2011.
- OLSSON, D. C. et al. Comportamento biológico de matriz scaffold acrescida de células progenitoras na reparação óssea. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2403-2412, 2008.
- P.G., P. **Osteoporose e exercícios**. *Rev Hosp Clín Fac Med São Paulo*: 163-170 p. 1997.
- PAIVA, L. C. et al. Impact of degenerative radiographic abnormalities and vertebral fractures on spinal bone density of women with osteoporosis. **Sao Paulo Med J**, v. 120, n. 1, p. 9-12, Jan 3 2002.
- PANKHURST, Q. A. et al. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, n. 13, p. R167, 2003.
- PANSERI, S. et al. Magnetic hydroxyapatite bone substitutes to enhance tissue regeneration: evaluation in vitro using osteoblast-like cells and in vivo in a bone defect. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e38710, 2012.
- PARK, J. B.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials: Principles and Applications**. Taylor & Francis, 2002. ISBN 9780849314919.
- PAWLAK, A.; MUCHA, M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. **Thermochemica Acta**, v. 396, n. 1-2, p. 153-166, 2/5/ 2003.
- PHILLIPS, M. A.; GRAN, M. L.; PEPPAS, N. A. Targeted nanodelivery of drugs and diagnostics. **Nano Today**, v. 5, n. 2, p. 143-159, 4// 2010.
- PLANK, C. Nanomagnetosols: magnetism opens up new perspectives for targeted aerosol delivery to the lung. **Trends Biotechnol**, v. 26, n. 2, p. 59-63, Feb 2008.

- POLONINI, H. C. et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação do teor de simvastatina em cápsulas magistrais. **Química Nova**, v. 34, p. 516-519, 2011.
- POLYAK, B. et al. High field gradient targeting of magnetic nanoparticle-loaded endothelial cells to the surfaces of steel stents. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 2, p. 698-703, Jan 15 2008.
- PONOMAREVA, N. et al. Microemulsion method for producing hydroxyapatite. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 905-908, 2010.
- PRAMANIK, S. et al. Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process. **Ceramics International**, v. 33, n. 3, p. 419-426, 2007.
- PRIJIC, S. et al. Increased cellular uptake of biocompatible superparamagnetic iron oxide nanoparticles into malignant cells by an external magnetic field. **J Membr Biol**, v. 236, n. 1, p. 167-79, Jul 2010.
- RAVI KUMAR, M. N. V. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p. 1-27, 11// 2000.
- RAY, S. S. B., M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. **Progress in Materials Science**, v. 50, n. 8, p. 962-1079, 11// 2005.
- REGE, P. R.; GARMISE, R. J.; BLOCK, L. H. Spray-dried chitinosans. Part I: preparation and characterization. **Int J Pharm**, v. 252, n. 1-2, p. 41-51, Feb 18 2003.
- RENNÓ ACM, D. P., FERREIRA **Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis**. Consensus Development Conference. MED, A. J. 2001 1993.
- RENNÓ, A. C. M., DRIUSSO, P., FERREIRA, V. . **Atividade física e osteoporose: uma revisão bibliográfica**. Fisioter Mov 49-54 p. 2001.
- RIBEIRO, T. G. D. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas de óxidos mistos de MnFe₂O₄ recobertas com quitosana. Estudos da influência da dopagem com Gd³⁺ nas propriedades estruturais e magnéticas**. . 2008. dissertação (Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais)). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- RIMAN, R. E. I. P., R. E BERGSTRÖM, L. in High Performance Ceramics: Surface Chemistry in Processing Technology. **Marcel-Dekker**, p. 29, 1993.
- RITTER, J. A. et al. Application of high gradient magnetic separation principles to magnetic drug targeting. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 280, n. 2-3, p. 184-201, 9// 2004.
- RODRIGUES, P. O. et al. Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, n. 3, p. 383-387, 2005.
- ROJBANI, H. et al. Evaluation of the osteoconductivity of α -tricalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 98A, n. 4, p. 488-498, 2011.
- RONG HUEI, C.; HWA, H.-D. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane. **Carbohydrate Polymers**, v. 29, n. 4, p. 353-358, 4// 1996.
- ROSSI, A. M., ET AL. **A ciência e tecnologia das biocerâmicas**. Revista do CBPF: Journal of American Ceramic Society 2008.
- SAEED ARAYNE, M. et al. In Vitro Evidences For Simvastatin And Losartan Potassium Interaction And Its In Vivo Implications. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 54, p. 432-436, 2009.

- SAKODA, K. et al. Simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cells. **J Dent Res**, v. 85, n. 6, p. 520-3, Jun 2006.
- SANTOS, M. L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Eclética Química**, v. 30, p. 29-35, 2005.
- SILVA JUNIOR, P. E.; ORÉFICE, R. L. Compósitos Bioativos Obtidos a Partir da Inserção de Vidro Bioativo em Matriz de Poli(Metacrilato de Metila). **Polímeros**, v. 11, p. 109-115, 2001.
- SILVA, M. H. P. D. Apostila de Biomateriais. 2006.
- SINAKI, M. Postmenopausal spinal osteoporosis: physical therapy and rehabilitation principles. **Mayo Clin Proc**, v. 57, n. 11, p. 699-703, Nov 1982.
- SODERLIND, F. et al. Synthesis and characterisation of Gd₂O₃ nanocrystals functionalised by organic acids. **J Colloid Interface Sci**, v. 288, n. 1, p. 140-8, Aug 1 2005.
- SOO CHOI, H. et al. Renal clearance of quantum dots. **Nat Biotech**, v. 25, n. 10, p. 1165-1170, 10//print 2007.
- SUCHANEK, W. L. R., R. E. Hydrothermal Synthesis of Advanced Ceramic Powders. **Advances in Science and Technology**, v. 45, p. 184 - 193, 2006.
- SUN, C. et al. PEG-mediated synthesis of highly dispersive multifunctional superparamagnetic nanoparticles: their physicochemical properties and function in vivo. **ACS Nano**, v. 4, n. 4, p. 2402-10, Apr 27 2010.
- SZEJNFELD, V. L. **Reumatologia. In: Prado FC, Ramos J, Valle JR. Atualização terapêutica.** São Paulo: 1434-7 p. 2001.
- TANDALE, P.; JOSHI, D.; GAUD, R. S. Formulation and Evaluation of Extended Release Solid Dispersions Conatining Simvastatin. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 3, p. 13-19, 2011.
- TEBBLE R. S., C. D. J. Magnetic Materials. **Journal of Molecular Structure** p. 151-152, 1969.
- TODD, P. A.; GOA, K. L. Simvastatin. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in hypercholesterolaemia. **Drugs**, v. 40, n. 4, p. 583-607, Oct 1990.
- TOYAMA, T.; NAKASHIMA, K.; YASUE, T. Hydrothermal Synthesis of β -Tricalcium Phosphate from Amorphous Calcium Phosphate. **Journal of the Ceramic Society of Japan** v. 110, n. 1284, p. 716-721, 2002.
- TRAN, N.; HALL, D.; WEBSTER, T. J. Mechanisms of enhanced osteoblast gene expression in the presence of hydroxyapatite coated iron oxide magnetic nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 23, n. 45, p. 455104, Nov 16 2012.
- V. V. C. AZEVEDO, S. A. C., D. C. BEZERRA, M. V. LIA FOOK, A. C. F. M.COSTA. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2.3, p. 27-34, 2007.
- VALENZUELA, R. **Magnetic Ceramics**. 1st. Cambridge University Press, 1994. 336 ISBN 978-0521364850.
- VARANDAN, V. C., L.; XIE, X. **Nanomedicine: Design and Applicationsof Magnetic Nanomaterials, Nanosensors and Nanosystems**. 2008. ISBN 978-0-470-03351-7.
- VAZIRI, H. et al. Effect of simvastatin administration on periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. **J Periodontol**, v. 78, n. 8, p. 1561-7, Aug 2007.
- VISWANATHAN, K.; NAYAR, V. U.; ARULDHAS, G. Vibrational spectra of cesium tellurate phosphate. **Infrared Physics**, v. 26, n. 6, p. 353-356, 11// 1986.

- WANG, L. et al. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanoparticles with various counterions as templates. **Journal of the Ceramic Society of Japan**, v. 118, n. 1384, p. 1195-1198, 2010.
- WEBSTER, T. J. et al. Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. **Biomaterials**, v. 21, n. 17, p. 1803-10, Sep 2000.
- WEBSTER, T. J.; SIEGEL, R. W.; BIZIOS, R. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics. **Biomaterials**, v. 20, n. 13, p. 1221-7, Jul 1999.
- WESKA, R. F. et al. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 3, p. 749-753, 6// 2007.
- WHEDON, G. D. **Osteoporosis**. . N Engl J Med 397-8 p. 1981.
- WIDDER, K. J.; SENYEL, A. E.; SCARPELLI, G. D. Magnetic microspheres: a model system of site specific drug delivery in vivo. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 158, n. 2, p. 141-6, Jun 1978.
- WILLIAMS, D. F. **The Williams Dictionary of Biomaterials**. Liverpool University Press, 1999. ISBN 9780853237341.
- WILLIAMS, D. F. **On the mechanisms of biocompatibility**. Biomaterials: 2941–2953 p. 2008.
- YAMAURA, M. et al. Preparation and characterization of (3-aminopropyl)triethoxysilane-coated magnetite nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 279, n. 2–3, p. 210-217, 8// 2004.
- YAZAWA, H. et al. Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. **J Periodontol**, v. 76, n. 2, p. 295-302, Feb 2005.
- YIN, A. et al. Physical parameters of hydroxyapatite adsorption and effect on candidacidal activity of histatins. **Archives of Oral Biology**, v. 48, n. 5, p. 361-368, 2003.
- ZHANG, W. et al. Multifunctional Pluronic P123/F127 mixed polymeric micelles loaded with paclitaxel for the treatment of multidrug resistant tumors. **Biomaterials**, v. 32, n. 11, p. 2894-906, Apr 2011.
- ZHAO, Y. T. E. A. Synthesis of NiFe₂O₄ Powders Well Defined in Size and Morphologies. **Chinese Chemical Letters**, v. 13, p. 389-392, 2002.
- ZHENG, H. et al. Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) blend fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 80, n. 13, p. 2558-2565, 2001.
- ZHOU, H.; LEE, J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. **Acta Biomater**, v. 7, n. 7, p. 2769-81, Jul 2011.