



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LUANA DE MORAIS SEMIÃO

***SCAFFOLDS* DE SÍLICAS POROSAS E GALACTOMANANA PARA
BIOMINERALIZAÇÃO ÓSSEA**

FORTALEZA

2020

LUANA DE MORAIS SEMIÃO

SCAFFOLDS DE SÍLICAS POROSAS E GALACTOMANANA PARA
BIOMINERALIZAÇÃO ÓSSEA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nágila M. P. S. Ricardo.

Coorientadora: Dr^a. Arcelina Pacheco Cunha.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S474s Semião, Luana de Moraes.
Scaffolds de silicas porosas e galactomanana para biomineralização óssea / Luana de Moraes Semião. – 2020.
71 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2020.

Orientação: Profª. Dra. Nágila M. P. S. Ricardo..

Coorientação: Profª. Dra. Arcelina Pacheco Cunha.

1. Scaffolds . 2. Silica. 3. Galactomanana. I. Título.

CDD 540

LUANA DE MORAIS SEMIÃO

SCAFFOLDS DE SÍLICAS POROSAS E GALACTOMANANA PARA
BIOMINERALIZAÇÃO ÓSSEA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Antoninho Valentini
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Antonia Fádía Valentim de Amorim
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Aos meus avós, Manoel e Maria.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sumo autor de toda sabedoria e de todo saber, detentor de toda a verdade.

Aos meus pais, Antonia Luciene de Moraes Semião e Francisco Semião Belo, que sempre me apoiaram em toda a jornada, de todo o dinheiro gasto na minha formação, seja me mantendo em Fortaleza, comprando livros, emprestando os ouvidos para ouvir minhas lamúrias quando achava que não iria conseguir, enfim por todo amor e apoio, principalmente da minha mãe que acompanhou de maneira mais próxima todos esses dez anos de formação acadêmica. Não teria chegado a canto nenhum sem o seu apoio.

Às minhas irmãs, Ana Lúcia de Moraes Semião e Maria Eduarda de Moraes Semião, que sempre foram os meus consolos.

Aos meus familiares, especialmente, Maria Vilma de Moraes, Pedro Henrique de Moraes Melo, Gabriel Araújo de Moraes, Amanda Aquino de Moraes, Francisco Honório de Moraes, Ana Semião da Silva Claudino, Ana Paula Belo da Silva e Rita de Cassia Simião da Silva que sempre me acolheram, me amaram e me ajudaram a levar a vida com mais leveza.

À Universidade Federal do Ceará pela oportunidade de realização do trabalho.

À Professora Dra. Nágila Ricardo pelo apoio, incentivo, orientação, amizade e compreensão, principalmente no período mais delicado da minha vida.

À Dra. Arcelina Pacheco Cunha pela coorientação e por todos os conselhos.

À Dra. Ethanielda de Lima Coelho por sua amizade, por muitas vezes me ouvir e me ajudar a como lidar com as vicissitudes da vida. E por toda a ajuda na elaboração da patente e da tese.

À Dra. Antonia Flávia Justino Uchoa por compartilhar seus conhecimentos, por toda ajuda desde o início do mestrado e que perdurou até hoje com o doutorado, muito obrigada.

Ao Professor Daniel Mauricio Azevedo da Paixão Silva pela sua imensa contribuição na minha história de vida, por acreditar em mim e me ensinar que eu podia ir além. Obrigada Professor por todo o incentivo ao estudo, a leitura e a criticidade. Dedico esse trabalho, de maneira muito especial, a você.

À Professora Ana Lúcia Sales Lima, *in memoriam*, por ter me ensinado a persistir mesmo nas dificuldades, sem a sua ajuda não teria nem passado no vestibular, que dirá estar terminando um curso de doutorado. Você foi a principal motivação desse estudo. A minha admiração e afeto por você perdurará pelo resto da minha vida.

Aos meus amigos, Denise de Paula Araujo, Mara Livia Rodrigues, Matheus da Guia Freitas, Paulo Roque Bacelar da Silva, Vanessa Marusa Viana, Francisca Viviane Matos Soares, Áurea Raquel Alexandre de Azevedo, Karla Damasceno Uchôa da Costa, Sarah Macedo Martins, Lucas Teles da Silva, Raquel Freitas da Silva, Thiago Henrique Ferreira de Sousa, Geovania Canafistula, Lucas Pitágoras Aguiar Bôto, Luanna Maria Frota Fonseca, Salomão Jonas Agustinho Nunes e Clarisse Cicera Marinho Oliveira. Vocês são os tesouros da minha vida, tenho cada um em alta estima. Vocês me ajudaram cada um, em momento muito crucial na minha vida, a vocês minha gratidão.

Aos meus amigos Rebeca Moreira de Queiroz, Francisco Robson da Silva Castro, Francisca Adriana Texeira Holanda e Jamily Marciano Fonseca que me acolheram e me ajudaram muito nos primeiros anos morando sozinha em Fortaleza e que me privilegiam com suas amizades até hoje.

Aos meus irmãos de célula, Maria Zuleica Porto de Galiza, Larissa Santos de Oliveira, Renata da Silva Barros, Caio Vinicius Souza da Cunha, Francisco Valclécio Monção Sousa, Samia Rackel Barros de Oliveira, Patrycia Fernandes Moura, Eva D'Argila Rodrigues de Souza, que sempre rezaram por mim e me ajudaram nessa jornada.

À Adriana Maria Leitão de Almeida que é como uma mãe para mim, que cuidou de mim e me ajudou tanto nessa caminhada, expressar minha gratidão é o mínimo que eu poderia fazer por tudo o que ela fez por mim.

À Maria Elizabete Souza de Oliveira, Maria Neirilane Franca Felix, Hercília Maria Costa de Souza Magalhães, especialmente Iza Angelica Gomes Cedro e Erlindo Salgado Trovão Filho que me acolheram no momento mais frágil da minha vida.

À Renata da Silva Barros, Áurea Raquel Alexandre de Azevedo, Roberto Sócrates Gomes de Brito que me ajudaram no experimento de citotoxicidade.

Aos alunos João Antônio Costa de Sousa e Luan Fonseca que me ajudaram bastante nos experimentos e na interpretação desses experimentos.

Às minhas parceiras de laboratório e de labuta Ana Carolina Barbosa Ribeiro e Arcelina Pacheco Cunha por todas as noites sem dormir trabalhando nos experimentos, artigos e tese.

Aos meus amigos da Universidade Federal do Ceará, Pedro Martins da Silva Filho, Ricardo Douglas de Sousa Bernardo, Alison Batista da Silva, Moisés Albuquerque de Araujo e Mayrla Rocha Lima, pelas análises e conhecimento compartilhado.

Aos meus colegas do Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LabPIM) que ao longo desse tempo me ajudaram a crescer como ser humano, aprendendo a lidar com

as mais diversas situações. Gostaria de destacar aqueles que acrescentaram de alguma forma na minha formação: Francisco Willame Alves Bezerra, Débora Hellen, Raquel Freitas da Silva e Katarina Botelho Saraiva.

A todos os meus professores da Universidade Federal do Ceará, do curso de Pós-Graduação em Química, pela contribuição no meu aperfeiçoamento acadêmico.

Aos professores participantes da banca examinadora Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola, Prof. Dr. Antoninho Valentini, Profa. Dra. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal e Profa. Dra. Antonia Fádía Valentim de Amorim pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Às funcionárias Tereza, Regina e Lyara pelas análises.

À funcionária Célia, da Coordenação da Pós-Graduação em Química, pelo pronto atendimento e serviços prestados com paciência e dedicação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

“Quanto mais a Química me permite conhecer a complexidade dos minúsculos corpos, mais eu aprendo a admirar a imensidão de Deus.”
Guilherme Rodrigues Figueiredo.

RESUMO

Muitas osteopatias adquiridas no decorrer do desenvolvimento humano ou acidentes podem comprometer a capacidade de regeneração do tecido ósseo. Os *scaffolds* são biomateriais que são preparados para atuar como suportes para liberação de substâncias ativas responsáveis, pela reparação do osso, a fim de se ter uma boa regeneração do tecido ósseo lesionado, agindo como coadjuvante no processo de reparação óssea, principalmente em tecidos com deficiência de cálcio. Nesse sentido, foram desenvolvidos *scaffolds* de sílicas porosas e galactomanana. Os biomateriais produzidos foram caracterizados por Espalhamento de Raios-X em Baixo Ângulo (SAXS), Análise Termogravimétrica (TG/DTG), Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FT-IR), Análise Elementar, Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As análises de Adsorção-dessorção de N₂ (BET) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) comprovam a ordenação estrutural das sílicas utilizadas na formação do material híbrido dando a eles resistência térmica. Através do MEV foi possível observar a morfologia dos *scaffolds*, onde se evidencia a presença de microfibras que mimetizam a morfologia óssea. Através das análises de FTIR e TG/DTG, foram evidenciadas bandas e eventos característicos de compatibilidade da galactomanana e sílicas de cada *scaffold* produzido. A produção de *scaffolds* de galactomanana, sílicas porosas e cálcio poderá favorecer uma melhoria na aplicabilidade destes novos biomateriais para a medicina óssea regenerativa.

Palavras-chave: *Scaffolds*. Sílica. Galactomanana.

ABSTRACT

Many osteopathies acquired during human development or accidents can compromise the ability of bone tissue to regenerate. Scaffolds are biomaterials that are prepared to act as supports for the release of active substances responsible for bone repair, in order to provide a good regeneration of the injured bone tissue, acting as an adjunct in the bone repair process, mainly in calcium-deficient tissues. In this sense, porous and galactomannan silica scaffolds were developed. The biomaterials produced were characterized by Small Angle X-Ray Scattering (SAXS), Thermogravimetric Analysis (TG/DTG), Infrared Absorption Spectroscopy (FT-IR), elemental analysis, optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-OES) and scanning electron microscopy (SEM). The analysis of N₂ Adsorption-desorption (BET) and Transmission Electron Microscopy (TEM) proved the structural ordering of the silicas used in the formation of the hybrid material giving them thermal resistance. Through SEM it was possible to observe the morphology of the scaffolds, with the presence of microfibers that mimic bone morphology. Also, by FTIR and TG/DTG analyses, bands and characteristic events of compatibility of galactomannan and silicas of each scaffold produced were evidenced. The production of galactomannan scaffolds, porous silicas and calcium could favor an improvement in the applicability of this new biomaterial for regenerative bone medicine.

Keywords: Scaffolds. Silica. Galactomannan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do corte do tecido ósseo e suas estruturas. À direita, um sistema de Havers isolado	19
Figura 2 – Estrutura óssea e as células que compõem o osso	20
Figura 3 – Esquema de biomineralização óssea	22
Figura 4 – Mecanismo genérico de síntese das sílicas SBAs	23
Figura 5 – Representação esquemática de uma micela esférica em meio aquoso	24
Figura 6 – Estrutura geral dos Pluronics®	25
Figura 7 – Estrutura do bloco de poli(óxido de etileno) (E_n) e poli(óxido de estireno)(S_m)	25
Figura 8 – Estrutura da galactomanana do Jucá	27
Figura 9 – Exemplos de macroestruturas (a e b) e microestruturas (c e d) de <i>scaffolds</i>	29
Figura 10 – Fluxograma da preparação da sílica SBA-16	32
Figura 11 – Fluxograma da preparação da sílica UFC-A.....	33
Figura 12 – Fluxograma da preparação da sílica UFC-A – BuOH	34
Figura 13 – Fluxograma da preparação das sílicas Ca- UFC-A e Ca-SBA-16	35
Figura 14 – Espectro de infravermelho para as sílicas (a) Ca-UFC-A; (b) Ca-SBA-16; (c) UFC-A – BuOH; (d) SBA-16 e (e) UFC-A	41
Figura 15 – Espectro de infravermelho para os <i>scaffolds</i> S1, S2, S3, S4, S5 e para a galactomanana	43
Figura 16 – Curvas termogravimétricas para sílicas (a) SBA-16, (b) UFC-A, (c) Ca-UFC-A, (d) Ca-SBA-16 e (e) UFC-A - BuOH.....	44
Figura 17 – Curvas de TGA e DTG para as amostras: (a) Galactomanana; (b) S1; (c) S2; (d) S3; (e) S4 e (e) S5	45
Figura 18 – Isoterma de adsorção e dessorção de N_2 para as sílicas (a) SBA-16, (c) Ca-SBA-16; distribuição de tamanho de poros para a sílica (b) SBA-16, (d) Ca-	47

SBA-16.....	
Figura 19 – Isotermas de adsorção e dessorção de N ₂ para as sílicas: (a) UFC-A, (c) UFC-A - BuOH, (e) Ca-UFC-A; distribuição de tamanho de poros para as sílicas (b) UFC-A, (d) UFC-A - BuOH, (f) Ca- UFC-A	49
Figura 20 – Espalhamento de raios-X a baixo ângulo para as amostras (a) SBA-16, (b) S4, (c) Ca-SBA-16 e (d) S1	50
Figura 21 – Espalhamento de raios-X a baixo ângulo para as amostras (a) UFC-A,(b) UFC-A-BuOH, (c) Ca- UFC-A,(d)S3, (e)S5, (f) S2, respectivamente	53
Figura 22 – Micrografias (MEV) e espectros de EDS dos <i>scaffolds</i>	55
Figura 23 – Micrografias de Transmissão para as sílicas (a) Ca-UFC-A, (b) Ca-SBA-16, (c) UFC-A - BuOH, (d) SBA-16 e (e) UFC-A	57
Figura 24 – Avaliação da toxicidade de S1, S2, S3, S4 e S5 no teste MTT em neutrófilos humanos. Hanks: células não tratadas, controle (controle negativo), Triton X-100 (0,2%, controle positivo). * vs. veículo (água). Os resultados representam médias ± SEM. (p <0,05; ANOVA e teste post hoc de Tukey)	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atribuições das bandas para as sílicas	42
Tabela 2 – Atribuições das bandas para os <i>scaffolds</i> S1, S2, S3, S4, S5 e para a galactomanana.....	43
Tabela 3 – Efeito da adição de Ca e butanol na estrutura de poros de amostras de sílica determinadas por isotermas de adsorção / dessorção de N ₂	48
Tabela 4 – Propriedades texturais e estruturais das amostras SBA-16, S4, Ca-SBA-16 e S1	51
Tabela 5 – Propriedades texturais e estruturais das amostras UFC-A, UFC-A -BuOH, Ca- UFC-A, S3, S5, S2	54
Tabela 6 – Resultados apresentados em mg. L ⁻¹ para as amostras	59
Tabela 7 – Análise elementar dos <i>scaffolds</i> e das sílicas	60
Tabela 8 – Avaliação da toxicidade de S1, S2, S3, S4 e S5 medida pela atividade da lactato desidrogenase (LDH) em neutrófilos humanos. Hanks: células não tratadas, controle (água, controle negativo), Triton X-100 (0,2%, controle positivo). * Vs. controle (controle negativo). Os resultados representam médias ± SEM. (p <0,05; ANOVA e teste post hoc de Tukey)	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BET	Brunauer, Emmett e Teller
BJH	Barret, Joyner e Halenda
BuOH	n-Butanol ou álcool n-butílico
Ca- UFC-A	Sílica UFC-A modificada com cálcio
Ca-SBA-16	Sílica SBA-16 modificada com cálcio
CMC	Concentração Micelar Crítica
E ₄₃ S ₁₄ E ₄₃	Óxido de etileno (E) e óxido de estireno (S)
UFC-A- BuOH	Sílica UFC-A utilizando álcool n-butílico como co-surfactante
EDS	Espectro de energia de dispersão
FT-IR	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho
GM	Galactomanana
ICP-OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LDH	Enzima lactato desidrogenase
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MTT	Brometo 3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio
pH	Potencial Hidrogeniônico
S1	<i>Scaffold</i> de galactomanana e sílica SBA-16
S2	<i>Scaffold</i> de galactomanana e sílica UFC-A
S3	<i>Scaffold</i> de galactomanana e sílica Ca- UFC-A
S4	<i>Scaffold</i> de galactomanana e sílica Ca-SBA-16
S5	<i>Scaffold</i> de galactomanana e sílica UFC-A-BuOH
SAXS	Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (<i>Small-angle X-ray Scattering</i>)
SBA	<i>Santa Barbara Amorphous</i>
DAS	Agente Direcionador de Estrutura (<i>Structure Directing Agent</i>)
TEOS	Tetraortosilicato
TGA/DTG	Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	Tecido ósseo	19
2.2	A biomineralização no osso	21
2.3	Sílicas Porosas	22
2.3.1	<i>Agentes direcionadores de estrutura</i>	24
2.3.2	<i>Modificação química da sílica</i>	26
2.4	Galactomanana	26
2.5	<i>Scaffolds</i>	28
3	OBJETIVOS	30
3.1	Objetivo geral	30
3.2	Objetivos específicos	30
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	31
4.1	Isolamento e purificação da galactomanana (GM) das sementes de <i>Caesalpinia férrea</i> Mart ex Tul. Var <i>Ferrea</i>	31
4.2	Preparação das sílicas	31
4.2.1	<i>Reagentes e solventes para preparação das sílicas</i>	31
4.2.2	<i>Síntese da sílica SBA-16</i>	32
4.2.3	<i>Síntese da sílica UFC-A</i>	32
4.2.4	<i>Síntese da sílica UFC-A-BuOH</i>	33
4.2.5	<i>Síntese das sílicas Ca-SBA-16 e Ca- UFC-A</i>	34
4.3	Preparação dos <i>Scaffolds</i> S1, S2, S3, S4 e S5	35
4.4	Avaliação da Citotoxicidade	37
4.4.1	<i>Isolamento de Polimorfonucleares (PMN)</i>	37
4.4.2	<i>Avaliação da Enzima lactato desidrogenase</i>	37
4.4.3	<i>Teste do MTT</i>	38
4.5	Instrumental	39
4.5.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)</i>	39
4.5.2	<i>Análises Termogravimétricas (TG/DTG)</i>	39
4.5.3	<i>Adsorção-dessorção de N₂</i>	39
4.5.4	<i>Espalhamento de raios-X a baixo ângulo (SAXS)</i>	39

4.5.5	<i>Análise Elementar</i>	40
4.5.6	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	40
4.5.7	<i>Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)</i>	40
4.5.8	<i>Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)</i>	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)	41
5.2	Análises Termogravimétricas (TG/DTG)	43
5.3	Adsorção-dessorção de N₂	47
5.4	Espalhamento de raios-X a baixo ângulo - SAXS (<i>Small Angle X-Rays Scattering</i>)	50
5.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	54
5.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	56
5.7	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)	59
5.8	Análise Elementar	59
5.9	Ensaio de citotoxicidade	60
6	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

O osso tem a capacidade de crescimento bem ordenado, regeneração e remodelação para satisfazer necessidades mecânicas e regeneração após danos. No entanto, quando há algum problema, como doenças adquiridas no decorrer da vida ou acidentes, podem comprometer a capacidade óssea de regeneração sendo em alguns casos necessário o tratamento com o uso de enxertos ósseos para reparação do tecido (O'BRIEN et al., 2014; BRYDONE et al., 2010; ORCIANI et al., 2017).

Nos tratamentos tradicionais para lesões ósseas utilizam-se enxertos ou autógenos, que o tecido obtido provém do próprio indivíduo (WANG & YEUNG, 2017) e autólogos, são aqueles em que o tecido provém de outro indivíduo (GOYER et al., 2019). Nesses tratamentos a resposta osteogênica é maior, contudo, não são isentas de problemas pós-cirúrgicos, como as infecções e ou rejeições imunológicas (OLSSON et al., 2008). Uma das alternativas para ajudar na regeneração do tecido ósseo e sua reconstituição é a aplicação de biomateriais (materiais híbridos) para implantes ósseos. Desta forma, há um interesse no desenvolvimento desses materiais devido sua baixa toxicidade (DA SILVA et al., 2015), fácil produção, biocompatibilidade e biodegradabilidade (OLSSON et al., 2008; WILLIAMS, 2008).

Materiais híbridos são constituídos pela combinação dos componentes orgânicos e inorgânicos, que normalmente, apresentam propriedades complementares, oferecem flexibilidade, boa estabilidade térmica e química, onde estas características não são encontradas em materiais puramente orgânicos, gerando um único material compósito, cujas propriedades apresentam melhorias em relação às características dos seus constituintes de origem (KIM, 2003). Um desses materiais híbridos é denominado *scaffold*.

Scaffolds ou estruturas 3D são suportes em que se podem alojar substâncias ativas, responsáveis pela reparação do osso, a fim de se ter uma boa regeneração do tecido ósseo lesionado, assegurando a sua permanência no local e auxiliando a ação do ativo (CHAUDHURY et al., 2014), como componente coadjuvante no processo de reparação óssea. Geralmente são compostos por um polímero orgânico, que dá flexibilidade e maleabilidade ao material, tais como: (poli (ϵ -caprolactona), poli (ácido láctico)) (DA SILVA et al., 2015), galactomanana e quitosana (NAVARRO et al., 2008; POLO-CORRALES et al., 2014). E por um polímero inorgânico, que dá resistência mecânica ao *scaffold*, como por exemplo, as cerâmicas, polissiloxanos (GODOY et al., 2010) e sílica, assim como as fibras de silicatos de

cálcio em conjunto com os polímeros exibem boa compatibilidade (SIQUEIRA et al., 2017; SHIRAZI et al., 2014).

O termo sílica refere-se aos compostos formados por unidades estruturais constituídas de silício (Si) e oxigênio (O), cuja fórmula é SiO_2 , nas suas várias formas, incluindo as sílicas naturais e as sintéticas (HAYASHI et al., 2000). As sílicas de origem natural são encontradas em minerais como o quartzo (Quazto, 2018) e em plantas como bambu (SAPEI et al., 2007), em cascas de arroz (XUE et al., 2020) e na cevada (KALIDAS et al., 2020). Entretanto, a maior parte da sílica utilizada em aplicações químicas e físicas tem origem sintética. As sílicas porosas apresentam boa estabilidade térmica da parede e alta resistência mecânica, capacidade de modificação estrutural e uma elevada área superficial (HOFFMANN et al., 2006; DERBALAH et al., 2018). Essas propriedades podem ser ajustáveis de acordo com as condições de síntese: escolha do agente direcionador de estrutura (SDA), variação de pH e temperatura. Essas variáveis influenciam diretamente na estrutura da sílica (DENG et al., 2013; MA et al., 2013; HUIRACHE-ACUNA et al., 2014).

Outro material interessante para ajudar no arcabouço dos *scaffolds* é o polímero orgânico natural galactomanana. Esse polímero é um polissacarídeo de baixa toxicidade, constituído de um eixo estrutural (cadeia principal) de manose com grupos laterais (ramificação) de galactose (CHEN et al., 2018), cuja extração é feita do endosperma, nesse caso, de plantas leguminosas pertencentes à família *Leguminosae* ou *Fabaceae*, uma delas, conhecida popularmente como pau-ferro ou Jucá (BALBACH, 2017).

O Jucá é oriundo do Nordeste Brasileiro, cujo nome da espécie é *Caesalpinia Ferrea*, considerada como um dos mais proveitosos biomateriais devido suas diversas propriedades. A galactomanana (GM) foi escolhida em virtude de sua fácil obtenção, abundância na natureza e pelo baixo custo (VILARÓ et al., 2018). Além disso, apresenta biocompatibilidade, biodegradabilidade, não é tóxico, não é carcinogênico (ZHOU et al., 2018) e devido a sua alta viscosidade, a sílica fica dispersa ao longo da GM (SUMATHI, 2002).

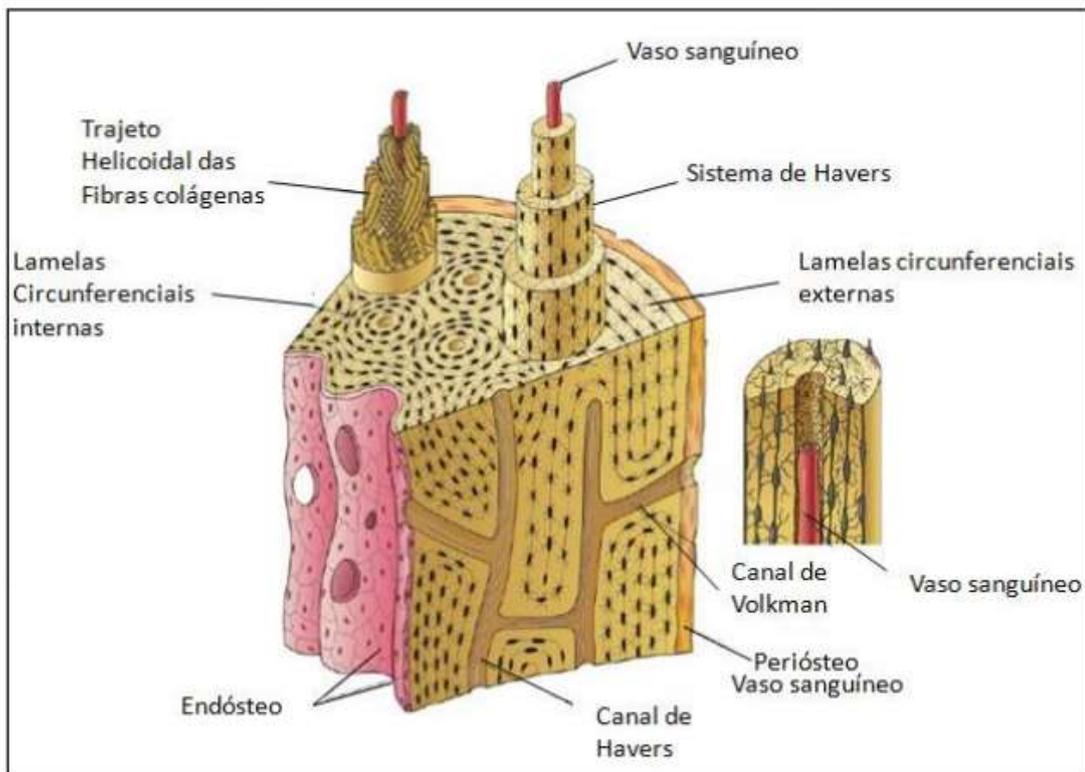
A preparação de *scaffolds* à base de galactomanana e sílicas porosas poderá ser uma alternativa para a reestruturação óssea de pacientes com o tecido danificado. Essa junção poderá favorecer uma melhoria e a aplicabilidade deste novo biomaterial para a medicina óssea regenerativa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tecido ósseo

O tecido ósseo é vascularizado e innervado, estando em equilíbrio dinâmico. O tecido do osso pode ser classificado, histologicamente, em primário e secundário. O tecido ósseo primário, tanto no desenvolvimento embrionário como em uma reparação óssea, fratura, é o primeiro que aparece sendo temporário e substituído pelo tecido secundário. O secundário possui lamelas que se dispõem em camadas concêntricas em torno de um canal central (COSTA et al., 2012). Nesse canal central, também chamado de canal de Havers, é por onde nervos e vasos sanguíneos passam. Essa estrutura formada pela matriz concêntrica juntamente ao canal de Havers é chamada de sistema de Havers (Figura 1).

Figura 1 - Esquema do corte do tecido ósseo e suas estruturas. À direita, um sistema de Havers isolado



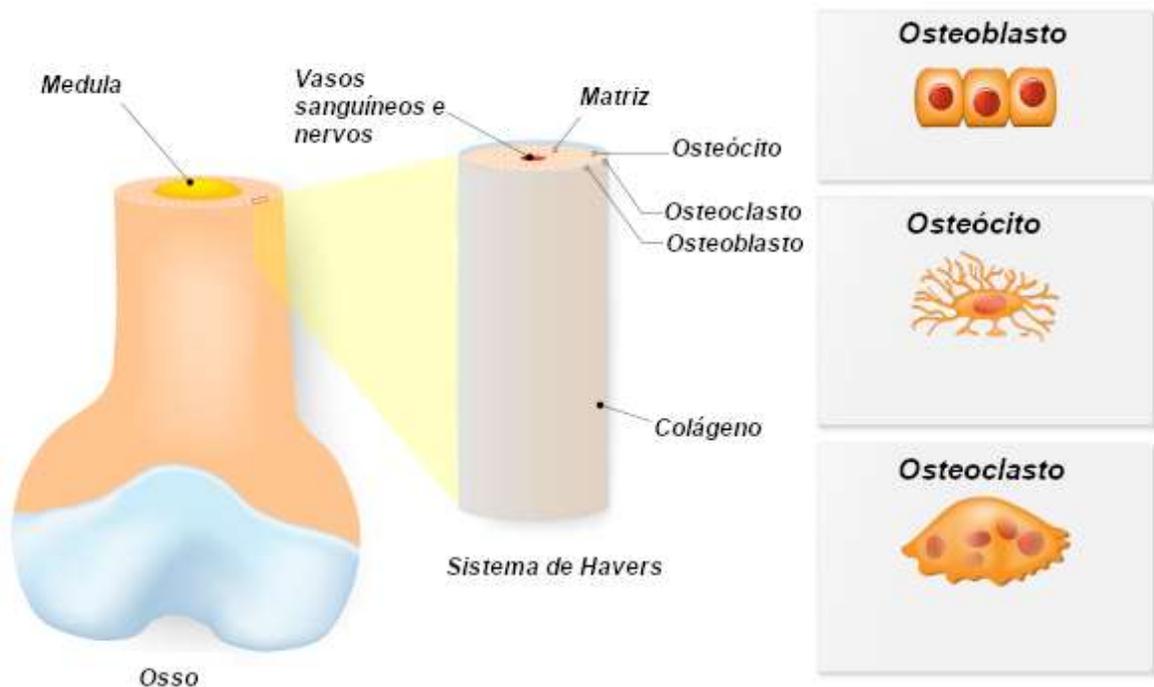
Fonte: JUNQUEIRA E CARNEIRO (2008).

O osso se encontra em constantes processos de remodelação e regeneração espontânea. Esta atividade é consequência de três principais tipos de células, das quais constituem o tecido ósseo, são elas: os osteoblastos, os osteócitos e os osteoclastos, ilustradas na Figura 2. O primeiro tipo celular tem a função de sintetizar a matriz óssea não

mineralizada. Assim que ocorre a sua síntese, cerca de 70% da matriz óssea são mineralizados e a porção remanescente sofre mineralização gradual (NUNES e NUNES, 1988).

Os osteócitos são células derivadas dos osteoblastos, essas células são responsáveis por manter a viabilidade do tecido ósseo e a reabsorção da matriz e dos minerais do osso pela osteólise osteocítica, essencial para conservar constantes os níveis de cálcio extracelulares. A principal função dos osteoclastos é promover a reabsorção óssea, quando ativado, por osteoclasia. Sendo assim, o osso é um tecido multifuncional, ou seja, responde a uma variedade de estímulos, tais como: os biológicos, bioquímicos e biomecânicos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Figura 2 - Estrutura óssea e as células que compõem o osso



Fonte: SANTOS (2020).

O tecido ósseo é composto por uma matriz extracelular óssea, contendo duas partes distintas. A primeira parte é orgânica não mineralizada formada essencialmente por fibras de colágeno tipo I (ROSS e PAWLINA, 2016), e a segunda composta por uma fase inorgânica mineralizada formada principalmente de íons fosfato e de íons cálcio, onde constituem os mais concentrados na Matriz. Há também bicarbonato, magnésio, potássio, dentre outros, em pequenas quantidades. O cálcio e o fósforo formam os cristais de hidroxiapatita (AMINI et al., 2012). O tecido ósseo é o único tecido com capacidade de crescimento e remodelação óssea que se desenvolve em dois processos antagônicos, porém acoplados, a formação e reabsorção do osso. Esses dois processos permitem a remodelação e

regeneração e é controlado por um complexo sistema que inclui hormônios, fatores físicos e fatores humorais (PEREIRA, 2010).

O tecido ósseo humano é um reservatório de cálcio. Esse íon é importante para vários processos biológicos, tais como permeabilidade da membrana, adesão celular, coagulação sanguínea, transmissão do impulso nervoso e contração muscular (MONTANARI, 2016). Para o funcionamento normal do organismo é necessário que a concentração de cálcio na corrente sanguínea seja constante. A manutenção de concentrações adequadas de cálcio no sangue é prioridade à manutenção da integridade estrutural do osso. O processo catabólico ou reabsorção óssea tem a função de manter constantes as concentrações de cálcio extracelulares. A aposição óssea, que é a síntese e mineralização da matriz óssea, têm dois principais objetivos: a reposição do tecido perdido pelo processo catabólico e a adaptação do órgão as condições funcionais (BLAND, 2000).

Contudo, ao longo da vida, fatores como: idade, doenças, mobilidade diminuída, algumas drogas, qualidade de vida, dentre outros, são preponderantes para a vitalidade óssea. Estes fatores podem alterar o equilíbrio entre formação e reabsorção, principalmente em função da isocalcemia. Assim, observam-se alterações no metabolismo, na absorção de cálcio e no perfil hormonal que acarretam em osteopatias como, por exemplo, a osteoporose, o câncer ósseo, dentre outras.

2.2 A biomineralização no osso

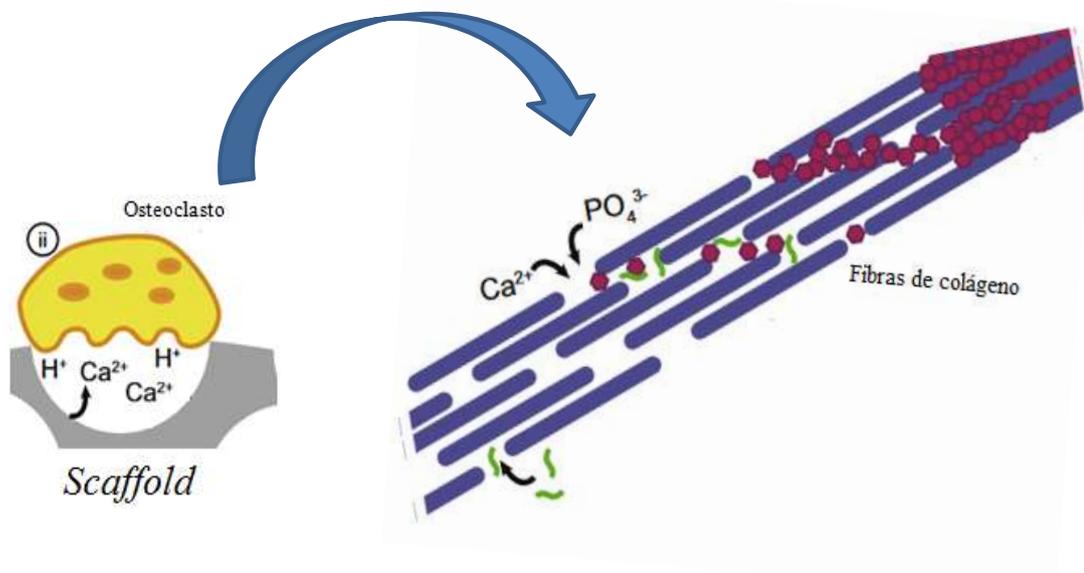
A biomineralização seria uma mineralização do tecido ósseo iniciado sob comando celular, sendo que as etapas do processo seriam por mecanismos mediados por componentes da matriz. Os resultados dos estudos de biomineralização realizados por Rustom e colaboradores mostraram que vesículas da matriz derivadas de osteoblastos e odontoblastos, em diferenciação, iniciam a deposição de mineral na estrutura óssea (RUSTOM et al., 2018). As células desenvolvem estruturas específicas, junções oclusivas, que compartimentalizam parcialmente a matriz jovem, enquanto estas terminam sua diferenciação, passando a secretar proteínas não colágenas para continuar o processo da mineralização.

Segundo Veis e Dorvee (VEIS e DORVEE, 2013) são poucas as discussões sobre biomineralização frente ao processo de utilização do cálcio e do fosfato na mineralização óssea, todavia estudos pioneiros apontam para o papel das mitocôndrias em ingerir grandes quantidades de íons cálcio (Ca^{2+}) e íons fosfato (PO_4^{3-}), acumulando-os e entregando fosfato

de cálcio vesiculares na membrana da matriz, para os espaços extracelulares da cartilagem mineralizadora e osso (VEIS e DORVEE, 2013).

A Figura 3 ilustra o mecanismo de mineralização do tecido ósseo. Quando o organismo sofre alguma injúria no tecido e há a necessidade de repor os íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} , os osteoclastos iniciam a retirada dos íons presentes no *scaffold* e as proteínas colágenas e não colágenas capturam os íons fornecidos pelas células ósseas (osteoclastos), que serão transportados até o local onde ocorrerá o crescimento dos cristais de fosfato de cálcio formando a apatita do osso (RUSTOM et al., 2018).

Figura 3 - Esquema de biomineralização óssea



Fonte: RUSTOM et al. (2018, com adaptações).

2.3 Sílicas Porosas

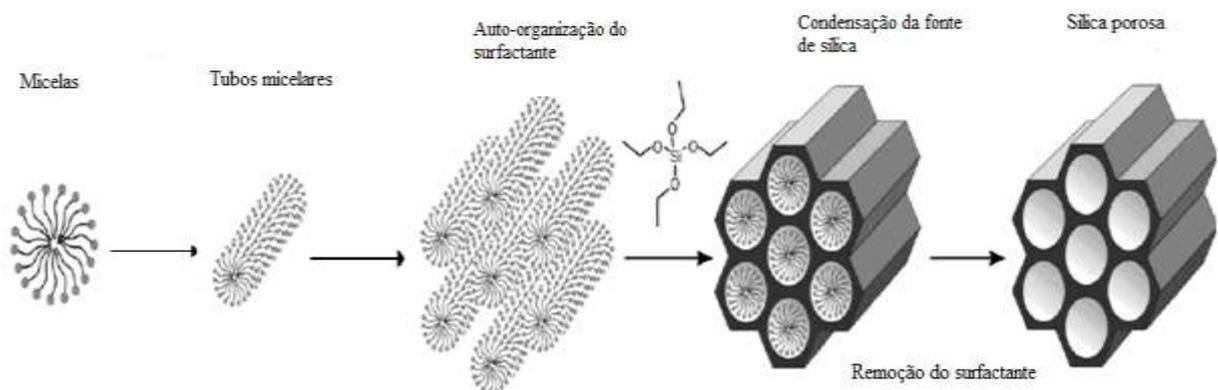
Sílicas porosas são classificadas de acordo com o diâmetro do poro, segundo a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), como: macroporosas, materiais que possuem diâmetro do poro maior que 50 nm; mesoporosas, diâmetro do poro que compreende entre 2 a 50 nm e microporosas, diâmetro do poro menor que 2,0 nm (IUPAC, 1972; SCHUTH et al., 2002). Ainda dentro do âmbito dos microporosos há duas subcategorias: a dos ultramicroporos, diâmetro do poro menor que 0,7 nm, e os supermicroporos, diâmetro de poros entre 0,7 e 2 nm (OLIVEIRA, 2019; THOMMES et al., 2015; MEYNEN et al., 2009).

A síntese desses materiais porosos foi iniciada na década de 1940 (MILTON, 1989). Em 1992, a *Mobil Oil Company* desenvolveu a primeira família de sílicas porosas denominadas M41S, apresentando poros ordenados e uma elevada área superficial, apesar de sua amorfia (MEYNEN et al., 2009). A síntese consistia na interação do agente direcionador de estrutura (surfactante), que conduzem à formação do composto estruturado e ordenado, e uma fonte de silício (FLOREK et al., 2014; HOFFMANN et al., 2006).

Em 1998, foram sintetizados novos materiais na Universidade de Santa Bárbara os quais foram denominados SBA (*Santa Barbara Amorphous*), esses materiais foram desenvolvidos utilizando um copolímero tribloco como agente direcionador e tetraetilortosilicato (TEOS) como fonte de silício. Essas novas sílicas apresentaram elevada área superficial, estreita distribuição de poros, como também poros bem ordenados e consideráveis estabilidades térmicas devido a uma maior espessura nas paredes de sílica desses materiais (FERNANDES et al., 2016; TANGA et al., 2011).

Na síntese das sílicas SBA (Figura 4), o surfactante se organiza formando micelas, as quais se agregam formando tubos e conseqüentemente esses tubos se agregam. Em seguida, há uma incorporação de uma camada de sílica em torno dos tubos micelares e a condensação, através da hidrólise do tetraetilortosilicato, que forma a estrutura da parede da sílica. Por último, há a remoção do surfactante que pode ser via calcinação ou extração por solvente (DENG et al., 2013).

Figura 4 - Mecanismo genérico de síntese das sílicas SBAs



Fonte: KUMAR, et al. (2017, com adaptações).

A sílica mesoporosa SBA-16, por exemplo, tem estrutura cúbica tridimensional (SHAH et al., 2014). Sua síntese utiliza como agente direcionador, um copolímero tribloco não iônico denominado Pluronic F127 e um sal inorgânico sob condições ácidas. Essa sílica

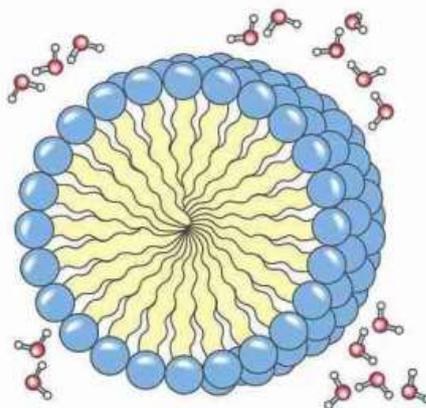
apresenta alta porosidade, elevada área superficial, estabilidade térmica da parede e poros mais largos (KHEZRI e MAHDAVI, 2016).

Seguindo a mesma metodologia para síntese de materiais porosos, foi feita a síntese da sílica UFC-A utilizando o surfactante $E_{43}S_{14}E_{43}$, um copolímero em bloco de poli(oxialquileno), onde foram caracterizadas e estudadas suas características físicas e químicas. Além do surfactante $E_{43}S_{14}E_{43}$, foi utilizado na síntese um co-direcionador e co-solvente, o álcool n-butílico ($C_4H_{10}O$), onde esse álcool teve a função de influenciar no comportamento das micelas, gerando um aumento no tamanho do poro da sílica (WANG et al., 2009; KLEITZ et al., 2003).

2.3.1 Agentes direcionadores de estrutura

Para a síntese das sílicas utilizam-se surfactantes que são denominados agentes direcionadores de estrutura. Surfactantes são macromoléculas de caráter anfifílico, ou seja, sua estrutura contém uma extremidade hidrofóbica (apolar) e outra hidrofílica (polar). A primeira forma o centro da micela, já que não há afinidade com o meio, enquanto que a segunda compõe a parte externa da micela (Figura 5), fica orientada para o diluente. A forma da micela determinará como será a estrutura da sílica (ISRAELACHVILI et al., 1976). Parâmetros como a concentração micelar crítica (CMC), que é a concentração mais baixa em que um surfactante está em equilíbrio com a micela, o pH do meio e a temperatura de síntese são importantes para a formação da estrutura final da sílica (IYER e BLANKSCHTEIN, 2012).

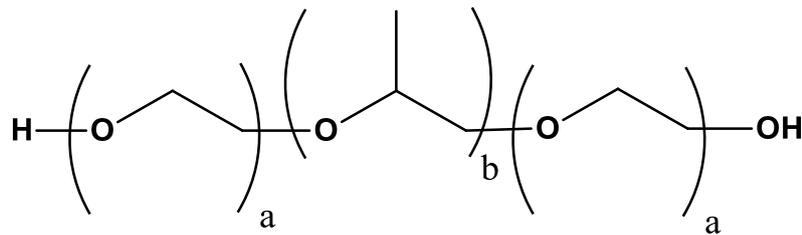
Figura 5 - Representação esquemática de uma micela esférica em meio aquoso



Fonte: MICELAS Y LIPOSSOMAS (2020).

Pluronic F127 é um surfactante não iônico composto por monômeros de poli(óxido de etileno) (Figura 6 (a)) e poli(óxido de propileno) (Figura 6 (b)), cuja fórmula geral $EO_{106} PO_{70} EO_{106}$, com massa molar média de 13000 g/mol, contendo aproximadamente 70% de óxido de etileno, responsável pelo caráter hidrofílico, balanço controlado pela combinação da quantidade de monômeros hidrofílico. Esse copolímero é utilizado na síntese da sílica SBA-16, dando-a uma estrutura cúbica (YOUNG et al., 2004).

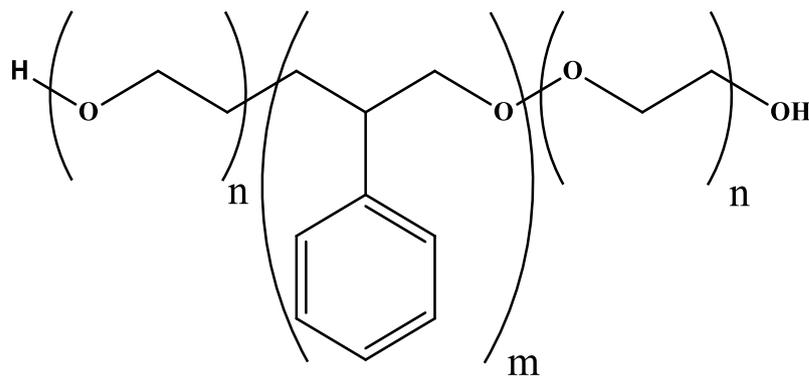
Figura 6 - Estrutura geral dos Pluronic[®]



Fonte: Autor.

$E_{43}S_{14}E_{43}$ é um copolímero em bloco de poli(oxialquilenos) (não iônico), formado por monômeros de poli(óxido de estireno) (S_m) ($OCH_2CH(C_6H_5)$) (Figura 7, estrutura (m)) e poli(óxido de etileno) (E_n) (C_2H_4O) (Figura 7, estrutura (n)), com massa molar média de 5470 g/mol (OLIVEIRA et al., 2015). Esse copolímero foi utilizado como direcionador na síntese da sílica UFC-A.

Figura 7 - Estrutura do bloco de poli(óxido de etileno) (E_n) e poli(óxido de estireno) (S_m)



Fonte: Autor.

2.3.2 Modificação química da sílica

A superfície da sílica contém grupos silanois (Si-OH), que agem como centros de reação ou de adsorção molecular, formando ligações Si-O-X, onde X pode ser um átomo de metal ou um grupo orgânico, agregando mais uma característica a sílica porosa: a incorporação de heteroátomos e/ ou funções orgânicas na superfície ou no interior da sílica (SALES, 2003).

Há dois principais métodos de modificação da sílica: pós-síntese e a co-condensação. No processo de modificação denominado pós-síntese, é realizada a síntese da sílica e em seguida é feita a incorporação dos átomos em sua estrutura (HOFFMANN et al., 2006; AMGARTEN, 2006). A vantagem do método é a retenção da estrutura inicial da sílica, considerando que o revestimento das paredes é acompanhado pela redução da porosidade do material modificado. A desvantagem é que se os íons cálcio reagem preferencialmente nas entradas dos poros durante o estágio inicial da síntese, a difusão dos íons mais afastados para o centro dos poros pode ser prejudicada, o que pode resultar na distribuição não homogênea e em um baixo grau de ocupação (HOFFMANN et al., 2006).

No segundo processo, o de co-condensação, os átomos são componentes diretos da matriz da sílica, ou seja, são inseridos concomitantemente a síntese da sílica porosa (UDAYAKUMAR et al., 2008). Nesta rota ocorre o bloqueio de poros e os átomos estão mais homogeneamente distribuídos. Contudo, um aumento na carga de íons cálcio incorporados pode contribuir para a redução do diâmetro do poro, volume do poro e área superficial.

O mecanismo utilizado para a modificação das sílicas com cálcio foi o de co-condensação, pois minimiza o número de etapas de síntese, assim como possibilita uma melhor e mais homogênea distribuição do átomo na superfície das sílicas.

2.4 Galactomanana

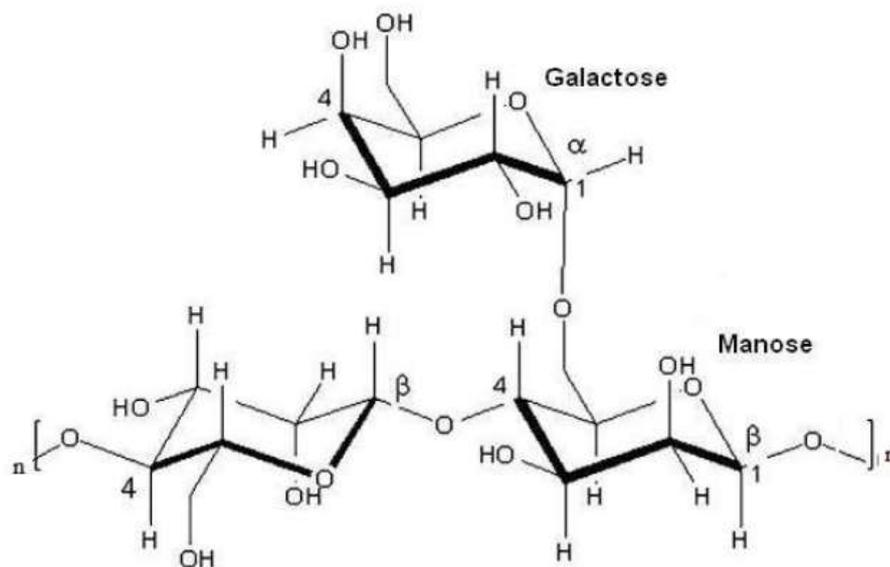
Polissacarídeos são polímeros naturais, constituídos de unidades básicas chamadas de monossacarídeos unidas por ligações glicosídicas. São encontrados em todos os organismos vivos, principalmente em compostos abundantes e importantes na natureza, como, a pectina, a celulose e o amido, nas plantas, e o glicogênio, a heparina e a quitosana, nos animais.

Galactomanana é o nome que se dá a polissacarídeos neutros, extraídos do endosperma de certas leguminosas (CUNHA et al., 2017). A galactomanana é extraída da

árvore de espécie *Caesalpinia Ferrea*, pertencente à família *Leguminosae* ou *Fabaceae*, conhecida popularmente como pau-ferro ou Jucá (BALBACH, 2017; LOPES et al., 2013).

As galactomananas são polissacarídeos que consistem de um eixo estrutural de manose com grupos laterais de galactose: uma cadeia linear de resíduos de manose unidas por ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4) e resíduos de galactose unidos por ligações do tipo α -(1 \rightarrow 6) (Figura 8) (CUNHA et al., 2017). As proporções diferentes de Manose/Galactose exercem influência sobre a solubilidade relativa das galactomananas, dependendo do conteúdo de galactose substituinte. Assim as mananas, são geralmente insolúveis em água, pois não apresentam substituição.

Figura 8 - Estrutura da Galactomanana do Jucá



Fonte: CUNHA, (2015).

Por não apresentar toxicidade, a galactomanana é muito utilizada nas indústrias farmacêuticas, biomédicas, têxtil, cosméticos e de alimentos (PAWAR e LALITHA, 2014). Por produzirem soluções aquosas de viscosidade elevada, esse polissacarídeo é utilizado como emulsionantes, espessantes de sistemas aquosos e agentes de estabilização, o que o torna comercialmente útil. Estas propriedades dependem diretamente das propriedades química, física e estrutural do polissacarídeo, tais como: massa molar, a configuração anomérica (α e β), conformação em solução (linear, ramificada, helicoidal), e a posição de ramificação de polissacarídeos (OLIVEIRA et al., 2011).

Além disso, as galactomananas podem ser usadas como carreadores de bioativos em formulações farmacêuticas (KONTOGIORGOS, 2018). Outra bioatividade mencionada na literatura é o uso de galactomananas do gênero *Caesalpinia* como adjuvante antitumoral e

anti-ulcerativa (RASHID et al., 2018). Além de apresentar efeito antidiabético, por ser considerada uma fibra alimentar (VIEBKE et al., 2014).

2.5 Scaffolds

Atualmente, observa-se um crescimento em lesões no tecido ósseo ocasionadas por osteopatias. Estas geram fragilidade na estrutura óssea e posterior formação de fissuras ou fraturas na estrutura óssea. Desta forma, há um interesse no desenvolvimento de materiais híbridos (compósitos) originários de compostos orgânicos e inorgânicos que possam agir como enxerto ou carreadores de íons na reconstrução do tecido ósseo (IANNESI et al., 2012).

O tecido ósseo humano apresenta micro, meso e macroporos interconectados, o que é extremamente útil no que tange a fixação de componentes celulares, extracelulares e vasos sanguíneos (SANTOS et al., 2016). Para isso, a utilização de suporte celular (*scaffold*) que visa a mineralização, regeneração ou reposição óssea faz-se necessário, principalmente em situações de lesões do tecido ósseo.

Dois aspectos importantes devem ser considerados na formação de um *scaffold*: a escolha do material biodegradável ou biorreabsorvível e a metodologia para a produção dos *scaffolds*. A metodologia escolhida deve permitir a produção de uma estrutura tridimensional com tamanho, distribuição e interconectividade de poros controláveis e ajustáveis, proporcionando ao material, características que promovam adesão e proliferação das células (LEE et al., 2010).

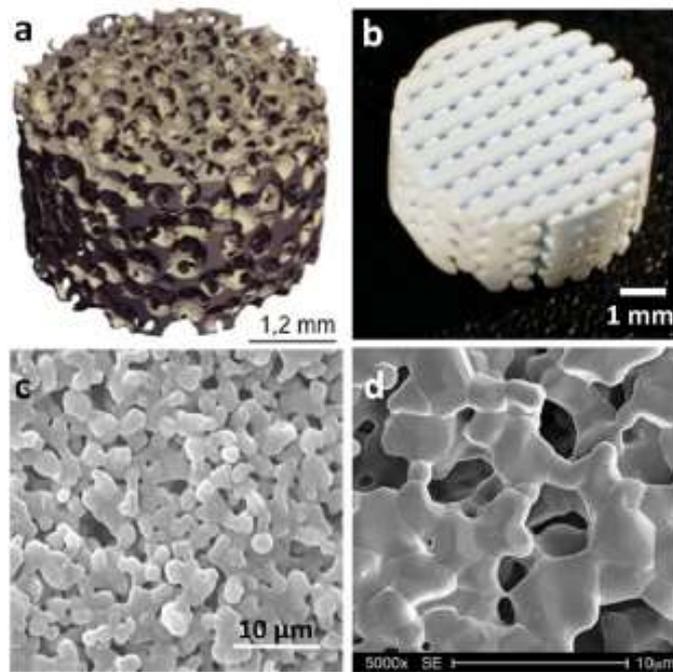
De origem inglesa, a palavra *scaffold* significa suporte ou andaime adequado para hospedar componentes biológicos e químicos assegurando sua permanência no local da lesão e auxiliando sua atividade (CHAUDHURY et al., 2014). Portanto, os *scaffolds* devem alojar componentes que participem da regeneração, mineralização ou reposição do tecido ósseo lesionado.

As metodologias convencionais para a fabricação de *scaffolds* não são eficientes para produzir estruturas com um controle preciso de tamanho de poro, sua geometria e distribuição espacial desses poros e, sobretudo a construção de canais internos dentro do *scaffold* (Figura 9). Uma alternativa é a utilização de sílicas porosas, pois dependendo da escolha da rota de síntese, obtêm-se esses parâmetros de poro controlados. Além da capacidade de modificação estrutural para a reparação de cálcio no tecido ósseo, já que a

adição de cálcio ao implante ósseo aumenta sua resistência e sua porosidade (IGNÁCIO, 1995; CLARO NETO, 1997).

Os *scaffolds* de galactomanana, sílica porosa e cálcio unem as propriedades da galactomanana, um polímero natural, maleável, atóxico e com boa biocompatibilidade, com as propriedades da sílica porosa, um polímero sintético, com alta resistência mecânica e capacidade de modificação estrutural. A junção das propriedades desses polímeros ajuda na elaboração de *scaffolds* para pacientes com deficiência em cálcio no tecido ósseo.

Figura 9 - Exemplos de macroestruturas (a e b) e microestruturas (c e d) de *scaffolds*



Fonte: RUSTOM et al., (2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- ✓ Sintetizar compósitos (*scaffolds*) à base de sílica, cálcio e galactomanana, do tipo *caesalpinia férrea*, para biomineralização óssea.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Extrair a galactomanana do Jucá;
- ✓ Sintetizar sílicas porosas utilizando os surfactantes F127 e E₄₃S₁₄E₄₃ como agentes direcionadores de estrutura;
- ✓ Modificar sílicas com cálcio pelo método de co-condensação;
- ✓ Preparar *scaffolds* de galactomanana e sílicas, denominados S1, S2, S3, S4 e S5;
- ✓ Caracterizar os materiais por diversas técnicas de análise;
- ✓ Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos *scaffolds* em neutrófilos humanos, células do sistema imune.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Isolamento e purificação da galactomanana (GM) das sementes de *Caesalpinia férrea* Mart exTul. VarFerreira

De acordo com o procedimento experimental reportado em Cunha et al. (CUNHA et al., 2017). As vagens de jucá foram previamente selecionadas e secas em estufa a 40 °C. Após a secagem, foram retiradas as sementes para o isolamento e purificação da galactomanana de jucá. As sementes foram deixadas em imersão em água destilada por 30 minutos, a 85°C, para quebra da dormência e posterior retirada dos endospermas. Após a retirada da casca e tegumento das sementes, o endosperma foi colocado em uma partição água e álcool (1:4, v/v) a 60°C, por 20 minutos, para retirada de pigmentos fenólicos dos endospermas. Para extração da galactomanana, foram utilizados 10 g do endosperma despigmentado, liofilizado e solubilizado com 900 mL de água destilada. O material foi mantido em chapa aquecedora a 75°C por 4 horas. Em seguida, foi filtrado e o resíduo descartado. Para purificação da galactomanana, foi adicionado etanol 97% PA (1:3, v/v) em agitação por 4 horas para a precipitação do polissacarídeo. Também foi adicionado NaCl 2,0 g.mol⁻¹. Em seguida, o material foi submetido a três ciclos de precipitação com etanol a 99% (1:1, v/v), filtrado e centrifugado. O precipitado gelatinoso foi seco por liofilização e o rendimento foi calculado.

4.2 Preparação das sílicas

4.2.1 Reagentes e solventes utilizados

Na síntese das sílicas, todos os reagentes foram de grau analítico sendo: cloreto de sódio (NaCl, Dinâmica, 97%), Pluronic F127 (Sigma-Aldrich), ácido clorídrico (HCl, Vetec, 37%), tetraetoxisilano (TEOS, Sigma-Aldrich), n-butanol (C₄H₁₀O, Sigma-Aldrich, 97%), cloreto de potássio (KCl, Dinâmica) e cloreto de cálcio dihidratado (CaCl₂.2H₂O, Synth).

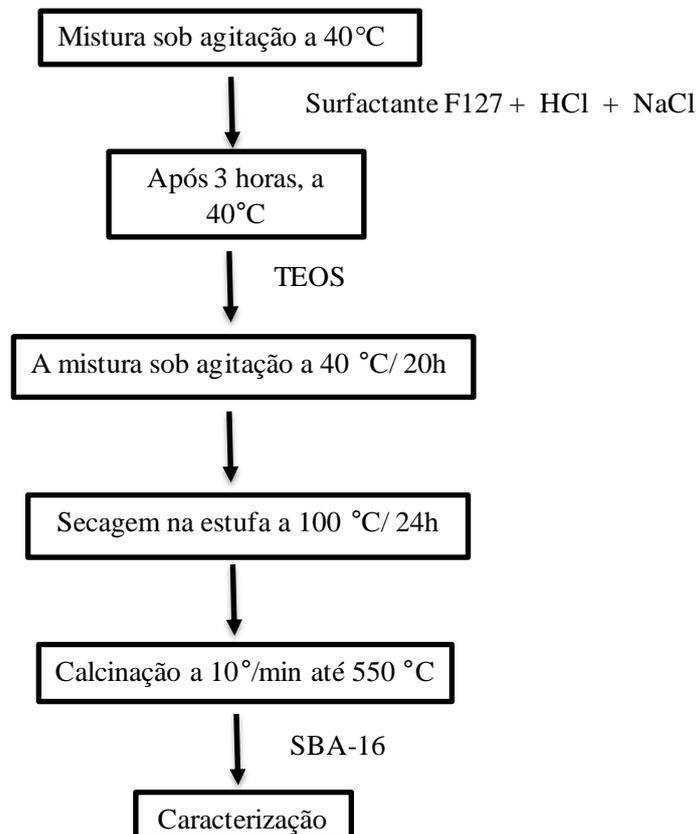
O copolímero E₄₃S₁₄E₄₃ (ESE) foi sintetizado por polimerização aniônica de óxido de estireno seguida por óxido de etileno, gentilmente, cedidos pelo Laboratório de Polímeros da Universidade de Manchester (Manchester, UK).

Kit LDH (Liquiform, Lagoa Santa, Brasil), brometo 3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), Triton® X-100 (Sigma).

4.2.2 Síntese da sílica SBA-16

A mistura de 3,525 g de NaCl, 1,0 g de surfactante Pluronic F127 e 40,0 mL de HCl 0,5 mol.L⁻¹ foi colocada em um recipiente de polipropileno e em seguida colocou-se em um banho termostatizado à temperatura de 40 °C, sob agitação. Após três horas, adicionou-se à solução 4,2 g de TEOS (Tetraetoxisilano) e depois de 20 horas a solução foi transferida para um autoclave e posto na estufa a 100 °C por 24 horas. Após esse tempo, lavou-se a solução com água destilada, filtrou-se e novamente colocou-se na estufa para secagem. A sílica obtida, denominada SBA-16, foi calcinada a uma taxa de aquecimento de 10°C/min até 550°C por 5 horas. A Figura 10 mostra o fluxograma de preparação da sílica SBA-16 (GRUDZIEN et al., 2006).

Figura 10 - Fluxograma da preparação da sílica SBA-16



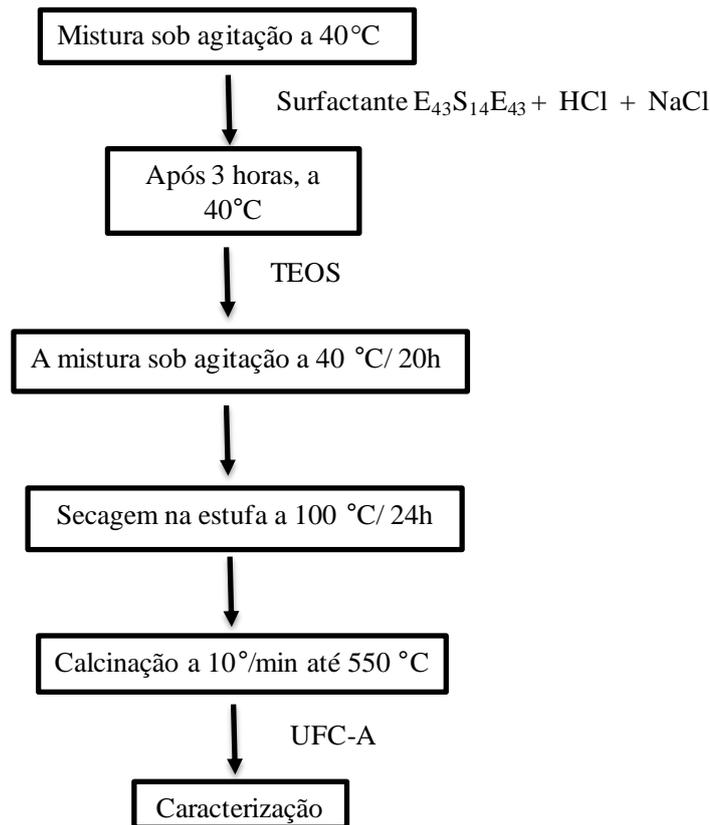
Fonte: Autor.

4.2.3 Síntese da sílica UFC-A

Foram colocados em um frasco de polipropileno, 5,29 g de NaCl, 0,75 g de tensoativo E₄₃S₁₄E₄₃ e 60,0 ml de HCl 0,5 mol.L⁻¹, essa mistura permaneceu sob agitação, a temperatura de 40 °C durante 3 horas. Em seguida, 6,3 g de TEOS foram adicionados à solução permanecendo nessas condições por mais 20 horas. A mistura então foi retirada, posta

em um autoclave e colocada em estufa a 100 °C durante 24 horas. O sólido obtido foi lavado, filtrado e novamente colocado em estufa para secagem. A sílica obtida, denominada UFC-A, foi calcinada a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min a 550 °C durante 6 horas. O fluxograma de preparação da sílica é mostrado na Figura 11.

Figura 11 - Fluxograma da preparação da sílica UFC-A

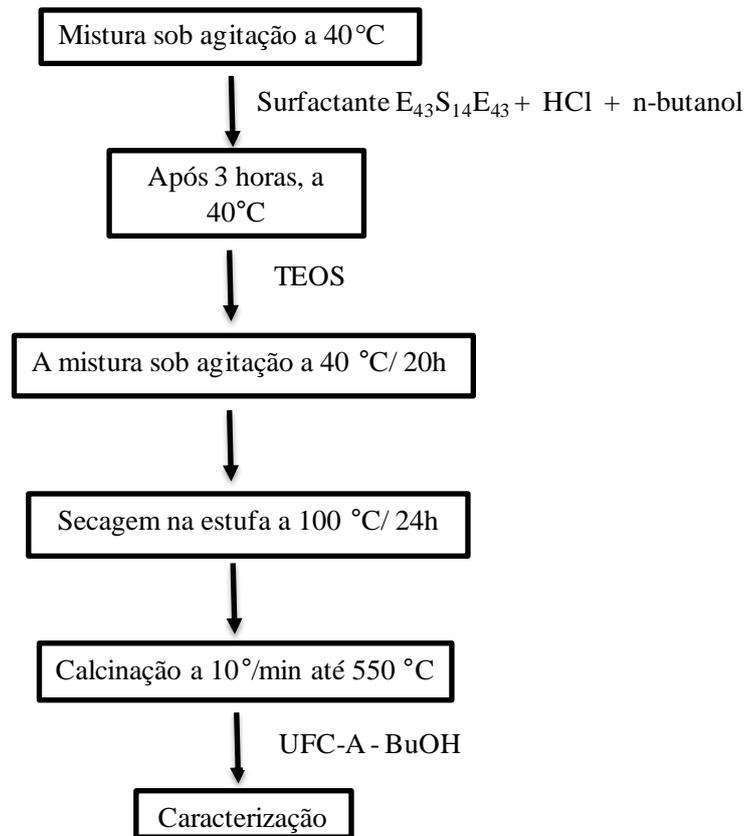


Fonte: Autor.

4.2.4 Síntese da sílica UFC-A - BuOH

0,6 g de surfactante E₄₃S₁₄E₄₃ em 60,0 ml de HCl a 0,5 mol.L⁻¹ foram colocados num frasco de polipropileno, mantidos em banho estabilizado à temperatura de 40 °C sob agitação, em seguida 4,125 g de n-butanol foram adicionados, permanecendo a mistura sob agitação por uma hora. Em seguida, adicionou-se 5,79 g de TEOS continuando o sistema em agitação constante por 24 horas, à mesma temperatura. Para o tratamento hidrotérmico, o material foi colocado em autoclave de Teflon e aquecido a 100 °C por 24 horas. A sílica obtida, denominada UFC-A - BuOH, foi calcinada a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min a 550 °C durante 6 horas. A Figura 12 mostra o fluxograma de preparação da sílica UFC-A-BuOH.

Figura 12 - Fluxograma da preparação da sílica UFC-A - BuOH



Fonte: Autor.

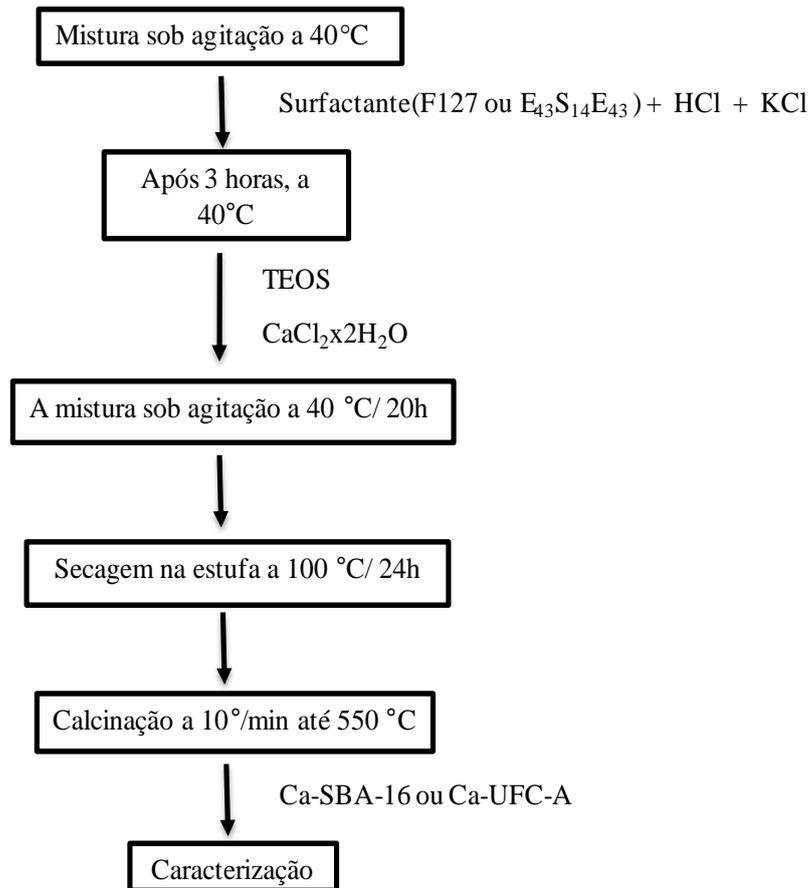
4.2.5 Síntese das sílicas Ca-SBA-16 e Ca-UFC-A

A síntese procedeu da seguinte forma: 4,98 g de KCl, 0,996 g de surfactante Pluronic F127 e 60,0 mL de HCl 2,0 mol.L⁻¹ foram colocados sem um recipiente de polipropileno à temperatura de 40°C, sob agitação. Após três horas, adicionou-se à solução 3,312 g de TEOS. Após a homogeneização da solução, adicionou-se 0,521 g de CaCl₂·2H₂O. Depois de reagir por 20 horas, a solução foi transferida para um autoclave onde permaneceu a 100°C sob agitação por 24 horas. Após esse período, lavou-se a solução com água destilada, filtrou-se e novamente colocou-se na estufa para secagem. A sílica obtida foi calcinada a uma taxa de aquecimento de 10°C/min até 550°C por 5 horas e foi denominada Ca-SBA-16.

Para síntese de Ca-UFC-A, 1,992 g de surfactante E₄₃S₁₄E₄₃, 4,98 de KCl e 60,0 ml de HCl 0,5 mol.L⁻¹ foram colocados em um frasco de polipropileno e mantidos sob agitação à temperatura de 40 °C. Em seguida, foram adicionados 1,712 g de n-butanol e a mistura permaneceu sob agitação durante uma hora. Posteriormente foram adicionados 3,312 g de TEOS e após uma hora acrescentou-se 0,521 g de CaCl₂·2H₂O. A mistura ficou sob

agitação por 24 horas a 40 °C. Para o tratamento hidrotérmico, o material foi colocado em autoclave de Teflon e aquecido a 100 °C por 24 horas. A sílica obtida foi calcinada a uma taxa de aquecimento de 10°C/min até 550°C por 5 horas e foi denominada Ca-UFC-A. A Figura 13 mostra o fluxograma de preparação das sílicas Ca-UFC-A e Ca-SBA-16 (TANTIRUNGROTECHAI et al., 2011).

Figura 13 - Fluxograma da preparação das sílicas Ca-UFC-A e Ca-SBA-16



Fonte: Autor.

4.3 Preparação dos *Scaffolds* S1, S2, S3, S4 e S5

Dois métodos distintos foram utilizados para a preparação dos *scaffolds*. O método 1 consiste no preparo da solução de galactomanana (GM) que será utilizada em ambos os métodos, onde foi colocada num béquer 200 mg de GM (em pó), em 10 mL de água deionizada, sob agitação (vortex) por 40 min. Passado esse tempo, a solução foi lacrada e deixado a 40 °C em uma chapa aquecedora sob agitação a 850 rpm por 20 min. Após homogeneização, foram colocados 10 mg de CaCl₂·2H₂O à solução e levada novamente ao agitador vortex por mais 20 min. Em seguida, foram pesados e acrescentados a solução de galactomanana 40 mg de sílica SBA-16 e 10 mg de CaCl₂·2H₂O. A solução foi submetida à

homogeneização por meio de um agitador magnético a 850 rpm por 20 min. Em seguida, as misturas foram colocadas em suporte para a produção dos *scaffolds* (2,2 mL), congeladas no freezer a -10°C , por 24 horas. Após esse procedimento, os *scaffolds* formados, denominados S1, foram liofilizados para posterior caracterização.

Para o preparo dos *scaffolds*, que serão denominados S2, realizado pelo método 1, foi pesado 200 mg de GM e adicionados em 10 ml de água destilada, sob agitação (vortex) por 40 min. Passado esse tempo, a solução foi lacrada e deixado a 40°C em uma chapa aquecedora sob agitação a 850 rpm por 20 min. Após homogeneização, foram colocados 10 mg de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ à solução e levada novamente ao agitador vortex por mais 20 min. Em seguida, foram pesados e acrescentados a solução de galactomanana, 40 mg de sílica UFC-A e 10 mg de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. A solução foi submetida à homogeneização por meio de um agitador magnético a 850 rpm por 20 min. Em seguida, as misturas foram colocadas em suporte para a produção dos *scaffolds* (2,2 mL) congeladas no freezer a -10°C , por 24 horas. Após esse procedimento, os *scaffolds* formados foram liofilizados.

Ainda utilizando o método 1 para o preparo dos *scaffolds*, que serão denominados S5, foram pesados 200 mg de GM e adicionados em 10 ml de água destilada, sob agitação (vortex) por 40 min. Passado esse tempo, a solução foi lacrada e deixada a 40°C em uma chapa aquecedora sob agitação a 850 rpm por 20 min. Após homogeneização, foram colocados 10 mg de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ à solução e levada novamente ao agitador vortex por mais 20 min. Em seguida, foram pesados e acrescentados a solução de galactomanana, 40 mg de sílica UFC-A- BuOH e 10 mg de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$. A solução foi submetida à homogeneização por meio de um agitador magnético a 850 rpm por 20 min. Em seguida, as misturas foram colocadas em suporte para a produção dos *scaffolds* (2,2 mL) congeladas no freezer a -10°C , por 24 horas. Após esse procedimento, os *scaffolds* formados foram liofilizados e caracterizados.

No segundo método, preparou-se a solução de galactomanana que consiste em pesar 200 mg de galactomanana (GM) (em pó) e adicionar em 10 mL de água deionizada, sob agitação (vortex) por 40 min. Passado esse tempo, a solução foi lacrada e deixada a 40°C em uma chapa aquecedora sob agitação a 850 rpm por 20 min. Após homogeneização, foram colocados 10 mg de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ à solução e levada novamente ao agitador vortex por mais 20 min. Depois foram pesados 40 mg da sílica Ca-UFC-A e inseridos na solução de galactomanana, onde a solução foi submetida a homogeneização por meio de um agitador

magnético a 850 rpm por 20 min. Em seguida, as misturas foram colocadas em suporte para a produção dos *scaffolds* (2,2 mL) congeladas no freezer a -10°C, por 24 horas. Após esse procedimento, os *scaffolds* formados, denominados S3, foram liofilizados para posterior caracterização.

Para o preparo dos *scaffolds*, denominados S4, realizado pelo método 2, foram pesados 200 mg de galactomanana (GM) (em pó) e adicionados em 10 mL de água deionizada, sob agitação (vortex) por 40 min. Passado esse tempo, a solução foi lacrada e deixada a 40 °C em uma chapa aquecedora sob agitação a 850 rpm por 20 min. Após homogeneização foram acrescentados 10 mg de CaCl₂x2H₂O à solução e levada novamente ao agitador vortex por mais 20 min. Depois foram pesados 40 mg da sílica Ca-UFC-A e inseridos na solução de galactomanana, onde a solução submetida a homogeneização por meio de um agitador magnético a 850 rpm por 20 min. Em seguida, as misturas foram colocadas em suporte para a produção dos *scaffolds* (2,2 mL) congeladas no freezer a -10°C, por 24 horas. Após esse procedimento os *scaffolds* formados foram liofilizados e caracterizados.

4.4 Avaliação da Citotoxicidade

4.4.1 Isolamento de Polimorfonucleares (PMN)

Polimorfonucleares, predominantemente neutrófilos (80-90 %), foram isolados a partir de sangue humano de voluntários saudáveis. O sangue foi centrifugado, o plasma desprezado e a parte celular submetida a um gradiente de densidade, utilizando solução de gelatina em salina 2,5 % (p/v), após isso foram realizadas sucessivas lavagens com solução salina (LUCISANO e MANTOVANI, 1984). A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio de exclusão ao corante Azul de Tripán, a partir da contagem de 200 células.

4.4.2 Avaliação da enzima lactato desidrogenase

Neutrófilos ($2,5 \times 10^6$ células/mL) foram incubados por 15 min a 37 °C na presença de S1, S2, S3, S4 e S5 (10, 50 e 100 µg/mL), água (veículo da substância – Controle), Hanks (células não-tratadas) e Triton x-100 (0,2 % - padrão citotóxico). A seguir, a placa de 96 poços contendo os grupos em estudo, foi centrifugada a 755 g, por 10 min a 4 °C. Os sobrenadantes foram transferidos para outra placa de 96 poços e a determinação da atividade da enzima LDH realizada.

O ensaio foi feito utilizando o Kit LDH (Liquiform) que tem como fundamento a

medida do decréscimo da absorbância devido à oxidação do NADH, o qual é proporcional à atividade de LDH na amostra. O sobrenadante foi colocado em contato com o substrato de tal enzima e imediatamente ocorreu a leitura da absorbância em 340 nm nos tempos de 1 e 3 min, a 37 °C, em espectrofotômetro. A atividade da enzima LDH foi calculada seguindo as especificações do fabricante da seguinte maneira:

$$A = [(A_1 - A_2) / 2] \times 1746,03$$

Onde:

A= atividade da enzima LDH na amostra em U/L;

A₁= absorbância inicial (1 min) em 340 nm;

A₂= absorbância final (3 min) em 340 nm;

1746,03 = fator de cálculo estipulado pelo fabricante para volume de amostra de 25 µL.

O ensaio foi realizado em triplicata.

4.4.3 Teste do MTT

Neutrófilos ($5,0 \times 10^6$ células/mL) foram incubados por 30 min a 37 °C com S1, S2, S3, S4 e S5 (10, 50 e 100 µg/mL), água (veículo da substância – controle), Hanks (células não-tratadas) e Triton x-100 (0,2 % - padrão citotóxico) em placa de 96 poços. Após o período de incubação, a placa foi centrifugada a 2000 rpm por 15 min e o sobrenadante descartado. Em seguida, foram adicionados 150µL da solução de MTT (5mg/mL) a placa de 96 poços, seguido de incubação por 3 horas a 37 °C. Passado o período de incubação realizou-se uma segunda centrifugação, nas mesmas condições da primeira, o sobrenadante foi descartado e a placa mantida em estufa a 37 °C por 48 horas. Por fim, foram adicionados 150 µL de DMSO para a solubilização do sal de formazan. A placa passou por agitação durante 15 min com o auxílio de um agitador de placas e a absorbância foi então medida em leitor de microplacas a 560 nm (MOSMANN, 1983). O ensaio foi realizado em triplicata.

4.5 Instrumental

4.5.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

Os espectros vibracionais das amostras foram obtidos em espectrômetro da SHIMADZU FTIR 8300 na região de 4000 - 400 cm^{-1} , utilizando um scan de 120 em pastilhas de brometo de potássio e uma resolução 4 cm^{-1} .

4.5.2 Análises Termogravimétricas (TG/DTG)

As curvas termogravimétricas das amostras foram obtidas em um equipamento modelo SHIMADZU TGA-60, utilizando massa entre 2 mg a 5 mg, em ar sintético. Durante o procedimento a amostra foi aquecida em uma rampa constante de temperatura, em torno de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, na faixa de temperatura de 25-1000 $^{\circ}\text{C}$.

4.5.3 Adsorção-dessorção de N_2

As características de porosidade das amostras foram analisadas usando um equipamento Autosorb (Quantachome), com degaseificação de 24 horas a 150 $^{\circ}\text{C}$, utilizando gás nitrogênio a 77 K. Os dados de volume adsorvido e desorvido em várias pressões relativas foram utilizados para gerar informações sobre a área superficial, volume de poros, distribuição e tamanho médio de poros. As áreas superficiais foram determinadas usando-se a teoria das isotermas de adsorção de nitrogênio de Brunauer, Emmett e Teller (BET) (BRUNAUER, 1938; WALTON e SNURR, 2007). As análises do tamanho de poros e volume total de poros foram obtidas pelo método Barret, Joyner e Halenda (BJH).

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

As análises das amostras SBA-16 e UFC-A foram realizadas em um difratômetro Anton-Paar SAX Sess mc2, no qual é composto por carregador automático e porta-amostras giratório. As medidas foram realizadas com o aparelho operando a uma tensão de 45 kV e uma corrente de 40 mA.

As análises das amostras (S1, S2, S3, S4, S5, Ca-SBA-16, Ca-UFC-A, UFC-A-BuOH e GM) foram realizadas em um equipamento Bruker AXS 2D Nanostar (EUA) com radiação CuK α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), operando a 40 kV/35 mA na faixa de 0,007-0,23 \AA^{-1} , com uma distância entre a amostra e o detector de 1007 mm e resolução mínima em $q = 0,007 \text{ \AA}^{-1}$. As medidas de espalhamento de raios X foram realizadas durante 3000s (as amostras Ca-SBA-16 e Ca-UFC-A também foram realizadas durante 9000 s).

4.5.5 Análise Elementar

Foi utilizado um analisador elementar Perkin-Elmer modelo CHNS 2400, com massas de amostras de ordem de 20 mg. A análise foi realizada na Escola de Química da Universidade de Manchester (Manchester, UK).

4.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para as amostras de *scaffolds* foram realizadas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura através do Microscópio Eletrônico de Varredura de 20.000 kV de força, na Central Analítica da Universidade Federal do Ceará.

4.5.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As micrografias dos materiais preparados foram obtidas através do microscópio eletrônica de transmissão Hitachi®HT7700 TEM, com aceleração de feixe de 120 kV. As imagens foram obtidas por detecção de elétrons secundários. Após o preparo, as amostras foram analisadas pelo Electron Microscopy Laboratory da Universidade de Santiago de Chile.

4.5.8 Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

O equipamento ICP-OES (Perkin Elmer, Modelo Optima 7000 DV, EUA) foi usado para a quantificação de cálcio. A seguinte linha espectral foi empregada: Ca (393,366 nm). A medida foi feita em triplicata e as áreas dos picos de intensidade foram integradas no respectivo comprimento de onda do elemento cálcio. Os parâmetros utilizados foram: Condições operacionais do ICP-OES (configuração axial e radial). Câmara de Nebulização: Double-pass Nebulizador Cross-flow Injetor de Alumina 2,4 mm, Gerador de rádio frequência 40 MHz, Potência de rádio frequência 1100 W, Fluxo gás (argônio) de plasma 15 min⁻¹, Fluxo de nebulização de argônio 0,8 L min⁻¹, Fluxo auxiliar de argônio 0,5 L min⁻¹, Taxa de aspiração da amostra 1,4 L min⁻¹. Para digestão de 200 mg das amostras de S1; S2; S3; S4 e S5; Ca-SBA-16 e Ca-UFC-A foram utilizados 5 mL de HNO₃ a 65%. As amostras foram colocadas num bloco digestor a 120°C por 3 horas. Em seguida, elas foram diluídas para um volume de 20 mL do mesmo ácido. A digestão foi feita em triplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FT-IR)

Na Figura 14, para todos os espectros de infravermelho das sílicas observam-se uma similaridade nas bandas características as sílicas porosas: a banda larga entre 3200 a 3700 cm^{-1} que é comumente atribuída às tensões simétricas e assimétricas das ligações da água adsorvida à superfície do óxido através de ligações hidrogênio e as vibrações OH nos diferentes grupos silanóis (Si-OH). A banda em 1640 cm^{-1} está associada à deformação H-O-H da água adsorvida, remanescente no material. As bandas em torno de 917 a 1250 cm^{-1} estão associadas com a formação da rede de sílica condensada e às tensões assimétricas de Si-O-Si na estrutura. A banda, nessa região, também é referente à ligação Si-O-Ca (917 cm^{-1}) (PEYNE et al., 2017). Grupos Si-OH mostram uma banda a aproximadamente 940 cm^{-1} , relacionada à sílica não condensada devido à hidrólise parcial. Além disso, o aparecimento da banda em 800 cm^{-1} está associado à vibração de estiramento Si-O (PARIDA et al., 2006). A Tabela 1 mostra os valores referentes às atribuições das bandas do espectro de infravermelho para as sílicas.

Figura 14 - Espectro de infravermelho para as sílicas (a) Ca-UFC-A; (b) Ca-SBA-16; (c) UFC-A – BuOH; (d) SBA-16 e (e) UFC-A

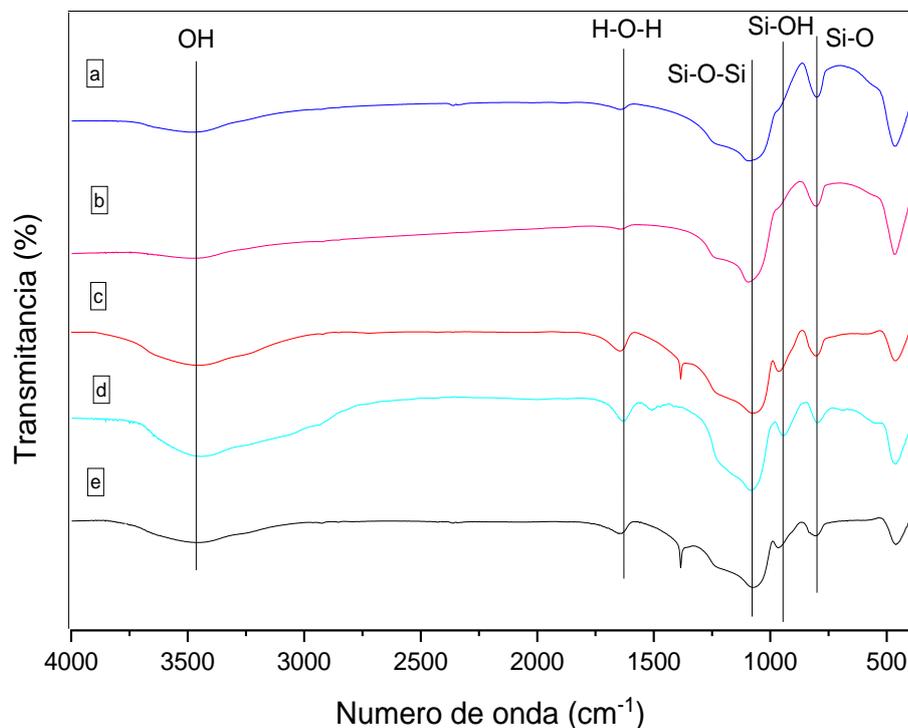


Tabela 1 - Atribuições das bandas para as sílicas

Número de onda (cm^{-1})	Atribuições
800	Vibração Si–O (PARIDA et al., 2006)
940	^v Si–OH (AKTI, 2019)
917- 1250	^v assimétrico Si–O–Si e Si–O–Ca (PEYNE et al., 2017)
1640	O–H (VATANPOUR et al., 2020)
3200-3700	O–H ou Si–OH (SAYADI et al., 2020)

A Figura 15 mostra os espectros de infravermelho para a galactomanana (GM) e os espectros dos respectivos *scaffolds* com as sílicas incorporadas, onde se pode observar que todos exibem bandas similares devido à predominância da GM na formação do material híbrido. Os espectros exibem bandas (3670 a 3020 cm^{-1}) relacionadas ao estiramento vibracional O–H, presente tanto nas sílicas (grupos silanóis, Si–OH, existentes na sílica) quanto na galactomanana, havendo sobreposição das bandas referentes. A banda em 2916 cm^{-1} refere-se ao estiramento C–H presente na GM. Na região em torno de 1650 cm^{-1} observa-se o estiramento assimétrico correspondente as ligações C–O e O–H (AIMIN et al., 2011).

As bandas em torno de 917 a 1250 cm^{-1} estão associadas à ligação Si–O–Si na estrutura da sílica, como também ao grupo C–O do anel piranosídico da GM (CERQUEIRA et al., 2009). Observou-se também bandas em 876 e 817 cm^{-1} , relacionadas a ligações anoméricas dos grupos β -D-manopiranoses e α -D-galactopiranoses (ALBUQUERQUE et al., 2014), respectivamente, presentes na GM, assim como a sobreposição de bandas referentes, nessa região, associadas à vibração de estiramento Si–O na sílica de cada *scaffold*. A Tabela 2 mostra os valores referentes às atribuições das bandas do espectro de infravermelho para os *scaffolds* e para a galactomanana.

Figura 15- Espectro de infravermelho para os *scaffolds* S1, S2, S3, S4, S5 e para a galactomanana

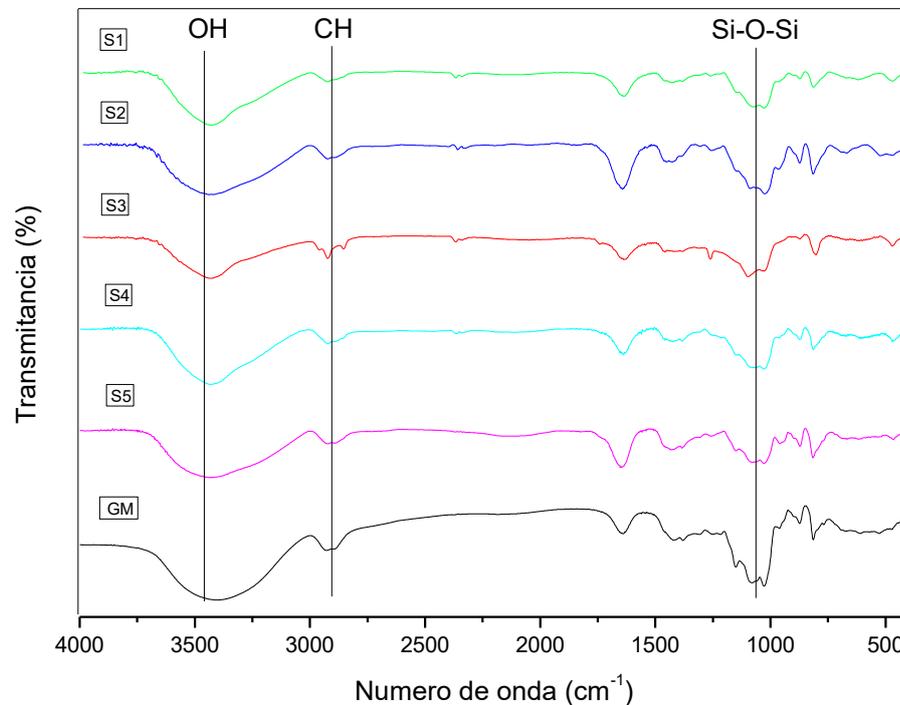


Tabela 2 - Atribuições das bandas para os *scaffolds* S1, S2, S3, S4, S5 e para a galactomanana

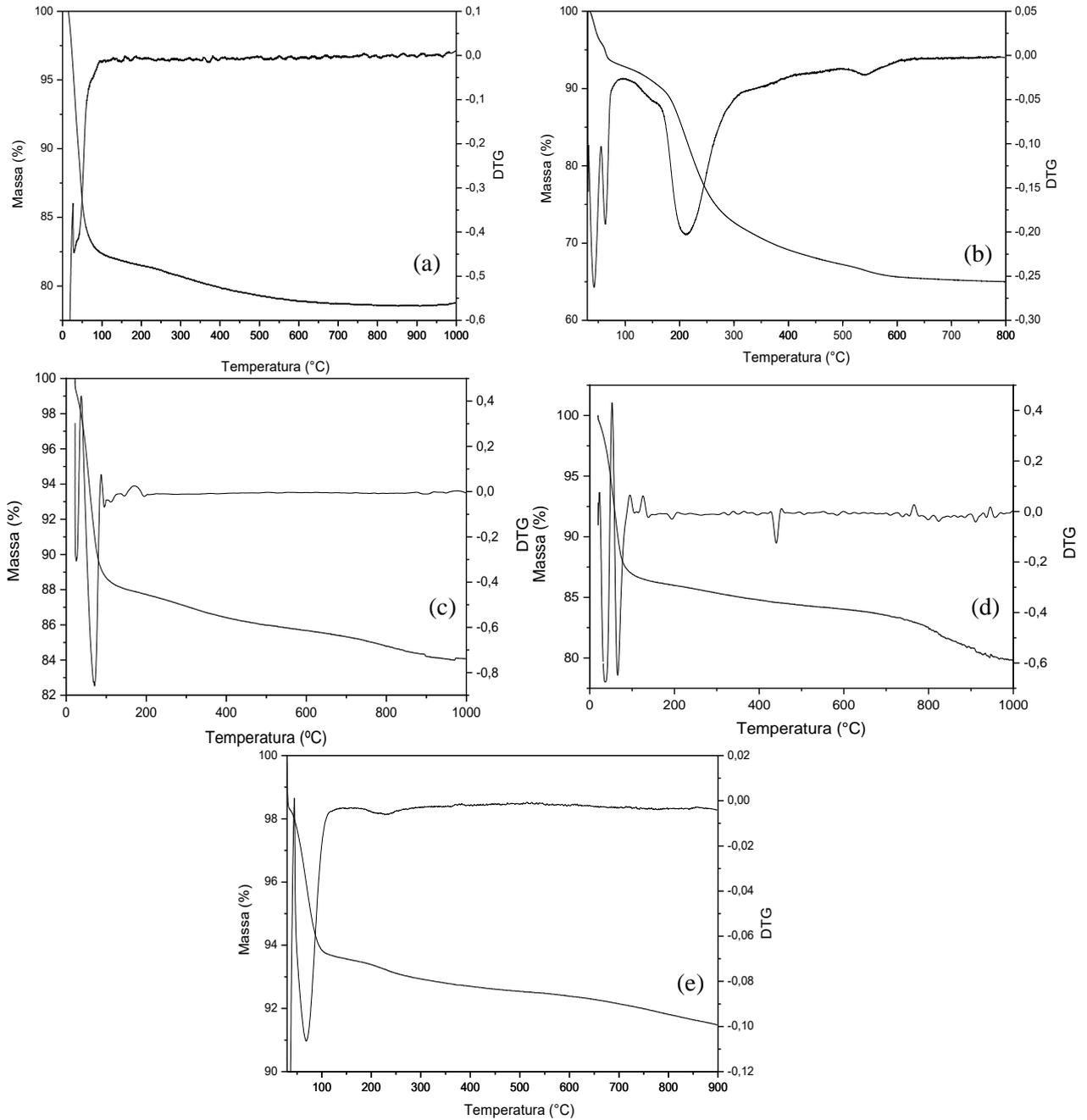
Número de onda (cm^{-1})	Atribuições
876 e 817	Si-O e ligações anoméricas α e β (GM) (ALBUQUERQUE et al., 2014)
917- 1250	ν assimétrico Si-O-Si e C-O (anel) (CERQUEIRA et al., 2009)
1650	C-O e O-H (AIMIN et al., 2011)
2916	ν simétrico CH (CH_2 e CH_3) (WANG e SOMASUNDARAN, 2007)
3020-3670	O-H (YUEN et al., 2009)

5.2 Análises Termogravimétricas (TG/DTG)

A Figura 16 mostra as curvas termogravimétricas para as sílicas SBA-16, UFC-A-BuOH, Ca-UFC-A, Ca-SBA-16 e UFC-A, respectivamente. As curvas apresentam comportamentos similares em que se podem observar dois eventos de perda de massa, o primeiro mostra uma perda de massa referente à molécula de água incorporada na sílica (MOLAEI e GHADERMAZI, 2020). O segundo evento é referente à perda de massa do

surfactante que não foi totalmente removido na calcinação. Sendo que a curva da Figura 16 (b) apresenta uma quantidade considerável de perda de massa, isto está relacionado ao fato da sílica ainda não ter sido passado pelo processo de calcinação.

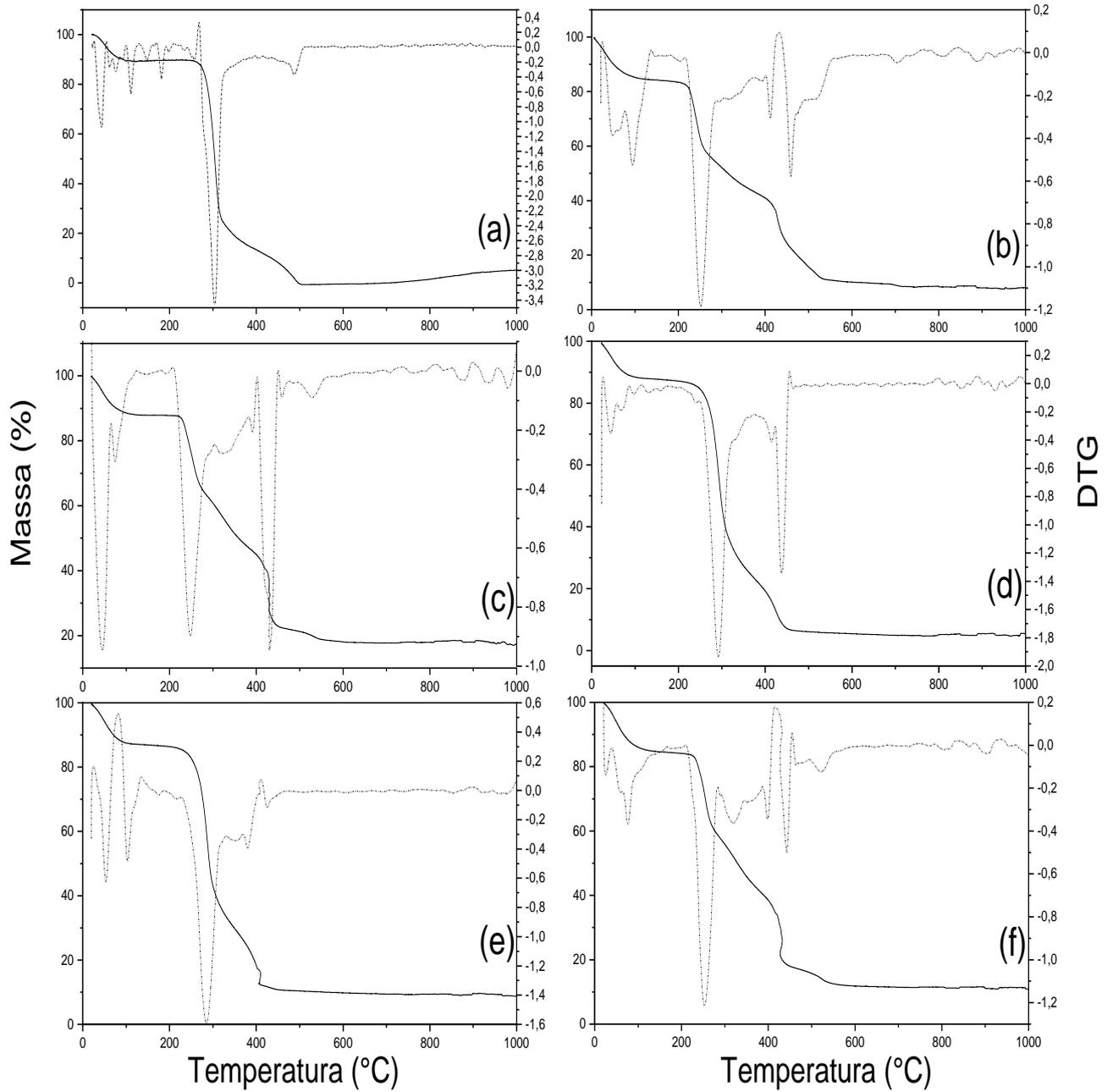
Figura 16 - Curvas termogravimétricas para sílicas (a) SBA-16, (b) UFC-A, (c) Ca-UFC-A, (d) Ca-SBA-16 e (e) UFC-A - BuOH



A Figura 17 mostra as curvas referentes à termogravimetria (TG/DTG) para a galactomanana e os *scaffolds* produzidos. O resultado de análise termogravimétrica (TG/DTG) para a amostra de galactomanana de jucá, mostrou uma temperatura correspondente a maior perda de massa (69,85 %) que ocorre por volta de 303 °C. A primeira perda de massa desse polímero natural foi de 9,9 %, está relacionada a umidade da amostra, onde demonstra o carácter hidrofílico da galactomanana.

As curvas termogravimétricas (Figura 17) relacionadas à perda de massa dos *scaffolds* são bem similares as apresentadas pela galactomanana, isso se deve a presença majoritária do polímero no material híbrido, com isso apresentam quatro eventos expressivos, o primeiro refere-se à perda de água presente no material híbrido (intervalo de 25-180 °C). O segundo refere-se possivelmente à perda de massa do polímero galactomanana (180-350 °C). O terceiro evento ocorre em torno de (350-600 °C) está relacionado à formação de compostos intermediários de cálcio (CaCl_2 ou/e $\text{Ca}(\text{OH})_2$) e a sua decomposição térmica (SOUZA et al., 2012).

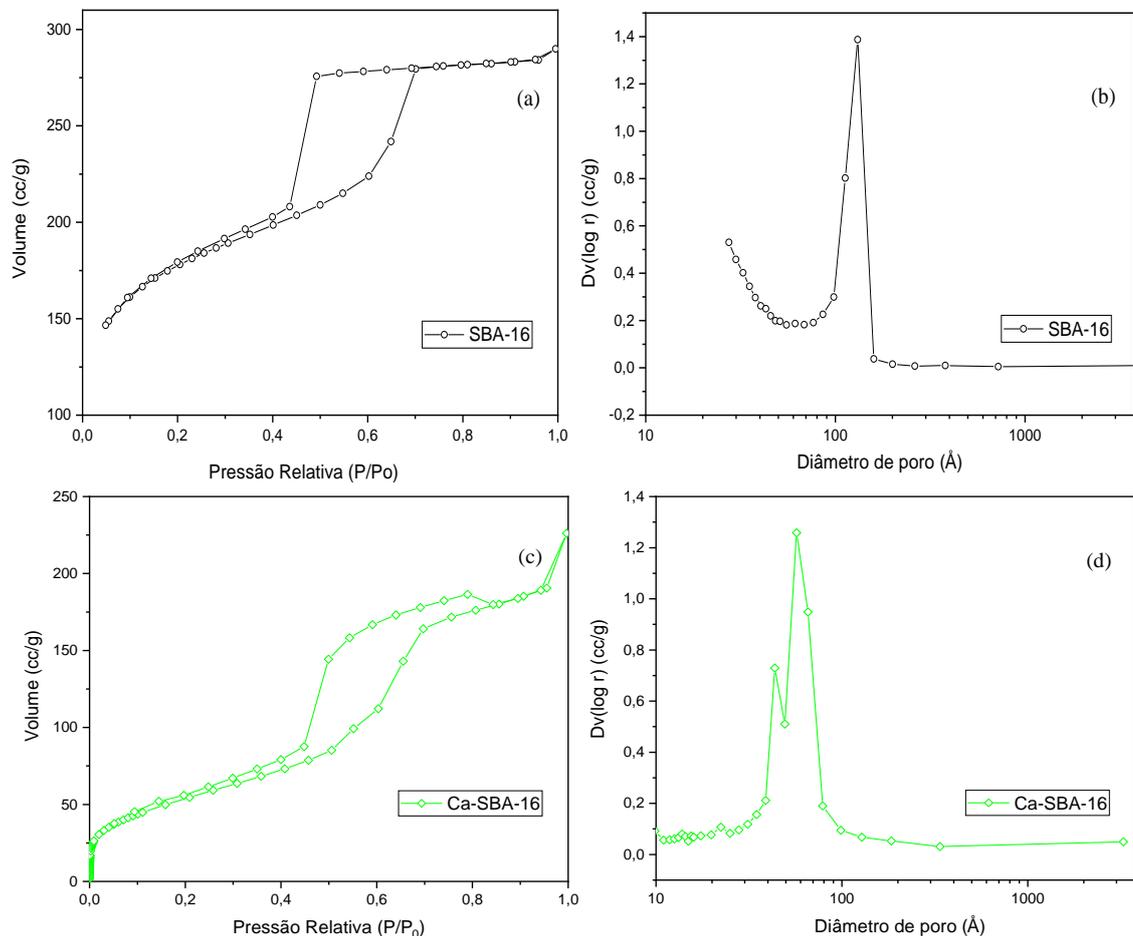
Figura 17- Curvas de TGA e DTG para as amostras: (a) Galactomanana; (b) S1; (c) S2; (d) S3; (e) S4 e (e) S5



5.3 Adsorção-dessorção de N₂

A Figura 18 ilustra as isotermas de adsorção e dessorção de N₂ para as sílicas SBA-16 (Fig. 18 (a)) e Ca-SBA-16 (Fig. 18 (c)), as quais exibem isotermas do tipo IVa (THOMMES et al., 2015), característica de materiais mesoporosos e exibem histereses do tipo H2a para sílica SBA-16 e H2b para Ca-SBA-16 (THOMMES et al., 2015), de acordo com a classificação IUPAC, sendo a ocorrência de histerese função do formato do poro (TEIXEIRA et al., 2001). A sílica SBA-16 apresenta área superficial de 574 m²/g e a sílica Ca-SBA-16 apresenta área de 200 m²/g.

Figura 18 - Isoterma de adsorção e dessorção de N₂ para as sílicas (a) SBA-16, (c) Ca-SBA-16; distribuição de tamanho de poros para a sílica (b) SBA-16, (d) Ca-SBA-16



As Figuras 18 (b) e 20 (d) mostram os gráficos de distribuição de tamanho de poros, um parâmetro muito importante para o estudo da estrutura porosa, a partir dos resultados de adsorção e aplicando o método de BJH (BARRET, JOYNER E HALENDA), observa-se um valor médio de diâmetro de poros de 3,14 e 7,01 nm para a sílica SBA-16 e

Ca-SBA-16, respectivamente. Portanto, as sílicas SBA-16 e Ca-SBA-16 tratam-se de materiais que apresentam porosidade majoritariamente meso ($2\text{nm} < d < 50\text{ nm}$).

A Figura 19 ilustra as isotermas de adsorção e dessorção de N_2 para as sílicas UFC-A (Figura 19 (a)), UFC-A-BuOH (Figura 19 (c)) e Ca-UFC-A (Figura 19 (e)), as quais exibem isotermas do tipo Ib para a sílica UFC-A e IVa para as sílicas UFC-A-BuOH e Ca-UFC-A, com áreas superficiais de valores respectivos de: 856; 327 e 729 m^2/g e exibem histereses do tipo H4 para as sílicas Ca-UFC-A e UFC-A-BuOH. As Figuras 19 (b), 19 (d) e 19 (f) mostram os gráficos de distribuição de tamanho de poros, onde se podem obter valores médios do diâmetro de poro de cada sílica. Para a sílica UFC-A o diâmetro médio de poros é de 2,71 nm, para UFC-A-BuOH de 4,55 nm e Ca-UFC-A é de 3,84 nm.

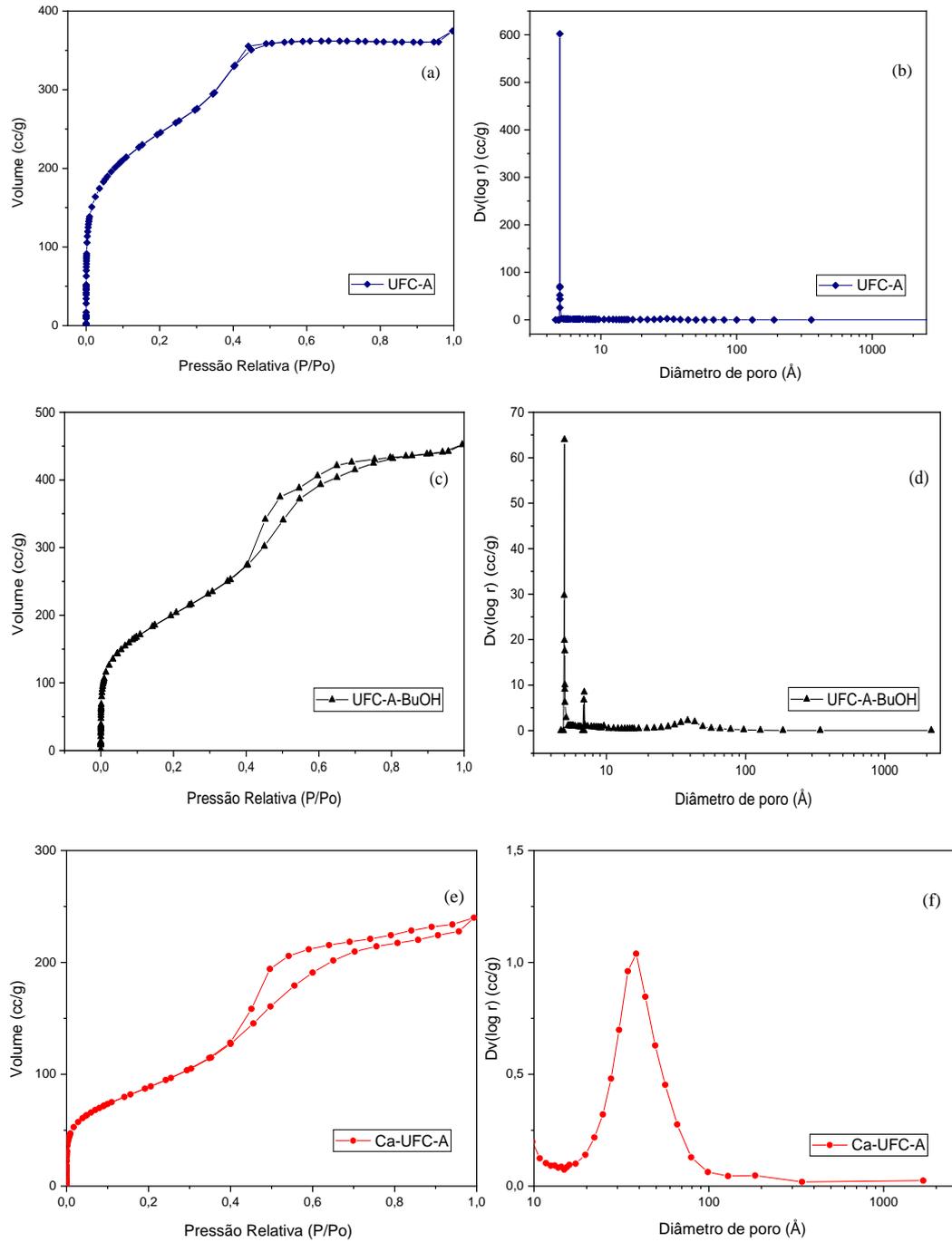
A Tabela 3 sumariza os valores obtidos das isotermas e gráficos de distribuição de cada sílica, onde se pode observar que as sílicas UFC-A, UFC-A-BuOH e Ca-UFC-A apresentam tanto a porosidade micro como meso em suas estruturas. Ao comparar os valores referentes às sílicas que contém cálcio em sua estrutura (Ca-SBA-16 e Ca-UFC-A) (Tabela 3), pode-se observar que, com a incorporação de cálcio dentro da estrutura da sílica e na sua superfície, houve uma diminuição do volume do poro e da área superficial de ambas as sílicas.

Tabela 3 - Efeito da adição de Ca e butanol na estrutura de poros de amostras de sílica determinadas por isotermas de adsorção / dessorção de N_2

Amostras	^a S _{BET} (m^2/g)	^b S _{micro} (m^2/g)	^c V _{micro} (cm^3/g)	^d V _{meso} (cm^3/g)	^e V _{total} (cm^3/g)	Diâmetro de poros (nm)
SBA-16	574	-	-	-	0,449	3,14
Ca-SBA16	200	-	-	-	0,351	7,01
UFC-A	856	420,2	0,091	0,490	0,581	2,71
Ca- UFC-A	327	29,3	0,002	0,370	0,372	4,55
UFC-A– BuOH	729	164,7	0,021	0,680	0,701	3,84

^a N_2 Isoterma: BET area; ^{b,c} Método t-Plot: area e volume de microporos; ^d Volume de mesoporo estimado pela equação: $V_{\text{meso}} = V_{\text{total}} - V_{\text{micro}}$; ^e Volume de poro $P/P_0 = 0.99$.

Figura 19 - Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 para as sílicas: (a) UFC-A, (c) UFC-A-BuOH, (e) Ca-UFC-A; distribuição de tamanho de poros para as sílicas (b) UFC-A, (d) UFC-A-BuOH, (f) Ca-UFC-A

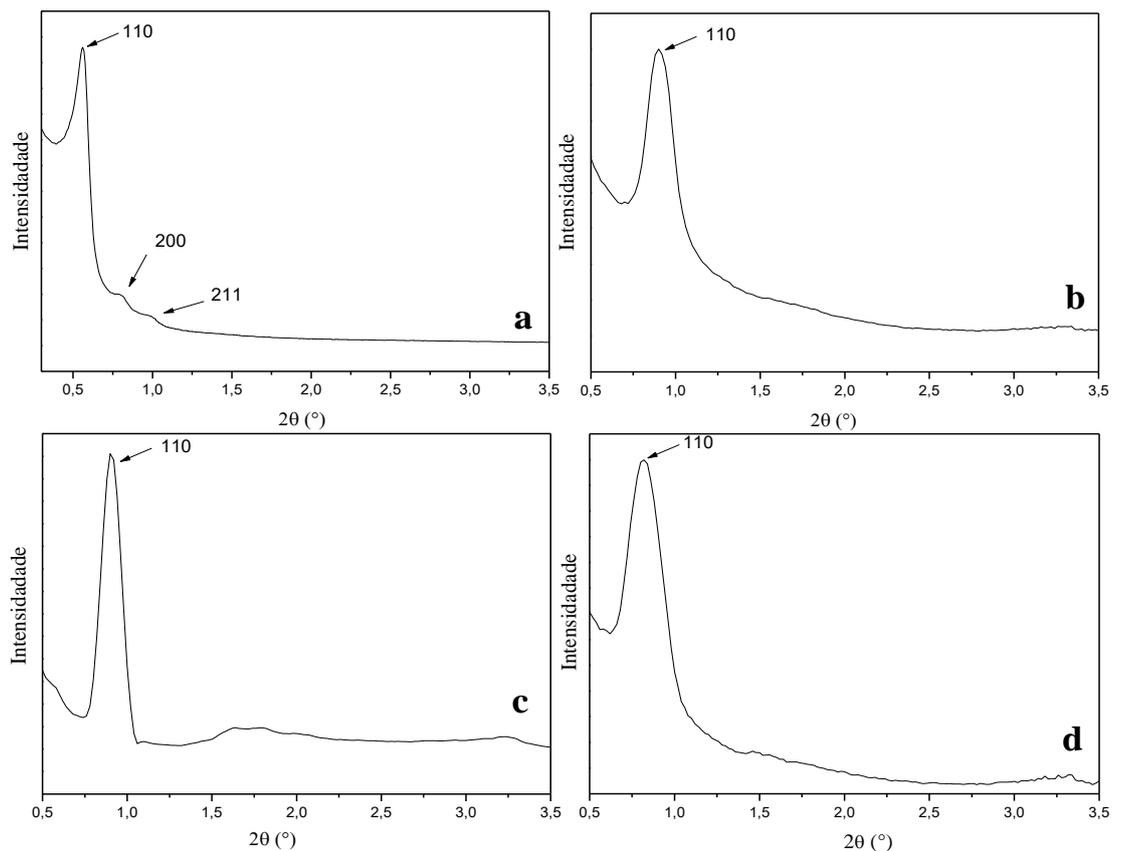


5.4 Espalhamento de raios-X a baixo ângulo- SAXS (*Small Angle X-Rays Scattering*)

Considerando que os materiais mesoporosos não são cristalinos em nível atômico, as reflexões em ângulos de espalhamento mais altos não podem ser observadas. No entanto, mesmo quando os materiais mesoporosos ordenados são materiais amorfos em uma escala de curto alcance, a ordem de longo alcance ainda produz distintos padrões de difração em ângulos na faixa de $0,5 < 2\theta < 5$ quando as condições de Bragg são atendidas (ANDRADE et al., 2013).

A Figura 20 mostra os padrões de SAXS das amostras de SBA-16, S4, Ca-SBA-16 e S1. Todas as amostras mostraram reflexões características na região de $2\theta = 0,5 - 1,5^\circ$ que coincidem com o padrão relatado de mesoestrutura da SBA-16 (ANDRADE et al., 2018).

Figura 20 - Espalhamento de raios-X a baixo ângulo para as amostras (a) SBA-16, (b) S4, (c) Ca-SBA-16 e (d) S1



A Figura 20 (a) mostra os padrões de SAXS para a amostra SBA-16, a qual revela um pico intenso relacionado ao plano de difração (110) e dois picos menores relacionados aos planos (200) e (211). Essas reflexões podem ser indexadas ao grupo espacial cúbico de corpo centrado $Im\bar{3}m$ (MEYNEN et al., 2009) formadas pelo empacotamento de tubos cilíndricos,

fornecendo assim uma indicação da estrutura do SBA-16. Vale ressaltar que as amostras modificadas (Figura 20 (b), 20 (c) e 20 (d)) também exibem um pico bem resolvido indexado ao plano (110), típico de estruturas mesoporosas cúbicas. De fato, o pico intenso relacionado à reflexão do plano (110) permaneceu presente nas amostras mesmo após a incorporação de cálcio e galactomanana nas amostras S4, Ca-SBA-16 e S1 sugerindo dessa forma que houve apenas uma pequena perda de ordenação estrutural na matriz mesoporosa. Além das reflexões características, a posição do primeiro pico em torno de $2\theta = 0,56$ para a sílica SBA-16, $0,90$ para S4 e Ca-SBA-16 e $0,80$ para S1 permite a determinação direta da distância centro-centro entre poros adjacentes ajustando os dados experimentais para a lei de Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$) e a relação ($\frac{1}{d_{hkl}^2} = \frac{h^2 + k^2 + l^2}{a_0^2}$) para materiais com rede cúbica ($a_0 = \sqrt{2}d_{110}$), onde d corresponde a distância interplanar e a_0 é o parâmetro de célula (MASSA, 2004; ZHAO et al., 2013).

No caso da SBA-16, a sua estrutura cúbica característica tinha um parâmetro de célula unitária correspondente de $a_0 = 22,3$ nm com um espaçamento d_{110} de $15,8$ nm. Os padrões SAXS das amostras de superfície modificada S4, Ca-SBA-16 e S1 apresentaram valores a_0 de $13,6$ e $15,6$ nm e d_{110} valores de $9,6$ e $11,0$ nm, respectivamente. Estes resultados indicaram que a modificação da parede dos poros não afeta a ordem estrutural do material. A Tabela 4 sumariza esses resultados.

Tabela 4 - Propriedades texturais e estruturais das amostras SBA-16, S4, Ca-SBA-16 e S1

Amostra	d_{110} (nm)	a_0 (nm)
SBA-16	15,8	22,3
Ca-SBA-16	9,6	13,6
S1	11,0	15,6
S4	9,6	13,6

As amostras dos materiais híbridos e da sílica modificada com cálcio apresentam maiores picos de difração, indicando que a estrutura desses materiais é menos regular que a SBA-16, como já mencionado. Não é de surpreender que o padrão para SBA-16 seja mais acentuado do que para os materiais híbridos e a sílica modificada, dado que o primeiro exhibe

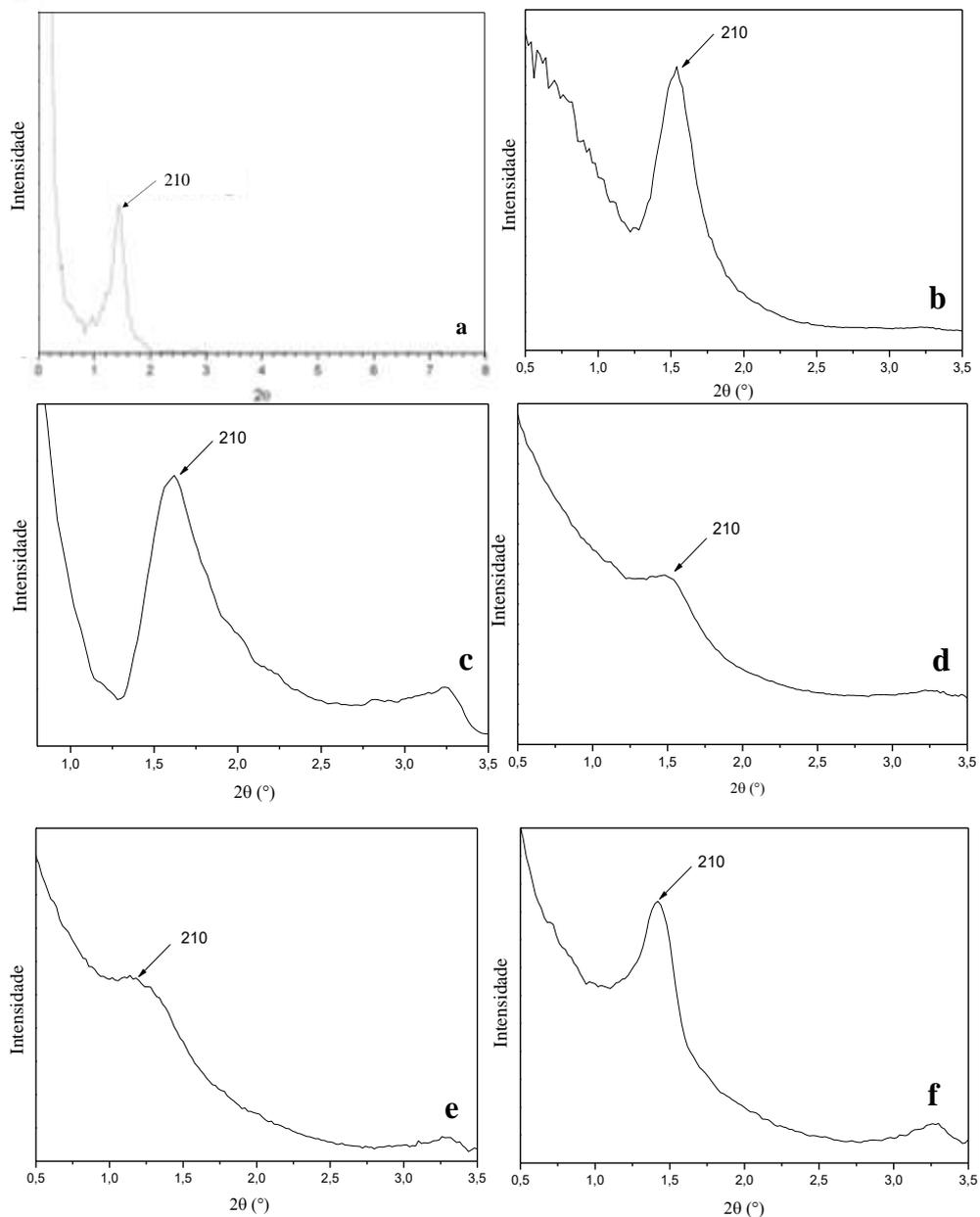
mesoporos muito mais uniformes, como mostrado pelas isotermas de adsorção (Figura 20 (a)).

O deslocamento dos picos em 2θ para as amostras modificadas, revelou uma diminuição da distância interplanar, isso pode ser atribuído à diminuição do volume dos poros devido a ocupação destes pelo cálcio. Também foi calculada a espessura da parede dos poros, a partir de considerações geométricas e do parâmetro de célula ($h = a_0 - D_p$), onde D_p é diâmetro do poro obtido a partir da adsorção de N_2 .

A Figura 21 mostra os padrões de SAXS para as amostras com UFC-A, tanto as sílicas modificadas quanto os *scaffolds* (Figura 21 (a) UFC-A, (b) UFC-A-BuOH, (c) Ca-UFC-A, (d) S3, (e) S5, (f) S2). Os difratogramas mostram apenas um plano de difração na região de $2\theta = 1,0- 3,0^\circ$. Difrações nessa região são indexadas à reflexões em (200), (210) e (211), as quais são baseadas na estrutura de sílica SBA-1 e conseqüentemente em uma estrutura cúbica simples $Pm\bar{3}n$ (ZHAO e WANG, 2007; LI et al., 2015). Os padrões mostram, portanto que o material aqui sintetizado é similar a sílica SBA-1, porém usando outra rota sintética. Outro pico é observado em uma região de maiores ângulos entre 3,0 e 5,0, indicando um alto grau de organização da estrutura cúbica.

A Figura 21 mostra que a ordem estrutural é preservada mesmo após a incorporação de cálcio (Figura 21 (c) e (d)) e modificação com galactomanana (Figura 21 (e) e (f)), entretanto a intensidade da difração decresce e o pico torna-se mais largo. Isso implica alguma degradação na ordenação estrutural das amostras modificadas induzida pela incorporação de galactomanana.

Figura 21- Espalhamento de raios-X a baixo ângulo para as amostras (a) UFC-A, (b) UFC-A-BuOH, (c) Ca-UFC-A, (d) S3, (e) S5, (f) S2, respectivamente



Observa-se ainda que essas amostras modificadas tiveram também suas reflexões deslocadas para ângulos menores, isso revela um aumento na distância interplanar. Esse deslocamento pode ter ocorrido também por causa da presença de álcool n-butílico, usado para expandir os poros, pois deslocamentos para ângulos menores também implica aumento dos mesoporos. Devido à natureza hidrofóbica do álcool n-butílico, ele pode difundir-se na região hidrofóbica das micelas do surfactante, aumentando o volume e o raio da micela, conseqüentemente aumentando o tamanho do poro.

O parâmetro de célula unitária foi calculado através da fórmula ($a_0 = d_{210}\sqrt{5}$) e a amostra contendo álcool n-butílico apresentou maior valor, isso está consistente com o que foi observado anteriormente. A Tabela 5 sumariza as propriedades dessas amostras.

Tabela 5 - Propriedades texturais e estruturais das amostras UFC-A, UFC-A-BuOH, Ca-UFC-A, S3, S5, S2

Amostra	d_{210} (nm)	a_0 (nm)
UFC-A	6,2	13,8
UFC-A-BuOH	5,7	12,8
Ca-UFC-A	5,9	13,2
S2	6,1	13,8
S3	5,8	12,9
S5	7,7	17,2

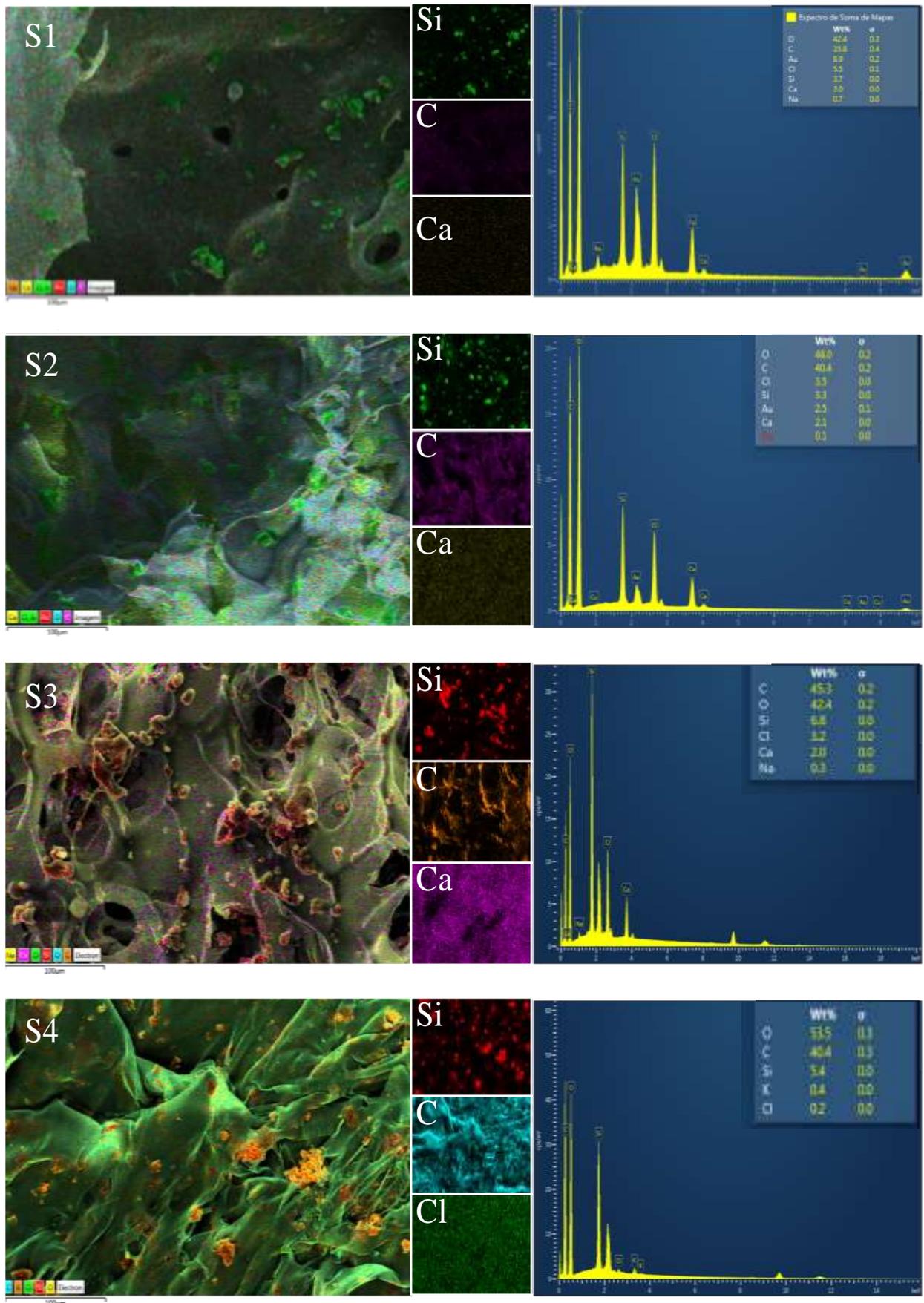
5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

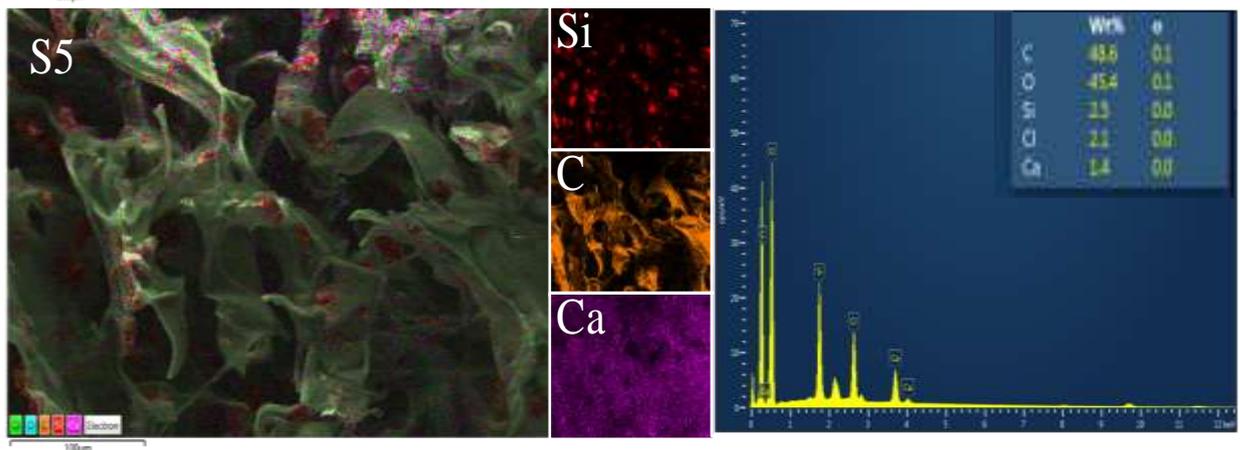
Através do microscópio eletrônico de varredura foi possível observar a morfologia de aspecto esponjosa dos *scaffolds* (Figura 22). Os espectros de energia de dispersão (EDS) (Figura 22) também foram dispostos, onde podemos averiguar semiquantitativamente a presença majoritária dos átomos de carbono, oxigênio, silício e cálcio presentes nos materiais híbridos.

A presença de aglomerados de sílica foi evidenciada. Esses grânulos estão presentes em toda a superfície e provavelmente no interior do material, como se pode observar nas micrografias. No EDS, observa-se a cor referente aos átomos de silício, átomo constituinte apenas na estrutura atômica da sílica, presente nesses aglomerados.

Na Figura 22 (S3), foi possível observar uma disposição irregular e não-homogênea da dispersão da sílica na superfície do material, isso se dá possivelmente durante a dispersão da sílica na solução no momento em que os materiais foram preparados.

Figura 22 - Micrografias (MEV) à esquerda e espectros de EDS dos *scaffolds* à direita



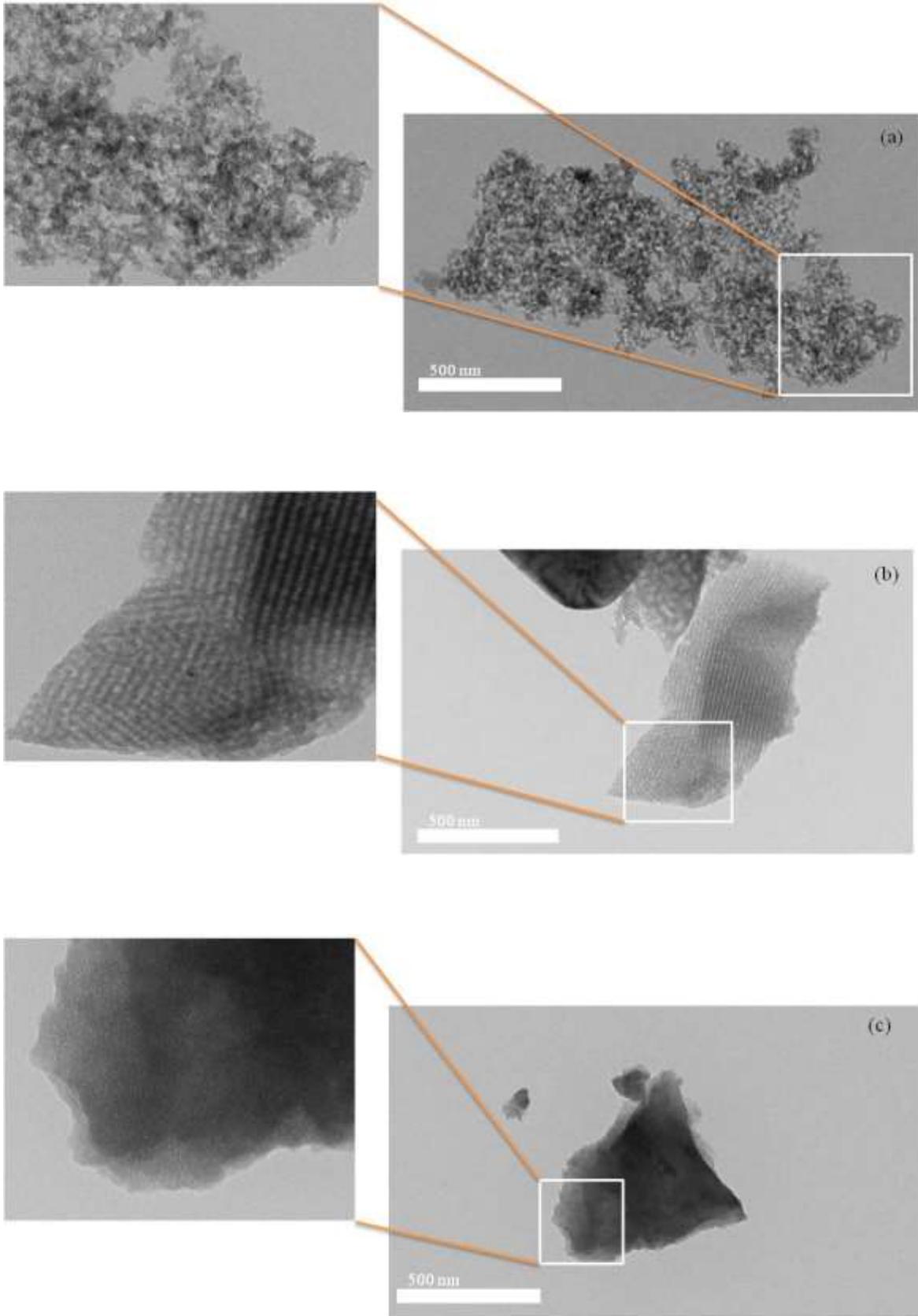


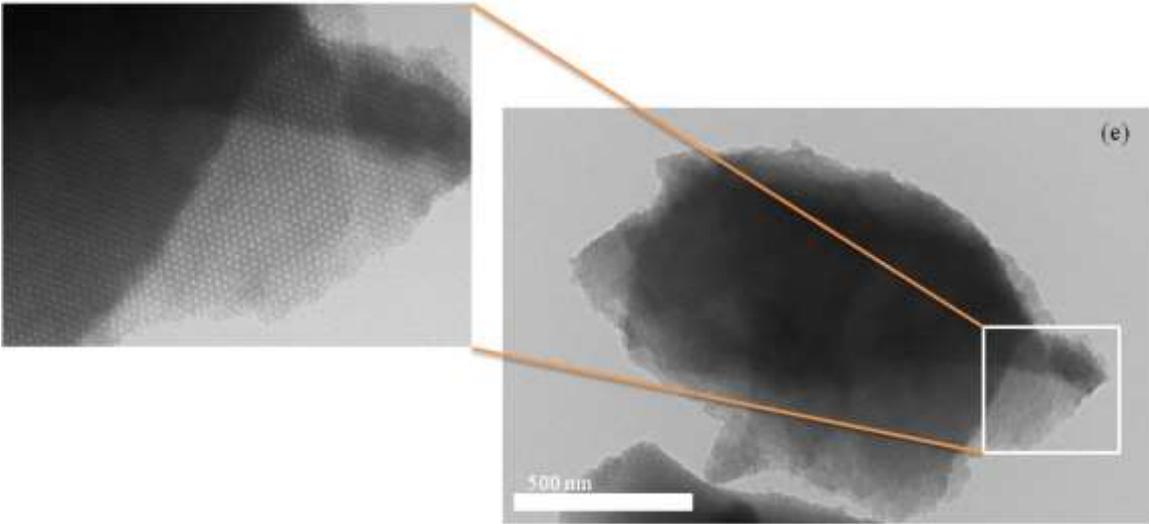
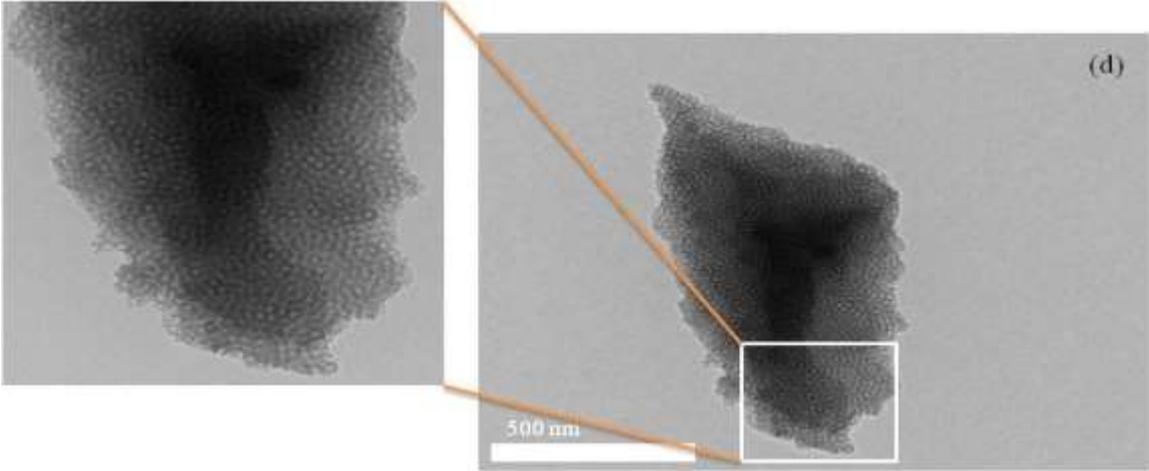
5.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A Figura 23 mostra as micrografias de transmissão (MET) referentes às sílicas produzidas. A homogeneidade da formação dos canais nas amostras, principalmente as amostras Ca-SBA-16, SBA-16 e UFC-A (Figura 23 (b), (d) e (e), respectivamente), mostram um arranjo ordenado, o que significa que esses materiais bem ordenados fornecem características que favorecem o material e posteriores materiais híbridos, tais como, elevada área superficial, tamanho de poros bem definidos e estabilidade térmica. Vale salientar que, de acordo com a análise de SAXS, as amostras SBA-16 e Ca-SBA-16 apresentaram estrutura cúbica (BANAFTI et al., 2020), onde se pode observar a ordenação estrutural das amostras nas micrografias correspondentes.

Na micrografia referente à amostra UFC-A-BuOH (Figura 23 (c)) observa-se a homogeneidade dos microporos em sua estrutura, mas são pouco visíveis os seus canais isso se deve por causa da remoção parcial do surfactante ($E_{43}S_{14}E_{43}$) e co-surfactante (álcool n-butílico) no processo de calcinação. Comparando as sílicas que apresentam cálcio em sua estrutura pode-se observar que o íon cálcio não prejudicou as propriedades estruturais da amostra Ca-SBA-16 (Figura 23 (b)), esse material apresentou canais longos e uma boa distribuição dos poros ao longo de sua estrutura. Em contrapartida, a amostra Ca-UFC-A apresentou uma pequena desorganização em seus canais e poros, isso se dá devido à ineficiente incorporação de cálcio em sua estrutura, já que pela análise de adsorção de N_2 (Figura 19) foi confirmado o aumento do diâmetro de poro e heterogênea distribuição dos poros.

Figura 23 - Micrografias de Transmissão para as sílicas (a) Ca-UFC-A, (b) Ca-SBA-16, (c) UFC-A- BuOH, (d) SBA-16 e (e) UFC-A





5.7 Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

A espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) é uma técnica multielementar, rápida e sensível que pode ser apropriadamente aplicada para a determinação de metais em amostras. A Tabela 6 mostra a concentração de cálcio quantificada nas amostras analisadas:

Tabela 6 - Resultados apresentados em g. L⁻¹ para as amostras

Amostras	Elemento	Concentração (g. L ⁻¹)	Desvio Padrão	Intervalo de Confiança
S1	Ca	12,6	0,27	0,67
S2	Ca	14,0	0,27	0,67
S3	Ca	<LD	-	-
S4	Ca	0,54	0,09	0,23
S5	Ca	10,6	0,01	0,04
Ca-SBA-16	Ca	3,97	0,03	0,08
Ca-UFC-A	Ca	3,64	0,02	0,06

LD: 0,02 mg L⁻¹ (Ca)

Comparando as amostras S1 e S4, onde foram utilizados métodos distintos de incorporação do cálcio aos *scaffolds*, pode-se observar que na amostra S1, em que o íon foi incorporado fisicamente, há uma maior concentração de cálcio do que na amostra S4 em que a incorporação do íon foi realizada concomitantemente a síntese da sílica. Observa-se a mesma situação para as amostras S2 e S3. Portanto, o método 1 em que só se faz uma mistura com CaCl₂, galactomanana e sílica, mostrou-se mais eficaz no quesito maior concentração de cálcio no *scaffold*.

5.8 Análise Elementar

Os teores de carbono, enxofre, hidrogênio e nitrogênio das amostras foram quantificados por análise elementar. A Tabela 7 apresenta os resultados das análises. Pode-se observar que a análise elementar para os *scaffolds* (S1; S2; S3; S4 e S5) mostrou uma considerável quantidade de carbono, isso se deve a galactomanana presente na formação do *scaffold*, já que a sílica contém apenas os átomos de silício, oxigênio e hidrogênio em sua composição. A porcentagem de carbono que se nota nas amostras em que contém apenas a

sílica (Ca-SBA-16; Ca-UFC-A; UFC-A-BuOH e UFC-A), deve-se ao resquício de surfactante que não foi totalmente retirado ao realizar a calcinação desta.

Pela análise elementar, pode-se observar também a pureza do material, levando-se em conta que nitrogênio e enxofre podem estar possivelmente associados a impurezas. Portanto, percebe-se que a ausência desses elementos no material indica um confiável grau de pureza (TOLEDO, 2020).

Tabela 7 – Análise elementar dos *scaffolds* e das sílicas

Amostras	Carbono (%)	Enxofre (%)	Hidrogênio (%)	Nitrogênio (%)
S1	29,81	n.e*	5,63	n.e*
S2	30,03	n.e*	5,18	n.e*
S3	33,15	n.e*	5,92	n.e*
S4	32,79	n.e*	5,65	n.e*
S5	28,48	n.e*	5,67	n.e*
Ca-SBA-16	0,19	n.e*	0,66	n.e*
Ca-UFC-A	0,02	n.e*	0,73	n.e*
UFC-A-BuOH	0,11	n.e*	0,57	n.e*
UFC-A	0,13	n.e*	1,43	n.e*

*não encontrado.

5.9 Ensaios de citotoxicidade

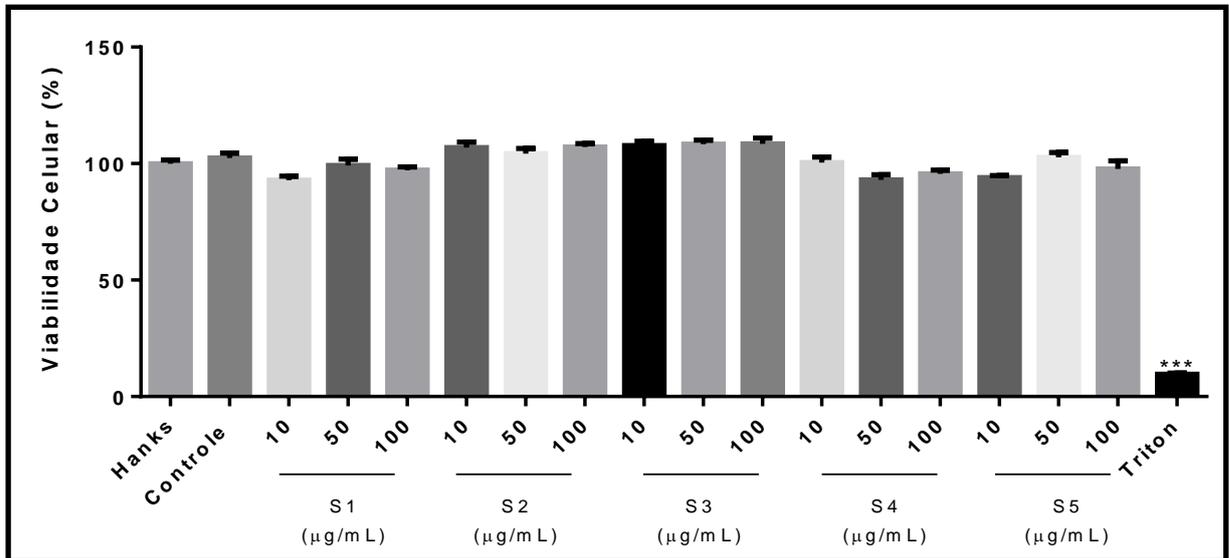
A citotoxicidade dos *scaffolds* S1, S2, S3, S4 e S5 em neutrófilos humanos foi avaliada por dois ensaios: atividade de LDH (Tabela 8) e teste de MTT (Figura 24). A LDH é uma enzima presente no citoplasma celular e seu aumento no ambiente extracelular é indicativo de dano à membrana celular. Os resultados não mostraram aumento na liberação de LDH em nenhuma concentração testada quando comparada ao veículo (controle negativo). Além disso, nenhuma concentração de S1, S2, S3, S4 e S5 reduziu a atividade mitocondrial de neutrófilos humanos medida pelo teste MTT quando comparada ao grupo controle. Esses

resultados sugerem que S1, S2, S3, S4 e S5 não afetam significativamente a viabilidade celular dos neutrófilos.

Tabela 8 - Avaliação da toxicidade de S1, S2, S3, S4 e S5 medida pela atividade da lactato desidrogenase (LDH) em neutrófilos humanos. Hanks: células não tratadas, controle (água, controle negativo), Triton X-100 (0,2%, controle positivo). * Vs. controle (controle negativo). Os resultados representam médias \pm SEM. ($p < 0,05$; ANOVA e teste post hoc de Tukey)

Grupo	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Atividade LDH (U/L)
Hanks	-	1,97 \pm 0,26
Controle	-	2,29 \pm 0,20
S1	10	1,90 \pm 0,13
	50	1,72 \pm 0,15
	100	1,51 \pm 0,18
S2	10	3,13 \pm 0,11
	50	2,87 \pm 0,39
	100	2,60 \pm 0,32
S3	10	2,61 \pm 0,30
	50	3,13 \pm 0,43
	100	2,81 \pm 0,44
S4	10	2,26 \pm 0,19
	50	1,55 \pm 0,18
	100	1,76 \pm 0,27
S5	10	1,51 \pm 0,14
	50	1,86 \pm 0,21
	100	1,43 \pm 0,25
Triton X-100	0,2%	100 \pm 1,38*

Figura 24 - Avaliação da toxicidade de S1, S2, S3, S4 e S5 no teste MTT em neutrófilos humanos. Hanks: células não tratadas, controle (controle negativo), Triton X-100 (0,2%, controle positivo). * vs. veículo (água). Os resultados representam médias \pm SEM. ($p < 0,05$; ANOVA e teste post hoc de Tukey)



6 CONCLUSÕES

As sílicas produzidas para a preparação dos materiais híbridos apresentaram dois tipos de porosidade (micro e meso), indicando que os materiais se assemelham à porosidade do tecido ósseo, como foi confirmado pelas análises de adsorção e dessorção de N₂. As sílicas apresentaram estabilidade térmica, comprovada pelas análises de termogravimetria, propriedades que somatizam com as propriedades da galactomanana já citadas nesse trabalho.

A análise elementar mostrou que os materiais produzidos estão livres de impurezas, o que os qualifica como materiais de confiável grau de pureza. As análises de SAXS mostraram que os materiais produzidos são ordenados estruturalmente, mesmo com a junção à galactomanana.

Pode-se comprovar através da análise de ICP e MEV que o cálcio foi introduzido nas sílicas e nos *scaffolds*, excetuando a sílica Ca-UFC-A e o *scaffold* S3 que devido a sua microporosidade não teve uma incorporação do íon efetiva. Os ensaios de citotoxicidade mostraram que os *scaffolds* produzidos não são tóxicos e não afetam significativamente a viabilidade celular dos neutrófilos.

Os *scaffolds* sintetizados apresentaram boa estabilidade térmica e presença de elementos químicos essenciais à mineralização óssea. O desenvolvimento desses biomateriais com cálcio apresentado como mineralizadores promissores do tecido ósseo, devido à sua boa morfologia e atoxicidade, a partir das análises de microscopia e ensaios citotóxicos, que simulam a morfologia do osso, são, portanto, materiais relevantes na área biomédica.

REFERÊNCIAS

- AIMIN, J.; YUFA, Y.; OU, C.; BINGJUN, W.; LIANG, S.; XIAODONG, L.; FENG, X., Isolation and characterization of sulfated polysaccharide from the sargassum pallidum (turn.) c. ag. and its sedative/hypnotic activity, **Journal of Medicinal Plants Research**, Guangzhou, China, v. 5, p. 5240-5246, 2011.
- ALBUQUERQUE, P. B. S.; BARROS, W. J.; SANTOS, G. R. C.; CORREIA, M. T. S.; MOURÃO, P. A. S.; TEIXEIRA, J. A.; CUNHA, M. G. C., Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*, **Carbohydrate Polymers**, Recife-PE, Brasil, v. 104, p. 127-134, 2014.
- AMGARTEN, D. R., **Determinação de volume específico de poros de sílicas cromatográficas por dessorção de líquidos em excesso**, Campinas-SP, Brasil: [s.n], 2006.
- AMINI, A; LAURENCIN, C; NUKAVARAPU, S., Bone tissue engineering: recent advances and challenges, **Critical of Review in Biomedical Engineering**, Connecticut, USA, v. 40, p. 363-408, 2012.
- ANDRADE, G. F.; FARIA, J. A. Q. A.; GOMES, D. A.; BARROS, A. L. B.; FERNANDES, R. S.; COELHO, A. C. S.; TAKAHASHI, J. A.; CUNHA, A. S.; SOUSA, E. M. B., Mesoporous silica SBA-16/hydroxyapatite-based composite for ciprofloxacin delivery to bacterial bone infection, **J Sol-Gel Sci Technol**, Belo Horizonte-MG, Brasil, v. 85, p. 369–381, 2018.
- ANDRADE, G. F.; SOARES, D. C. F.; SANTOS, R. G.; SOUSA, E. M. B., Mesoporous silica SBA-16 nanoparticles: Synthesis, physicochemical characterization, release profile, and in vitro cytocompatibility studies, **Microporous and Mesoporous Materials**, Belo Horizonte-MG, Brasil, v. 168, p. 102–110, 2013.
- AKTI, F., The effect of potassium modification on structural properties and catalytic activity of copper and iron containing SBA-16 catalysts for selective oxidation of ethanol, **Materials Chemistry and Physics**, Çorum, Turquia, v. 227, p. 21–28, 2019.
- BALBACH, F., **As plantas que curam**. 2ª Ed. Itaquaquecetuba, São Paulo: editora Missionária, São Paulo-SP, Brasil, 1997.
- BANAFTI, S.; JAHANSHAHI, M.; PEYRAVI, M.; KHALILI, S., Controllable release activity of antibacterial Ag/SBA-16 cage-like synthesized by One-Pot method, **Microporous and Mesoporous Materials**, Babol, Iran, 110107, 2020.
- BLAND, R., Steroid hormone receptor expression and action in bone, **Clin Sci**, Birmingham, UK, v. 98(2), p. 217-240, 2000.
- BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H.; TELLER, E., Adsorption of Gases in Multimolecular Layers, **Journal of the American Chemical Society**, Washington, DC, USA, v. 60(2), p. 309-319, 1938.

BRYDONE, A. S.; MEEK, D.; MACLAINE, S., Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering, **Proceedings Institution of Mechanical Engineers Part H**, Glasgow, UK, v. 224, p. 1329, 2010.

CERQUEIRA, M. A.; PINHEIRO, A. C.; SOUZA, B. W. S.; LIMA, A.M. P.; RIBEIRO, C.; MIRANDA, C.; TEIXEIRA, J. A.; MOREIRA, R. A.; COIMBRA, M. A., Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources, **Carbohydrate Polymers**, Braga, Portugal, v. 75, p. 408-414, 2009.

CHAUDHURY, K.; KUMAR, V.; KANDASAMY, J. P.; ROYCHOUDHURY, S., Regenerative nanomedicine: current perspectives and future directions, **International Journal of Nanomedicine**, Kharagpur, India, v. 9, p. 4153-4167, 2014.

CHEN, Y.; XIONG, X.; GAO, Q., Digestibility and physicochemical properties of starch-galactomannan complexes by heat-moisture treatment, **Food Hydrocolloids**, Guangzhou, PR China, v. 77, p. 853-862, 2018.

CLARO NETO, S., **Caracterizações físico-químicas de um poliuretano derivado do óleo de mamona utilizado para implantes ósseos**, Tese (Doutorado em Ciência) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil, 1997.

COSTA, C. L.; SANTOS, J. A. A.; SANTOS, K. R. P.; AGUIAR JUNIOR, F. C. A., Análise histomorfológica e histomorfométrica do tecido ósseo maduro de *Glossophaga soricina* (Phyllostomidae:chiroptera), **Ciência Animal Brasileira**, Vitória de Santo Antão - PE, Brasil, v.13, n.4, p. 534-543, 2012.

CUNHA, A. P., **Caracterização e modificação química da Galactomanana de Caesalpinia Ferrea Mart Ex Tul.Var Ferrea: estudo do potencial antiviral, hipoglicemiante e cicatrizante**, Tese (Doutorado em Química)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil, 2015.

CUNHA, A. P.; RIBEIRO, A. C. B.; RICARDO, N. M. P. S.; OLIVEIRA, A. C.; DÁVILA, L. S. P.; CARDOSO, J. H. L.; RODRIGUES, D. C.; AZEREDO, H. M. C.; SILVA, L. M. A.; DE BRITO, E. S.; MENDES FILHO, J.; ROCHA, T. M.; LEAL, L. K. A. M.; RICARDO, N. M. P. S., Polysaccharides from *Caesalpinia ferrea* seeds - Chemical characterization and anti-diabetic effects in Wistar rats, **Food Hydrocolloids**, Fortaleza-CE, Brasil, v. 65, p. 68-76, 2017.

DA SILVA, A. C. B.; DA SILVA, D. R.; GREMPER, R. G.; GORDÓN-NÚÑEZ, M. A.; AGRIPINO, G. G., Biotechnology of Tissues and Materials in Dentistry — Future Prospects, Current Concepts in Dental Implantology Ilser Turkyilmaz, **IntechOpen**, Araruna - PB, Brasil, Chapter 3, p. 59-75, 2015.

DENG, Y.; WEI, J.; SUN, Z.; ZHAO, D., Large-pore ordered mesoporous materials templated from non-Pluronic amphiphilic block copolymers, **Chemical Society Reviews**, Toronto, Canada, v. 42, p. 4054, 2013.

DERBALAH, A.; SHENASHEN, M.; HAMZA, A.; MOHAMED, A.; EL SAFTY, S.; Antifungal activity of fabricated mesoporous silica nanoparticles against early blight of

tomato, **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, Ibaraki-ken, Japan, v. 5, p. 145-150, 2018.

FERNANDES, D.; FERNANDO RODRIGO, D.; SANTOS, A. G.; DI SOUZA, L. B.; DOS SANTOS, A. P., Synthesis and Characterization of Mesoporous Materials SBA-15 Obtained with Different Synthesis Conditions, **Revista Virtual de Química**, Mossoró-RN, Brasil, v. 8, p. 1855-1864, 2016.

FLOREK, J.; GUILLET-NICOLAS, R.; KLEITZ, F., Ordered mesoporous silica: synthesis and applications, **In Functional Materials**, Walter de Gruyter GmbH: Berlin, Germany, p. 61-100, 2014.

GODOY, A. L. E.; BRESSIANI, J. C.; BRESSIANI, A. H. A., Efeito da adição de polímero precursor cerâmico na sinterização de alumina, **Cerâmica**, São Paulo-SP, Brasil, v. 56, p. 97-104, 2010.

GOYER, B.; LAROUCHE, D.; KIM, D. H.; VEILLETTE, N.; PRUNEAU, V.; BERNIER, V.; GERMAIN, L., Immune tolerance of tissue-engineered skin produced with allogeneic or xenogeneic fibroblasts and syngeneic keratinocytes grafted on mice, **Acta Biomaterialia**, Quebec, Canada, v. 90, p. 192-204, 2019.

GRUDZIEN, R. M.; GRABICKA, B. E.; JARONIEC, M., Effective method for removal of polymeric template from SBA-16 silica combining extraction and temperature-controlled calcination, **Journal of Materials Chemistry**, Kent, USA, v.16, p. 819-823, 2006.

HAYASHI, K.; SAKAKI, T.; KOMINAMI, S.; INOUE, K.; YABUSAKI, Y., Coexpression of genetically engineered fused enzyme between yeast nadph-p450 reductase and human cytochrome p450 3a4 and human cytochrome b5 in yeast, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Hyogo, Japan, v. 381, p.164-70, 2000.

HOFFMANN, F.; CORNELIUS, M.; MORELL, J.; FRÖBA, M., Silica-Based Mesoporous Organic-Inorganic hybrid Materials, **Angewandte Chemie**, Weinheim, Alemanha, v. 45: p. 3216 – 3251, 2006.

HUIRACHE-ACUNA, R.; ZEPEDA, T. A.; RIVERA-MUNOZ, E.M.; NAVA, R.; LORICERA, C.V.; PAWELEC, B., Characterization and HDS performance of sulfided CoMoW catalysts supported on mesoporous Al-SBA-16 substrates, **Fuel**, Morelia, Mexico, v. 149, p. 149-161, 2014.

IANNESSI, A.; AMORETTI, N.; MARCY, P.-Y.; SEDAT, J., Percutaneous cementoplasty for the treatment of extraspinal painful bone lesion, a prospective study, **Diagnostic and Interventional Imaging**, Nice cedex 02, France, v. 93, p. 859-870, 2012.

IGNÁCIO, H., **Utilização do cimento derivado da mamona no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em coelhos**, Dissertação (Mestrado em ortopedia e Traumatologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil, 1995.

ISRAELACHVILI, J. N.; MITCHELL, D. J.; NINHAM, W., "Theory of Self-Assembly of Hydrocarbon Amphiphiles into Micelles and Bilayers", **Journal of Chemical Society Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics**, Canberra, Australia, v. 72, p. 1525–1568, 1976.

IUPAC, Manual of Symbols and Terminology, **Colloids and Surface Chemistr**, Parte I n. Appendix 2, Washington-DC, USA, p. 578, 1972.

IYER, J.; BLANKSCHTEIN, D., Are Ellipsoids Feasible Micelle Shapes? An Answer Based on a Molecular-thermodynamic Model of Nonionic Surfactant Micelles, **Journal of Physical Chemistry B**, Cambridge, USA, v. 116, p. 6443–54, 2012.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J., **Histologia Básica**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, décima edição, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, p. 488, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J., Tecido ósseo. In: JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, p. 131-149, 2008.

KALIDAS, N.; RIIKONEN, J.; XU, W.; LAHTINEN, K.; KALLIO, T.; LEHTO, V. P., Cascading use of barley husk ash to produce silicon for composite anodes of Li-ion batteries. **Materials Chemistry and Physics**, Kuopio, Finland, v. 254, p. 122736, 2020.

KHEZRI, K.; MAHDAVI, H., Polystyrene-silica aerogel nanocomposites by in situ simultaneous reverse and normal initiation technique for ATRP, **Microporous and Mesoporous Materials**, Tehran, Iran, v. 228, p. 132 -140, 2016.

KIM, J. D.; HONMA, I., Proton conducting polydimethylsiloxane/zirconium oxide hybrid membranes added with phosphotungstic acid, **Electrochimica Acta**, Tsukuba, Ibaraki, Japan, v. 48, p. 3633, 2003.

KLEITZ, F.; CHOI, S. H.; RYOO, R., Cubic Ia3d large mesoporous silica: synthesis and replication to platinum nanowires, carbon nanorods and carbon nanotubes, **Chemical Communications**, Daejeon, Republic of Korea, v. 17, p. 2136, 2003.

KONTOGIORGOS, V., Galactomannans (Guar, Locust Bean, Fenugreek, Tara), **Elsevier**, Huddersfield, UK, p. 1-5, 2018.

KUMAR, S.; MOLIK, M. M.; PUROHIT, R., Synthesis methods of mesoporous silica materials, **Materials Today: Proceedings**, Bhopal, India, v. 4, p. 350-357, 2017.

LEE, J. W.; KIM, J. Y.; CHO, D., Solid Free-form Fabrication Technology and Its Application to Bone Tissue Engineering, **International Journal of Stem Cells**, San Diego, USA, v. 3, n. 2, p. 85-95, 2010.

LI, NA.; CHEN, R.; MIAO, J.; ZHOU, P.; YU, H-B.; CHEN, T-H., Synthesis of single crystal-like hierarchically mesoporous titanosilicate Ti-SBA-1, **Chinese Chemical Letters**, Tianjin, China, v. 26, p. 1269-1272, 2015.

- LOPES, N.; FACCIN-GALHARDI, L. C.; ESPADA, S. F.; PACHECO, A. C.; RICARDO, N. M. P. S.; LINHARES, R. E. C.; NOZAWA, C., Sulfated polysaccharide of *Caesalpinia ferrea* inhibits herpes simplex virus and poliovirus, **International Journal of Biological Macromolecules**, Londrina-PR, Brasil, v. 60, p. 93-99, 2013.
- LUCISANO, Y.M.; MANTOVANI, B., Lysosomal enzyme release from polymorphonuclear leukocytes induced by immunocomplexes of IgM and of IgG., **The Journal of Immunology**, Ribeirão Preto-SP, Brasil, v.132, p. 2015-2020, 1984.
- MA, T-Y.; LIU, L.; YUAN, Z-Y., Direct synthesis of ordered mesoporous carbons, **Chemical Society Reviews**, Toronto, Canada, v. 42, p. 3977, 2013.
- MASSA, W., **Crystal Structure Determination**, 2^a Ed. Springer, Germany, p. 3-23, 2004.
- MEYNEN, V.; COOL, P.; VANSANT, E. F., Verified syntheses of mesoporous materials, **Microporous and Mesoporous Materials**, Wilrijk, Belgium, v. 125(3), p. 170-223, 2009.
- MICELAS Y LIPOSOMAS. Disponível em:
<http://www.educa.madrid.org/web/cc.nsdelasabiduria.madrid/Ejercicios/2b/Biologia/Lipidos/micelas.htm>. Acesso em: 03-24-2020 às 20:10.
- MILTON, R. M.; OCCELLI, M. L.; ROBSON, H. E., Molecular Sieve Science and Technology: a Historical Perspective. In: Zeolite Synthesis, **American Chemical Society**, Washington-DC, USA, v. 398, p. 1-10, 1989.
- MOLAEI, S.; GHADERMAZI, M., Heterogeneously catalyzed selective aerobic oxidation of sulfides with supported Dy on SBA-15 as recyclable catalyst under green condition, **Solid State Sciences**, Sanandaj, Iran, v. 101, p.106148, 2020.
- MONTANARI, T., **Histologia : texto, atlas e roteiro de aulas práticas** [recurso eletrônico] / Tatiana Montanari. – 3. ed. – Porto Alegre: Edição do Autor, p. 229: digital, Porto Alegre-RS, Brasil, 2016.
- MOSMANN, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay, **Journal of Immunological Methods**, Palo Alto-CA, USA, v. 65, p. 55-63, 1983.
- NAVARRO, M.; MICHIARDI, A.; CASTAÑO, O.; PLANELL, J., Biomaterials in orthopaedics, **Journal of the Royal Society Interface**, Barcelona, Spain, v. 5, p. 1137-1158, 2008.
- NUNES, I. J.; NUNES, V. A., Doenças metabólicas do osso, **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia UFMG**, Belo Horizonte-MG, Brasil, v. 3, p. 1-66, 1988.
- O'BRIEN, C. M.; HOLMES B.; FAUCETT S.; ZHANG L. G., Three Dimensional Printing of Nanomaterial Scaffolds for Complex Tissue Regeneration, **Tissue Engineering: Part B**, Washington, District of Columbia, USA, v. 00, p. 1-12, 2014.
- OLIVEIRA, J. L. B., **Efeito dos ultramicroporos e da química da superfície nos mecanismos de retenção de H₂S do biogás**, 2019, 66f. Dissertação (Mestrado em

Engenharia Química) - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil, 2019.

OLIVEIRA, N. M.; DOURADO, F. Q.; PERES, A. M.; SILVA, M. V.; MAIA, J. M.; TEIXEIRA, J. A., Effect of guar gum on the physicochemical, thermal, rheological and textural properties of green Edam cheese, **Food and Bioprocess Technology**, Braga, Portugal, v. 4, p. 1414- 1421, 2011.

OLIVEIRA, S. A.; MOURA, C. L.; CAVALCANTE, I. M.; LOPES, A. A.; LEAL, L. K. A. M.; GRAMOSA, N. V.; RIBEIRO, M. E. N. P.; FRANÇA, F. C. F.; YEATES, S. G.; RICARDO, N. M. P. S., Binary Micellar Solutions of Poly(Ethylene Oxide)-Poly(Styrene Oxide) Copolymers with Pluronic ® P123: Drug Solubilisation and Cytotoxicity Studies, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Fortaleza-CE, Brasil, v. 26, p. 2195-2204, 2015.

OLSSON, D. C.; PIPPI, N. L.; TOGNOLI, G. K.; RAISER, A. G., Comportamento biológico de matriz *scaffold* acrescida de células progenitoras na reparação óssea (Bone marrow progenitor cells enriched scaffold biological behavior in bone repair), **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, Brasi, v. 38, n.8, p. 2403-2412, 2008.

ORCIANI, M.; FINI, M.; DI PRIMIO, R.; MATTIOLI-BELMONTE, M., Biofabrication and Bone Tissue Regeneration: Cell Source, Approaches, and Challenges, **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Ancona, Italy, v.5, p. 1-15, 2017.

PARIDA, S. K.; DASH, S.; PATEL, S.; MISHRA, B. K., Adsorption of organic molecules on silica surface, **Advances in Colloid and Interface Science**, Orissa, India, v. 121, p. 77-110, 2006.

PAWAR, H. A.; LALITHA, K. G., Isolation, purification and characterization of galactomannans as an excipient from Senna tora seeds, **International Journal of Biological Macromolecules**, Tamil Nadu, India, v. 65, p. 167-175, 2014.

PEREIRA, V. J. C. S.; **Biologia da remodelação óssea**, Dissertação (Mestrado), 2010, 62f. Faculdade de medicina da universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2010.

PEYNE, J.; GAUTRON, J.; DOUDEAU, J.; JOUSSEIN, E.; ROSSIGNOL, S., Influence of calcium addition on calcined brick clay based geopolymers: A thermal and FTIR spectroscopy study, **Construction and Building Materials**, Limoges Cedex, France, v. 152, p. 794–803, 2017.

POLO-CORRALES, L.; LATORRE-ESTEVEZ, M.; RAMIREZ-VICK, J., Scaffold design for bone regeneration, **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, Mayagüez, USA, v. 14, p. 15-56, 2014.

QUARTZO in Artigos de apoio Infopédia, Porto: Porto Editora, 2003-2018. Disponível em: [https://www.infopedia.pt/apoio/artigos/\\$quartzo](https://www.infopedia.pt/apoio/artigos/$quartzo). Acesso em 2018-11-06 às 03:42:45.

RASHID, F.; HUSSAIN, S.; AHMED, Z., Extraction purification and characterization of galactomannan from fenugreek for industrial utilization, **Carbohydrate Polymers**, Sargodha, Pakistan, v. 180, p. 88-95, 2018.

ROSS, M.; PAWLINA, W., **Histología. Correlación con biología celular y molecular**. Barcelona: Wolters Kluwer, Barcelona, Espanha, 2016.

RUSTOM, L. E.; POELLMANN, M. J.; JOHNSON, A. J. W., Mineralization in micropores of calcium phosphate scaffolds, **Acta Biomaterialia**, Urbana, USA, p. 1-47, 2018.

SALES, J. A. A., **Novos agentes sililantes derivados do precursor epóxido na imobilização e síntese da sílica mesoporosa**, Tese (Doutorado), Instituto de Química, Unicamp, Campinas-SP, Brasil, 2003.

SANTOS, A. V.; VIANA, M. M.; MEDEIROS, F. H. A.; MOHALLEM, N. D. S., O Incrível Mundo dos Materiais Porosos – Características, Propriedades e Aplicações, **Química Nova**, São Paulo-SP, Brasil, v. 38, n.1, p. 4-11, 2016.

SANTOS, V. S., Mundo educação, tecido ósseo. Disponível em: <https://mundoeducacao.bol.uol.com.br/biologia/tecido-osseo.html>. Acesso em: 2020-03-21, às 19:47.

SAPEI, L.; GIERLINGER, N.; HARTMANN, J.; NÖSKE, R.; STRAUCH, P.; PARIS, O., Structural and analytical studies of silica accumulations in Equisetum hyemale, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Paris, França, v. 389, n. 4, p. 1249-1257, 2007.

SAYADI, K.; RAHDAR, A.; HAJINEZHAD, M. R.; NIKAZAR, S.; BIN HASAN SUSAN, M. A., Atorvastatin-loaded SBA-16 nanostructures: synthesis, physical characterization and biochemical alterations in hyperlipidemic rats, **Journal of Molecular Structure**, Kerman, Iran, v. 1202, p.127296, 2020.

SCHUTH, F.; SING, K.; WEITKAMP, J., **Handbook of Porous Solids**, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, v. I-IV, 2002.

SHAH, A. T.; DIN, M. I.; KANWAL, F. N.; MIRZA, M. L., Direct synthesis of mesoporous molecular sieves of Ni-SBA-16 by internal pH adjustment method and its performance for adsorption of toxic Brilliant Green dye, **Arabian Journal of Chemistry**, Lahore, Pakistan, p. 1-7, 2014.

SHIRAZI, F. S.; MEHRALI, M.; OSHKOUR, A. A.; METSELAAR, H. S. C.; KADRI, N. A.; ABU OSMAN, N. A., Mechanical and physical properties of calcium silicate/ alumina composite for biomedical engineering applications, **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, Kuala Lumpur, Malaysia, v. 30, p. 168-175, 2014.

SIQUEIRA, I. A. W. B.; MOURA, N. K.; MACHADO, J. P. B.; BACKES, E. H.; PASSADOR, F. R.; TRICHÊS, E. S., Porous membranes of the polycaprolactone (PCL) containing calcium silicate fibers for guided bone regeneration, **Materials Letters**, São José dos Campos-SP, Brasil, v. 206, p. 210-213, 2017.

SOUZA, S. P. M. C.; MORAIS, F. E.; SANTOS, E. V.; SILVA, M. L.; MARTINEZ-HUTLE, C. A.; FERNANDES, N. S., Determinação do teor de cálcio em comprimido à base de lactato de cálcio utilizado no tratamento da osteoporose, **Química Nova**, Natal-RN, Brasil, v. 35, n. 7, p. 1355-1359, 2012.

SUMATHI, S.; ALOK, R.R., Release behaviour of grugs from Tamarind Seed Polysaccharide tablets, **Journal oh Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, New Delhi, India, v. 5, p. 12-18, 2002.

TANGA, T.; ZHAO, Y.; XU, Y.; WU, D.; XU, J.; DENG, F., Functionalized SBA-15 materials for bilirubin adsorption, **Applied Surface Science**, Taiyuan, China, v. 257, p. 6004-6009, 2011.

TANTIRUNGROTECHAI, J.; THANANUPAPPAISAL, P.; YOOSUK, B.; VIRIYA-EMPIKUL, N.; FAUNGNAWAKIJ, K., One-pot synthesis of calcium-incorporated MCM-41 as a solid base catalyst for transesterification of palm olein, **Catalysis Communications**, Bangkok, Thailand, v. 16, p. 25-29, 2011.

TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S., Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno, **Química Nova**, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, v. 24, n. 6, p. 808-818, 2001.

THOMMES, M.; KANEKO, K.; NEIMARK, A.V.; OLIVIER, J.P.; RODRÍGUEZ-REINOSO, F.; ROUQUEROL, J.; SING, K.S.W., Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report), **Pure and Applied Chemistry**, Boynton Beach-FL, USA, v. 87, p. 1051-1069, 2015.

TOLEDO, M., Análise Elementar de CHNSO – preparação da Amostra. Disponível em: https://www.mt.com/br/pt/home/applications/Laboratory_weighing/chnso_elemental_analysis.html#publications. Acesso em: 2020-08-14, às 19:02.

UDAYAKUMAR, S.; SON, Y-S.; LEE, M-K.; PARK, S-W.; PARK, D-W., The synthesis of chloropropylated MCM-41 through co-condensation technique: The path finding process, **Applied Catalysis A: General**, Busan, Republic of Korea, v. 347, p. 192-199, 2008.

VATANPOUR, V.; RABIEE, H.; DAVOOD ABADI FARAHANI, M. H.; MASTERI-FARAHANI, M.; NIAKAN, M., Preparation and characterization of novel nanoporous SBA-16-COOH embedded polysulfone ultrafiltration membrane for protein separation, **Chemical Engineering Research and Design**, Tehran, Iran, v. 156, p. 240-250, 2020.

VEIS, A.; DORVEE, J. R., Biomineralization Mechanisms: A new paradigm for crystal nucleation in organic matrices, **Calcified Tissue International**, Chicago, USA, v. 93, n. 4, p. 307-315, 2013.

VIEBKE, C.; AL-ASSAF, S.; PHILLIPS, G., Food hydrocolloids and health claims, **Bioactive Carbohydrate and Dietary Fibre**, Wales, UK, v. 4, p. 101-114, 2014.

VILARÓ, P.; BENNADJI, Z.; BUDELLI, E.; MOYNA, G.; PANIZZOLO, L.; FERREIRA, F., Isolation and characterization of galactomannans from *Prosopis affinis* as potential gum substitutes, **Food Hydrocolloids**, Tacuarembó, Uruguay, v. 77, p. 711 -719, 2018.

WALTON, K.S.; SNURR, R.Q., Applicability of the BET Method for Determining Surface Areas of Microporous Metal Organic Frameworks, **Journal of the American Chemical Society**, Illinois, USA, v. 129, p. 8552-8556, 2007.

WANG, J; SOMASUNDARAN, P., Study of galactomannose interaction with solids using AFM, IR and allied techniques, **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, USA, v. 309, p. 373-383, 2007.

WANG, W.; YEUNG, K. W. K., Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review, **Bioactive Materials**, Hong Kong, China, v. 2, n. 4, p. 224–247, 2017.

WANG, W.Q.; WANG, J.-G.; SUN, P.-C.; DING, D.-T.; CHEN, T.-H., Effect of alcohol on morphology and mesostructure control of anionic-surfactant-templated mesoporous silica (AMS), **Journal of Colloid and Interface Science**, Tianjin, China, v. 331, p. 156, 2009.

WILLIAMS, D.F., On the mechanisms of biocompatibility, **Biomaterials**, Liverpool, UK, v. 29(20), p. 2941-2953, 2008.

XUE, B.; WANG, X.; YU, L.; DI, B.; CHEN, Z.; ZHU, Y.; LIU, X., Self-assembled lignin-silica hybrid material derived from rice husks as the sustainable reinforcing fillers for natural rubber, **International Journal of Biological Macromolecules**, Changchun, China, v. 145, p. 410-416, 2020.

YOUNG, K. H.; JONG-SAN, C.; YOUNG-UK, K.; SANG-EON, P., Microwave synthesis of cubic mesoporous silica SBA-16, **Microporous and Mesoporous Materials**, Taejon, South Korea, v. 68, p. 21-27, 2004.

YUEN, S. N.; CHOI, S. M.; PHILLIPS, D. L.; MA, C. Y., Raman and FTIR spectroscopy study of carboxymethylated non-starch polysaccharides, **Food Chemistry**, Hong Kong, China, v. 114, p. 1091-1098, 2009.

ZHAO, X.; WANG, X., Synthesis, characterization and catalytic application of Cr–SBA-1 mesoporous molecular sieves, **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, Lanzhou, China, v. 261, p. 225-231, 2007.

ZHAO, D.; WAN, Y.; ZHOU, W., **Ordered Mesoporous Materials**, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p. 190-193, 2013.

ZHOU, M.; YANG, L.; YANG, S.; ZHAO, F.; XUB, L.; YONG, Q., Isolation, characterization and in vitro anticancer activity of an aqueous galactomannan from the seed of *Sesbania cannabina*, **International Journal of Biological Macromolecules**, Nanjing, China, v. 113, p. 1241-1247, 2018.