

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHAREL EM QUÍMICA**

EMANUELLY FRANCESCON BELUSSO

**NANOTEXTURIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE TITÂNIO E INCORPORAÇÃO DE
HIDROXISSAL LAMELAR DE ZINCO INTERCALADO COM CEFAZOLINA: POTENCIAL
APLICAÇÃO COMO DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO LENTA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2022**

EMANUELLY FRANCESCON BELUSSO

**NANOTEXTURIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE TITÂNIO E
INCORPORAÇÃO DE HIDROXISSAL LAMELAR DE ZINCO
INTERCALADO COM CEFAZOLINA: POTENCIAL APLICAÇÃO
COMO DISPOSITIVO DE LIBERAÇÃO LENTA**

**NANOTEXTURIZATION OF TITANIUM SURFACE AND
INCORPORATION OF LAMELLAR ZINC HYDROXYSALT
INTERCALATED WITH CEFAZOLIN: POTENTIAL APPLICATION AS A
DEVICE FOR SLOW RELEASE**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Bacharelado em Química do Departamento Acadêmico de Química – DAQUI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharelado em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mariana de Souza Sikora

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana C. Trindade Cursino

Pato Branco

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pato Branco

Departamento de Química
Curso de Bacharelado em Química



TERMO DE APROVAÇÃO

NANOTEXTURIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE TITÂNIO E INCORPORAÇÃO DE
HIDROXISSAL LAMELAR DE ZINCO INTERCALADO COM CEFAZOLINA:
POTENCIAL APLICAÇÃO COMO DISPOSITIVO PARA LIBERAÇÃO LENTA

por

EMANUELLY FRANCESCON BELLUSSO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 23 de junho de 2022 às 17 horas e 20 minutos como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **Aprovado**.

Mariana de Souza Sikora
Profa. Orientadora

Anna Paulla Simon
Membro titular

Rodrigo Brackmann
Membro titular

Nota: O Documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no SEI processo 23064.027684/2022-61 e documento 2792152.

Dedico este trabalho a meus pais e ao meu namorado. Este caminho foi mais fácil com a presença de vocês. Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois ele fez possível a trajetória até o presente momento. Aos meus pais, Deomar Luiz Belusso e Vanderlea Francescon Belusso por todo o apoio ao longo da minha vida. À minha avó Terezinha Francescon, por sempre me ajudar. Ao meu namorado Halan Gabriel Borsatto, que se fez presente e me apoiou durante quatro anos da graduação, bem como na realização deste trabalho.

À minha orientadora Dr^a. Mariana de Souza Sikora, por todo o conhecimento e aprendizado compartilhado durante quatro anos. À minha coorientadora Dr^a. Ana C. Trindade Cursino, por todo o conhecimento e disponibilidade a qualquer momento para contribuir com este trabalho. Bem como, pela paciência para sanar as dúvidas no desenvolvimento neste trabalho, seus ensinamentos foram de extrema importância para o meu crescimento profissional.

À minha amiga, companheira de graduação e de pesquisa Bruna Lemes, que se fez presente em todos os momentos da graduação, compartilhando sonhos, conhecimentos, horas no laboratório e experiências pessoais. Aos amigos de graduação e de vida, a caminhada com a presença de vocês se tornou mais leve.

À professora Dr^a Ana Paula Bilck, responsável pela minha afeição por microbiologia, que sempre me incentivou e apoiou em momentos difíceis, principalmente no final da graduação.

À professora Simone Beux, que compartilhou do dia a dia no Laqua e me ajudou sempre que solicitei, que acreditou em mim e me incentivou a crescer.

Aos professores do Departamento de Química, que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional. À Central de Análises (UTFPR- PB). Por fim, a todos que de alguma forma me auxiliaram nesse percurso, muito obrigada!

*“Os sonhos não determinam o lugar que
você vai estar, mas produzem a força
necessária para o tirar do lugar em que
está”.*

Augusto Cury

RESUMO

BELUSSO, Emanuely Francescon. **NANOTEXTURIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE TITÂNIO E INCORPORAÇÃO DE HIDROXISSAL LAMELAR DE ZINCO INTERCALADO COM CEFAZOLINA: POTENCIAL APLICAÇÃO COMO DISPOSITIVO PARA LIBERAÇÃO LENTA**. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2022.

No presente trabalho, investigou-se o efeito do tempo de síntese anódica nas propriedades de filmes nanotubulares crescidos sobre a superfície do titânio. Foram investigadas a morfologia, bem como, o potencial para o uso como dispositivo de liberação lenta de fármacos. Estudou-se também o processo de intercalação do fármaco em hidroxissal lamelar de zinco e seu efeito na cinética de liberação. A superfície do titânio foi modificada por meio do crescimento de nanotubos utilizando solução eletrolítica à base de SBF, etilenoglicol e fluoreto de amônio, com variação do tempo de síntese em 10 e 30 minutos. Em paralelo, realizou-se a síntese da intercalação da Cefazolina no hidroxissal lamelar por meio da coprecipitação, utilizando soluções de nitrato de zinco hexahidratado, hidróxido de sódio e Cefazolina sódica. Posteriormente este material foi incorporado nos nanotubos de dióxido de titânio a fim de estudar a cinética de liberação. As amostras provenientes da anodização foram caracterizadas por MEV, enquanto que as amostras referente à intercalação foram caracterizadas por DRX, FTIR e TGA. Os resultados indicaram a obtenção de nanotubos organizados e definidos com 10 minutos de anodização, com uma organização inversamente proporcional ao tempo de síntese. Para o hidroxissal lamelar, comprovou-se a intercalação da Cefazolina na matriz inorgânica devido ao distanciamento basal calculado por meio do DRX. Bem como, a identificação das bandas características observadas no FTIR no composto lamelar sintetizado, com a identificação da coordenação do tipo monodentada entre o carboxilato e o centro metálico. Na análise de TGA foi possível estimar a quantidade de Cefazolina intercalada no material, representado cerca de quatro vezes menor do que a capacidade de troca iônica da matriz inorgânica. A amostra com 30 minutos de síntese se destacou no estudo da liberação para ambos os materiais, pois apresentou maior retenção do fármaco. A utilização do composto lamelar possibilitou uma liberação mais lenta em relação as demais amostras. Diante disso, em função das vantagens dos materiais expostas neste estudo, possibilita-se o desenvolvimento dos nanomateriais com potencial aplicação na indústria de implantes ortopédicos e ortodônticos avaliando-os como de extrema importância.

Palavras-chave: Anodização. Nanotubos. Hidroxissal Lamelar. Coprecipitação. Cefazolina. Liberação do fármaco.

ABSTRACT

BELUSSO, Emanuely Francescon. **NANOTEXTURIZATION OF TITANIUM SURFACE AND INCORPORATION OF LAMELLAR ZINC HYDROXYSALT INTERCALATED WITH CEFAZOLIN: POTENTIAL APPLICATION AS A DEVICE FOR SLOW RELEASE.** 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2022.

In the present work, the effect of anodic synthesis time on the properties of nanotubular films grown on the titanium surface was investigated. The morphology was investigated, as well as the potential for use as a slow drug delivery device. The drug intercalation process in zinc lamellar hydroxysalt and its effect on release kinetics were also studied. The titanium surface was modified through the growth of nanotubes using electrolytic solution based on SBF, ethylene glycol and ammonium fluoride, with variation of the synthesis time in 10 and 30 minutes. In parallel, the synthesis of the intercalation of Cefazolin in the lamellar hydroxysalt was carried out by means of coprecipitation, using solutions of zinc nitrate hexahydrate, sodium hydroxide and sodium Cefazolin. Subsequently, this material was incorporated into titanium dioxide nanotubes in order to study the release kinetics. The samples from the anodization were characterized by SEM, while the samples referring to the intercalation were characterized by XRD, FTIR and TGA. The results indicated the obtaining of organized and defined nanotubes with 10 minutes of anodization, with an organization inversely proportional to the synthesis time. For the lamellar hydroxysalt, the intercalation of Cefazolin in the inorganic matrix was confirmed due to the basal distance calculated by means of the XRD. As well as the identification of the characteristic bands observed in the FTIR in the synthesized lamellar compound, with the identification of the monodentate type coordination between the carboxylate and the metallic center. In the TGA analysis it was possible to estimate the amount of Cefazolin intercalated in the material, representing about four times smaller than the ion exchange capacity of the inorganic matrix. The sample with 30 minutes of synthesis stood out in the study of release for both materials, as it showed greater retention of the drug. The use of the lamellar compound allowed a slower release in relation to the other samples. Therefore, due to the advantages of the materials exposed in this study, it is possible to develop nanomaterials with potential application in the orthopedic and orthodontic implants industry, evaluating them as extremely important.

Keywords: Anodization. Nanotubes. Lamellar Hydroxysalt. Coprecipitation. Cefazolin. Drug release.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação da ancoragem da prótese proposta por Branemark e seu grupo de pesquisa, composta por: implante rosqueado (i); pilar (a); parafuso central (pc); e prótese dentária (pd).	20
Figura 2. Representação da relação do implante e da estrutura óssea em função do tempo.....	20
Figura 3. Representação da estrutura do composto duplo lamelar com suas respectivas denominações. a) lamelas empilhadas e b) octaedros que formam a lamela	26
Figura 4. Representação da estrutura do Hidroxissal Lamelar: a) vista lateral e b) vista superior da lamela	28
Figura 5. Estrutura Molecular da Cefazolina Sódica (CAS 27164-46-1).	33
Figura 6. Representação do sistema utilizado para a síntese de TiO ₂	36
Figura 7. Representação do procedimento para a síntese do HNZ e do HSL-CS.	37
Figura 8. Representação do processo de incorporação do HSL-CS e CS	38
Figura 9. Representação do procedimento realizado no ensaio de liberação dos materiais.....	39
Figura 10. Curva de anodização com representação dos estágios de crescimento eletroquímico (Inset Região I - 1, 2 e 3) e demarcada com tempo de retirada dos filmes sintetizados (T10 e T30).	41
Figura 11. Morfologia das amostras sem (T) e com (T10 e T30) nanotexturização nos tempos de síntese (10 e 30 minutos).	43
Figura 12. Molécula da Cefazolina demarcando a posição do carboxilato	46
Figura 13. Difrátogramas da Cefazolina Sódica e dos sólidos sintetizados.	47
Figura 14. Representação estimada do hidroxissal lamelar intercalado com o ânion proveniente da Cefazolina.....	48
Figura 15. Espectro do infravermelho para os sólidos CS, HNZ e HSL-CS.	49
Figura 16. Possíveis formas de coordenação do grupo carboxilato com o centro metálico	50
Figura 17. Região das bandas que apresentam principais vibrações dos contra-íons em hidroxissais lamelares.	51
Figura 18. Curva TGA do HNZ	52
Figura 19. Curva TGA HSL-CS e CS	53

Figura 20. Espectro de absorção da Cefazolina Sódica obtida por meio de diluição seriada do fármaco em água ultrapura	54
Figura 21. Curva de calibração da Cefazolina Sódica.....	55
Figura 22. Liberação do material a partir dos coatings em solução PBS.....	56
Figura 23. Variação de massa liberada para cada amostra, dados extraídos para um tempo de liberação de 1144 minutos.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Diâmetro dos Nanotubos obtidos a partir do Ti_{CP} em 10 e 30 minutos de anodização.....	44
Tabela 2. Designação de cada amostra.....	56
Tabela 3. Quantidade de massa cumulativa pela massa total liberada nos coatings para os dois materiais utilizados na incorporação.....	57

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância Uni-fatorial (do inglês, <i>One-Way Analysis of Variance</i>)
CS	Cefazolina Sódica
DRX	Difratometria de Raio X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
HDL	Hidroxissal Duplo Lamelar
HSL	Hidroxissal Lamelar
HSL-CS	Hidroxissal Lamelar intercalado com Cefazolina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NTs	Nanotubos
SBF	Simulação do Fluido Corporal (do inglês, <i>Simulated Body Fluid</i>)
TGA	Análise
Termogavimétrica T	Titânio
Ti _{CP}	Titânio Comercialmente Puro
TiO ₂	Dióxido de Titânio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.2 OBJETIVOS	17
1.2.1 Objetivo Principal	17
1.2.2 Objetivos Específicos	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 BIOMATERIAIS	18
2.2 OSSEOINTEGRAÇÃO	19
2.3 DIÓXIDO DE TITÂNIO	21
2.4 ANODIZAÇÃO POTENCIOSTÁTICA	23
2.5 COMPOSTOS LAMELARES	25
2.5.1 Hidroxissais Lamelares.....	26
2.5.2 Hidroxissais Lamelares e Fármacos	28
2.5.3 Coprecipitação e Intercalação	30
2.6 RECOBRIMENTO DO NANOTUBO POR COMPOSTO LAMELAR.....	31
2.7 CEFAZOLINA SÓDICA.....	32
2.8 LIBERAÇÃO DE FÁRMACO	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 SÍNTESE DOS FILMES DE DIÓXIDO DE TITÂNIO	35
3.2 SÍNTESE DO HIDROXISSAL LAMELAR COM O FÁRMACO.....	36
3.3 INCORPORAÇÃO DOS MATERIAIS NO DIÓXIDO DE TITÂNIO	38
3.4 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO	39
3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOMATERIAIS	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
4.1 SÍNTESE DOS FILMES DE DIÓXIDO DE TITÂNIO.....	41
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COATINGS.....	43
4.3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS LAMELARES	45

4.3.1 Caracterização dos materiais por Difractometria de Raios X.....	45
4.3.2 Caracterização dos materiais por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	48
4.3.3 Caracterização dos materiais por Análise Termogravimétrica	51
4.4 INCORPORAÇÃO E LIBERAÇÃO DA CEFAZOLINA SÓDICA.....	54
5 CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

Os biomateriais em geral são definidos como dispositivos constituídos por material sintético ou natural, com o objetivo de otimizar a funcionalização de órgãos ou tecidos. A síntese desses materiais pode ser originada com base em polímeros (sintéticos ou naturais), cerâmicas ou metais (aços inoxidáveis ou Titânio e suas ligas). Estes dispositivos são usualmente empregados em implantes nas áreas de ortopedia e ortodontia, destacando-se os biomateriais elaborados a base de Titânio, em função das propriedades mecânicas oferecidas.

Titânio e suas ligas são priorizados para aplicação em implantes quando a necessidade é a resistência, pois apresentam um bom desempenho mecânico capaz de resistir a fraturas e fadigas. Contudo, o material pode não se adequar ao implante pois o óxido passiva à superfície, resultando em um metal menos ativo ao processo de biocorrosão e, para isto tem-se técnicas de tratamento superficial, como a anodização potencioestática, para possibilitar a otimização das funções dos biomateriais. Nesta técnica, é possível realizar o crescimento do óxido sobre a superfície, conhecido como dióxido de titânio (TiO_2) e obter um material com melhora nos quesitos de molhabilidade e rugosidade.

O dióxido de titânio obtido por meio do método eletroquímico pode resultar em estruturas porosas e/ou tubulares em escala nanométrica, devido às condições utilizadas para síntese, como diferença de potencial, temperatura e composição da solução eletrolítica. Diante dessas características estruturais, os materiais de TiO_2 são estudados como reservatórios de drogas e, neste contexto a utilização de polímeros ou técnicas de incorporação são empregadas a fim de retardar e otimizar a liberação do fármaco.

As utilizações de técnicas para incorporação são essenciais para melhorar as propriedades dos materiais e das drogas em estudo. Os compostos lamelares podem ser aplicados nestes quesitos, pois são passíveis de intercalação, ou seja, a entrada da droga entre as lamelas pode resultar na estabilidade do fármaco, bem como a possibilidade de retardação na liberação.

Os hidroxissais lamelares de zinco são utilizados usualmente como reservatórios de drogas, pois as características estruturais do hidroxissal lamelar (HSL) permite a variação do ânion em sua estrutura. A utilização do composto é possível devido às suas propriedades como baixa toxicidade, biocompatibilidade e

estabilidade química. Além disso, o HSL intercalado com fármaco pode atuar como barreira difusional no recobrimento da superfície do TiO_2 , originando um dispositivo com otimização de compatibilidade com o organismo e liberação controlada da droga.

A compatibilidade é necessária pois o organismo apresenta um ambiente hostil ao implante, visto que a biocompatibilidade é uma característica do titânio, a superfície recoberta com TiO_2 pode auxiliar na proteção à corrosão, principal motivo do desgaste da prótese. Como o organismo humano apresenta agentes agressivos, como saliva e fluido corporal que podem promover a corrosão, é possível estudar o potencial de corrosão dos implantes por meio de procedimentos eletroquímicos com simulação do ambiente agressivo.

No presente trabalho, realizou-se a síntese de materiais a base de titânio por meio da técnica de anodização potencioestática, para o crescimento do óxido superficial nanoestruturado. Paralelamente, realizou-se a síntese do hidroxissal lamelar de zinco intercalado com o ânion proveniente da Cefazolina sódica pelo método de coprecipitação. Posteriormente, os materiais sintetizados foram caracterizados por meio de MEV, FTIR, DRX e TGA e então o hidroxissal foi incorporado à matriz nanotubular e foi investigado o perfil de liberação do fármaco para as diferentes condições de síntese. O intuito foi obter um biomaterial com propriedades otimizadas de biocompatibilidade e baixa taxa de liberação da droga visando a aplicação em dispositivos biomédicos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Principal

O presente trabalho possui como objetivo principal sintetizar e caracterizar filmes de dióxido de titânio (TiO_2) recobertos com Cefazolina Sódica intercalada em hidroxissal lamelar de zinco, a fim de obter um dispositivo de liberação lenta em implantes.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar e caracterizar filmes nanoestruturados de TiO_2 a partir do substrato de titânio comercialmente puro (ASTM F67), utilizando o método de anodização potencioestática com variação do tempo (10 e 30 min);
- Sintetizar e caracterizar o hidroxissal lamelar de zinco intercalado com o ânion proveniente do fármaco Cefazolina sódica;
- Realizar a incorporação da Cefazolina sódica e da mesma intercalada em hidroxissal de zinco sobre os nanotubos;
- Realizar o estudo da cinética de liberação dos biomateriais incorporados;
- Caracterizar os biomateriais híbridos utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR), difração de raios X (DRX) e análise termogravimétrica (TGA).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOMATERIAIS

Desde os séculos passados, os pesquisadores com o conhecimento e utensílios da época buscavam desenvolver materiais com funcionalidade a fim de substituir de formar parcial ou total tecidos do corpo humano. Os registros mais antigos a respeito da utilização de próteses ortopédicas são datados como 4000 a.C., contudo não havia o conhecimento sobre as reações destes materiais quando em contato com o corpo humano, como a rejeição ou infecção, e respostas biológicas do organismo. Com o decorrer do tempo, os estudos foram se aperfeiçoando¹.

No início da década de 80 o médico sueco Per-Ingvar Brånemark em seu estudo a respeito da medula óssea da fíbula do coelho observou uma possível integração de seu equipamento, feito de titânio, com os ossos dos animais. Devido a isso, prosseguiu com uma série de estudos em relação a regeneração óssea. Posteriormente, Brånemark trabalhou com materiais à base de Titânio comercialmente puro (TiCP) e investigou as condições resultantes, como a aceitação do material no organismo, que culminou na descoberta da osseointegração na implantodontia, processo remetente a junção do tecido ósseo remodelado à superfície do implante². Desde então os biomateriais são estudados para a implantação.

A definição de biomaterial consiste em um material natural ou sintético utilizado na produção de estruturas ou implantes, estes em aplicações biomédicas são responsáveis por substituir ou reparar tecidos, órgãos ou funções do corpo. Os biomateriais podem ser desenvolvidos a partir de polímeros, cerâmicas ou metais e, apresentam a finalidade de aplicação em dispositivos biomédicos e de liberação de medicamentos, em órgãos artificiais e/ou implantes³. Além disso, os biomateriais sintetizados a partir de metais (como o Titânio) para a aplicação em implantes ortodônticos e ortopédicos, são priorizados devido as suas características⁴ como biocompatibilidade, resistência a tração e a fadiga, resistência a corrosão em fluidos corporais e baixa toxicidade ao organismo.

Para otimizar as propriedades dos biomateriais a base de Titânio, como a biocompatibilidade são empregados métodos para favorecer o crescimento de um óxido sobre a superfície do metal. Este óxido é responsável por melhorar a

integração entre a estrutura óssea e o implante, resultando na aceitação do mesmo no

organismo. Titânio e suas ligas são oxidadas espontaneamente em contato com o ar, porém este processo pode ser realizado eletroquimicamente em laboratório, com o controle das condições de síntese a fim de obter posteriormente filmes de dióxido de Titânio (TiO_2) com características que propiciam a osseointegração do material com a estrutura óssea do corpo humano.

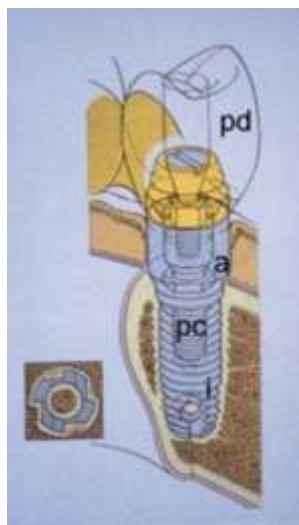
2.2 OSSEOINTEGRAÇÃO

A primeira definição de uma ligação entre um implante e a estrutura óssea foi observado por Branemark e seu grupo de pesquisa, a partir disso o mesmo sugeriu uma definição chamada de osseointegração, que consistia em uma ligação direta com características funcionais e estruturais da estrutura óssea ordenada e viva com o implante que estava sujeito a cargas funcionais². Em sua pesquisa clínica de osso medular na fíbula do coelho, utilizou o método de microscopia vital para inserir uma câmara de titânio que possuía um sistema ótico na fíbula do coelho e, após um tempo não foi possível retirar as câmaras pois haviam se aderido à fíbula.

Posteriormente, foram realizados estudos com microscopia eletrônica de varredura e neste constataram uma camada de lipoproteínas presente entre a superfície do implante e a estrutura óssea. Este estudo resultou na redefinição do conceito de osseointegração, que foi proposto por Zarb e Albrektsson, onde a osseointegração “é o processo de fixação rígida e assintomática de um material aloplástico no osso e mantida durante a função”⁵.

O resultado de alguns anos de estudos e testes foi o desenvolvimento de um implante rosqueado, como representado esquematicamente na Figura 1. Este modelo seria inserido na mandíbula e se ligava à prótese por meio do pilar (i) e o do parafuso central (pc).

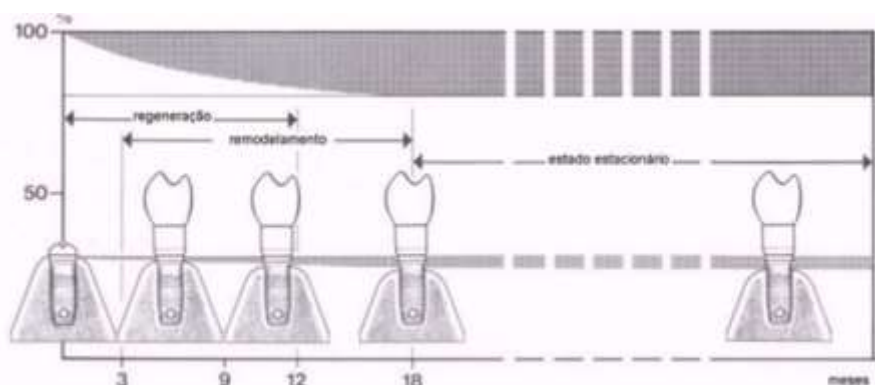
Figura 1. Representação da ancoragem da prótese proposta por Branemark e seu grupo de pesquisa, composta por: implante rosqueado (i); pilar (a); parafuso central (pc); e prótese dentária (pd).



Fonte: Branemark P. I., 1985².

O procedimento cirúrgico proposto foi dividido em duas etapas, inicialmente inseria-se o implante ao osso para que ocorresse a regeneração e remodelagem que variava em um período de três a seis meses. A segunda etapa contava com a inserção da prótese por meio do pilar e do parafuso central. A partir do momento que o implante entra em função, o osso se remodela de acordo com a frequência e magnitude da força empregada. Quando as forças operantes sobre o implante e a capacidade de moldagem do osso atingirem o equilíbrio, atinge-se o estado estacionário que ocorre em geral em um período de dezoito meses. Este processo de remodelagem e regeneração pode ser observado na ilustração da Figura 2.

Figura 2. Representação da relação do implante e da estrutura óssea em função do tempo.



Fonte: Branemark P. I., 1985².

Segundo Branemark (1985) para um resultado satisfatório na osseointegração seis fatores devem ser considerados: a biocompatibilidade, a característica do desenho, a característica de superfície, o estado do leito hospedeiro, o procedimento cirúrgico utilizado e a condição de aplicação das cargas. A biocompatibilidade do implante, ou seja, a aceitação da prótese pela estrutura óssea, a característica do desenho de modo que os implantes rosqueados demonstraram maior adaptação durante anos. Características da superfície, nesta a rugosidade se classificou como facilitadora na fase de adesão celular potencializando a ancoragem. O estado do leito hospedeiro, este fator corresponde à qualidade da estrutura óssea que irá receber o implante, caso não se apresente saudável um enxerto deve ser realizado. O procedimento cirúrgico utilizado, pois o sobreaquecimento e um torque elevado podem influenciar na regeneração do osso. E por fim, a condição de aplicação das cargas, este tópico corresponde ao tempo de espera para inserção da prótese após realização do implante².

Em estudos recentes, pesquisadores investigaram as condições de superfície e a topografia, bem como sua influência no processo de osseointegração. Estas condições estão correlacionadas com a fixação do implante à estrutura óssea. Após realizar a implantação do material o fluido corporal composto por variadas proteínas irá reagir com a superfície do implante, resultando em uma interação devido produção de parte da matriz óssea realizada pelos osteoblastos. Deste modo, a propagação das células osteoblásticas é classificada como uma etapa inicial para a adesão celular^{6,7}.

A matriz óssea possui porosidade e, para garantir uma aceitação do implante no organismo a superfície do mesmo pode ser modificada quimicamente, resultando em uma otimização na etapa de adesão celular, pois as estruturas da superfície do material e da estrutura óssea são semelhantes. Como material base para modificação da superfície e posterior procedimento cirúrgico para implantação tem-se o titânio e suas ligas, em função das propriedades oferecidas.

2.3 DIÓXIDO DE TITÂNIO

Titânio ASTM F67 (Ti_{CP}) é caracterizado como um metal de transição, possui características como massa específica (4,507 g cm⁻³), alto ponto de fusão (1670 °C), resistência a corrosão e mecânica, entre outras, em decorrência disso o

Ti_{CP} apresenta diversas aplicações na indústria e, principalmente na área biomédica^{8,9} com aplicação em implantes.

Em temperatura ambiente o titânio possui uma estrutura hexagonal compacta estando representada na fase alfa, sob atuação de uma elevada temperatura ($\cong 882$ °C) a estrutura passa para a fase beta (cúbico de corpo centrado)¹⁰. Contudo a forma mais estável é o íon Ti⁴⁺ e, o processo de oxidação do metal quando em contato com o ar é espontâneo, de modo que a formação do óxido sobre a superfície é denominada como óxido nativo, comumente chamada de Dióxido de Titânio (TiO₂).

O crescimento de óxido anódico ocorre sobre o plano, sendo considerado como uma barreira na superfície, para metais como Ti, Ta, Nb, Zr, W e Hf e suas ligas. É possível realizar o crescimento de um óxido anódico espesso controlando condições como tensão e eletrólito adequado¹¹. O interesse neste método está em reduzir a troca iônica (metal/eletrólito), melhorando a resistência ao ataque químico, conhecido como corrosão do metal.

Contudo, para a síntese de TiO₂ algumas condições difusionais devem ser consideradas, como a composição da solução eletrolítica, a diferença de potencial e a temperatura, por meio destas é possível obter nanoestruturas conhecidas como nanotubos, que se caracterizam por uma estrutura com dimensões nanométricas e uma arquitetura porosa/tubular altamente organizada¹². Além disso, as condições influenciam no comprimento e espessura dos nanotubos crescidos sobre a superfície.

Para o sucesso de implantes ortodônticos ou ortopédicos a adesão do mesmo com as células corporais é de extrema importância. Diante disso, a adesão celular é influenciada por propriedades de superfície aliadas à distribuição da carga e a química da superfície do material, além disso, a rugosidade superficial pode influenciar no óxido formado. Em função disto, os nanotubos de TiO₂ atuam como uma barreira de proteção e devido à similaridade com a estrutura óssea auxiliam na osseointegração e na ancoragem óssea, além da capacidade de contribuir na adesão celular. Contudo, a arquitetura e a disposição dos nanotubos de TiO₂ podem provocar a proliferação de bactérias sobre a superfície do implante induzindo a rejeição do biomaterial¹³. Métodos para a modificação ou recobrimento da superfície^{14,15} são estudados a fim de solucionar tal efeito.

A região superficial do material possui uma função importante na resposta biológica do organismo. Para auxiliar na funcionalização, bioatividade, estabilidade e

na velocidade de osseointegração dos implantes ósseos pode-se realizar o tratamento da superfície do material¹⁶.

Com a realização do tratamento superficial adequado é possível a obtenção de um revestimento estável, promovendo uma melhora na interação celular quando comparada com a superfície polida convencional^{4,17}. Para a síntese dos “coatings” nanométricos utilizou-se de métodos eletroquímicos¹⁴, devido as suas vantagens, como baixo custo e alta organização do material preparado. O método usualmente empregado é a anodização potencioestática.

2.4 ANODIZAÇÃO POTENCIOSTÁTICA

As propriedades superficiais dos materiais podem oferecer uma otimização no processo de implantação no organismo. Com o objetivo de produzir um material com propriedades desejáveis em função das condições utilizadas em sua síntese, pode-se utilizar alguns métodos eletroquímicos.

Dentre as técnicas propostas para o tratamento superficial, a anodização potencioestática¹⁸ é um método comumente utilizado na síntese dos materiais a base de titânio, sendo responsável por formar revestimentos capazes de simular a matriz óssea humana. Utilizando-se o processo eletroquímico pode-se controlar o crescimento e a espessura dos coatings, influenciando tanto a morfologia, como a estrutura cristalina e até mesmo as propriedades mecânicas. O diâmetro, a espessura e a taxa de crescimento dos nanotubos podem variar com alguns parâmetros de síntese, tais como: o potencial aplicado, a temperatura e a composição da solução eletrolítica. Sendo assim, as variáveis experimentais podem definir a organização estrutural dos nanotubos.

Dale et al., (2009)¹⁹ estudaram o crescimento eletroquímico de TiO_2 e a influência da variação do potencial aplicado (10, 20, 25 e 30 V) em uma solução contendo fluoreto. Os resultados mostraram que o potencial aplicado altera o diâmetro dos nanotubos. Em concordância com este resultado Sopha et al., (2015)²⁰ observaram que o diâmetro e a espessura dos nanotubos aumentaram de forma linear ao aumento do potencial aplicado.

A superfície do metal antes do crescimento do óxido pode apresentar rugosidade ou alterações na superfície e, desfavorecer a organização do óxido a ser gerado sobre a estrutura¹¹. Nesse sentido, os substratos metálicos devem ser

submetidos a um tratamento superficial com polimento ou eletropolimento previamente ao processo de anodização. O crescimento eletroquímico pode resultar em estruturas nanométricas com arquiteturas tubulares/porosas e, embora essas características propiciem à osseointegração quando implantadas, elas podem também facilitar o desenvolvimento de microrganismos⁹. A fim de otimizar a presença do óxido crescido sobre a superfície do metal, bem como prevenir o possível desenvolvimento de microrganismos algumas estratégias são estudadas e podem ser utilizadas.

Atualmente os biomateriais de TiO₂ são avaliados como materiais que detêm potencial para atuarem como reservatório de drogas em implantes ortodônticos ou ortopédicos, com ou sem a associação de polímeros. Algumas pesquisas relatam o uso de polímeros isolados ou blendas como recobrimento do implante texturizado, como uma barreira difusional para a droga incorporada²¹. Em ambos, o intuito é obter um dispositivo com liberação lenta.

Muitos métodos são estudados atualmente a fim de obter um material com liberação lenta da droga, pois a liberação ocorre geralmente nos minutos iniciais e, em quantidades elevadas. Hashemi et al., (2020)⁶ estudaram o efeito do polímero quitosana em nanotubos de TiO₂ para a liberação da droga metformina, os resultados demonstraram que sem o recobrimento do polímero a droga foi liberada em aproximadamente 6 horas, já para as amostras recobertas com 15 camadas do polímero a liberação prolongou-se por um período de aproximadamente 21 dias.

Para atender essa demanda, diferentes métodos podem ser utilizados, sendo a variação de polímeros ou de técnicas para a incorporação do fármaco nos nanotubos, os mais investigados. Neste trabalho, utiliza-se um composto lamelar (hidroxissal lamelar) como reservatório da droga para posterior incorporação em nanotubos de dióxido de Titânio, uma técnica até então inédita na literatura. O hidroxissal lamelar foi escolhido para atuar como barreira difusional em virtude da capacidade de incorporação de drogas entre suas lamelas, que pode resultar em uma liberação lenta ou retardada.

2.5 COMPOSTOS LAMELARES

Compostos lamelares são unidades de sólidos bidimensionais, constituídos na forma de camadas ou lamelas sustentadas por forças intermoleculares²², devido a variação das forças intra e inter lamelares²³. No local onde interações fracas entre lamelas são observadas denomina-se região interlamelar, de modo que lamelas neutras são ligadas por forças van der Waals e as carregadas por forças eletrostática^{24,25}.

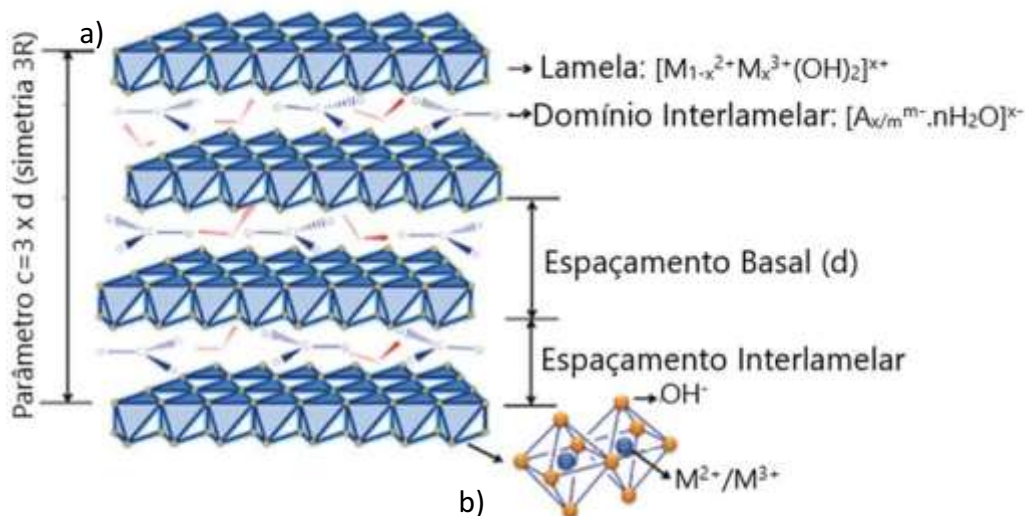
Os compostos lamelares, como argilominerais, grafite, hidróxidos de metais de transição, hidroxissais lamelares e hidróxidos duplos lamelares, são suscetíveis a intercalação^{25,26}. Dentre os compostos inorgânicos com propriedades cristalinas existentes, os argilominerais se destacam devido às características químicas, como a troca iônica²⁷. A intercalação é um processo que viabiliza a entrada de espécies hóspedes (átomos, macromoléculas, cátions, ânions e moléculas neutras) na rede hospedeira cristalina e, esta deve possuir sítios livres (\square) que estejam aptas a receber e alojar a hóspede, tal reação pode ser descrita conforme a Equação 1^{26,28}. Além disso, concomitantemente com a intercalação tem-se a expansão ou a contração da distância basal, a fim de alocar a espécie a ser intercalada no composto lamelar.



Como demonstrado na Equação 1, em geral as reações de intercalação são processos reversíveis e, se conservarem a integridade estrutural da rede hospedeira cristalina, podem ser denominados também como topotático²⁶.

A distância entre os baricentros de duas lamelas dispostas de forma adjacente é denominada como espaçamento basal (como demarcado na Figura 3), deste modo ao subtrair a espessura da lamela é possível obter o espaçamento interlamelar do composto, como representado na Figura 3.

Figura 3. Representação da estrutura do composto duplo lamelar com suas respectivas denominações. a) lamelas empilhadas e b) octaedros que formam a lamela.



Fonte: Cunha, V. et al, 2010²⁹.

Na Figura 3 tem-se a fórmula geral de um hidroxissal duplo lamelar, onde M representa o íon metálico e A o ânion interlamelar. Este composto é derivado da brucita $Mg(OH)_2$, como pode ser observado em 3- b) os cátions (neste caso de magnésio) estão localizados ao centro do octaedro e seus vértices são compostos por ânions hidroxilas (OH^{-}). Se o cátion M^{2+} for substituído por um cátion M^{3+} , ou seja, de um divalente para um trivalente, a lamela se apresentará com uma carga residual positiva. Para atingir o equilíbrio entre as cargas é necessário a presença de um ânion entre as lamelas em conjunto com as moléculas de água, propiciando o empilhamento do composto lamelar e mantendo as lamelas juntas devido as forças eletrostáticas²⁹.

Os compostos lamelares com estruturas mais complexas são os hidróxidos duplos lamelares (HDLs) e os hidroxissais lamelares (HSLs), ambos são modificações da estrutura da brucita ($Mg(OH)_2$), além deste tem-se estruturas baseadas na gibbsita, bayerita, doyleite (são variações do $Al(OH)_3$). O método para obter estes compostos é escolhido com base no material desejado, dentre eles tem-se a co-precipitação^{30,31}, método sol-gel, síntese hidrotermais entre outros.

2.5.1 Hidroxissais Lamelares

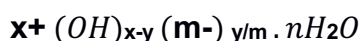
Os hidroxissais lamelares (HSLs) apresentam uma grande variedade de possíveis aplicações, por exemplo, utilização como catalisadores e fotocatalisadores,

percursores de nanocompósitos, suporte para nanopartículas metálicas³², trocadores aniônicos^{25,26} entre outros.

A estrutura do mineral brucita ($Mg(OH)_2$) possui octaedros levemente distorcidos, com cátions de magnésio (Mg^{2+}) centralizados e coordenados a grupamentos hidroxilas em seus vértices. Cada Mg^{2+} se coordena a seis grupamentos hidroxilas e, cada cátion aporta +1/3 de carga em cada hidroxila, bem como cada hidroxila se coordena a três cátions Mg^{2+} e aporta -1/3 de carga em cada cátion. Estes octaedros são ligados por suas arestas originando lamelas neutras, devido ao equilíbrio entre as cargas³³⁻³⁵ dos cátions e ânions.

Embora as estruturas dos HDLs e HSLs apresentem modificações da brucita, a variação entre os hidroxissais é distinta. Para os HDLs ocorre a substituição isomórfica de cátions divalentes na estrutura da brucita por cátions trivalentes, gerando carga positiva nas lamelas que pode ser neutralizada pela intercalação de ânions entre elas. Devido a possível variação das proporções de íons entre as lamelas tem-se uma gama variedade de materiais formados³⁰.

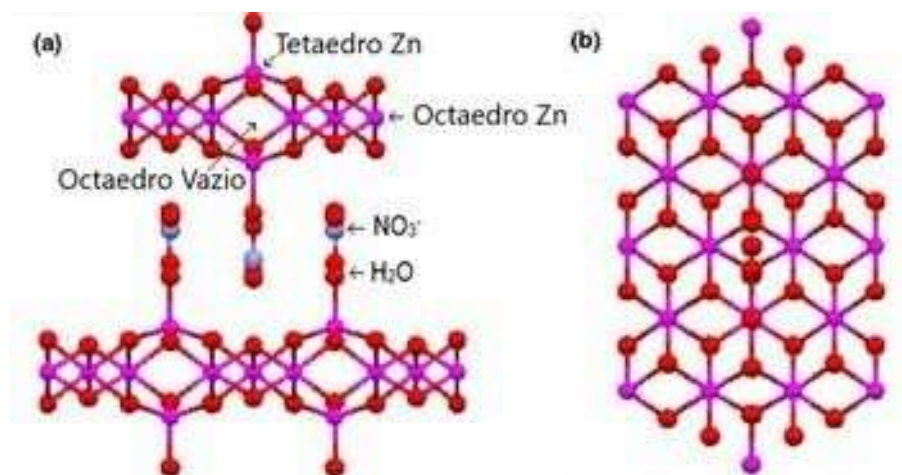
Por outro lado, os HSLs são passíveis da substituição dos sítios pertencentes as hidroxilas por ânions ou moléculas de água, contudo é necessário a presença de contra-íons na segunda esfera de coordenação para estabilizar as cargas das lamelas^{25,34}. A fórmula geral que representa um hidroxissal lamelar é apresentada na Fórmula 1.



Fórmula 1

Onde o símbolo M^{x+} representa o cátion metálico, como Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} e a letra B representa o ânion com carga m-, chamado de contra-íon como os sulfatos (SO_4^{2-}) e nitratos (NO_3^-). De forma dinâmica, a representação da estrutura pode ser observada na Figura 4.

Figura 4. Representação da estrutura do Hidroxissal Lamelar: a) vista lateral e b) vista superior da lamela.



Fonte: Arizaga et al., 2007²⁵.

Devido a estas características estruturais, são diversos os ânions disponíveis a serem intercalados entre as lamelas do HSL, variando de sistemas simples a compostos nutricionais/farmacêuticos ativos^{36,37}. O produto originado da intercalação, pode apresentar características otimizadas, por exemplo a liberação lenta de drogas.

Para a aplicação dos HSL na área alimentícia³⁸ ou farmacêutica³⁷, dentre outras, algumas propriedades devem ser consideradas, como as características físico-químicas, a baixa toxicidade, elevada biocompatibilidade e facilidade de custo e obtenção^{39,40}.

2.5.2 Hidroxissais Lamelares e Fármacos

Devido à baixa taxa de transporte de medicamentos convencionais em função da rápida liberação do fármaco, degradação enzimática e utilização de altas doses para suprir as necessidades, novos transportadores estão sendo estudados e desenvolvidos^{41,42}. Dentre eles, os materiais lamelares foram estudados nos últimos anos como hospedeiros em sistemas de acomodação de fármacos⁴³ ou biomoléculas⁴⁴ intercaladas.

Os hidroxissais lamelares de zinco demonstraram características importantes na liberação de compostos farmacêuticos, atuando com a liberação

lenta⁴⁵, apresentando tamanho controlado da partícula, e a boa biocompatibilidade⁴⁶ do material.

Em concordância com as pesquisas, compostos lamelares (HDLs e HSLs) se mostraram promissores na intercalação com fármacos. Li et al., (2004) intercalaram o anti-inflamatório fenbufen pelo método de coprecipitação em atmosfera de nitrogênio, os resultados indicaram que o aumento da distância basal foi proporcional ao aumento do pH, bem como uma liberação lenta do fármaco presente entre as lamelas⁴⁷.

Khan et al., (2009) realizaram a intercalação com fármacos, agroquímicos, vitaminas, fragâncias, tartrazina e tiosulfato, o método utilizado majoritariamente foi a troca iônica onde temperatura, solvente e os hóspedes (citados) foram variados a fim de obter as condições ideais para cada intercalação. Os resultados indicaram que compostos lamelares intercalados com agroquímicos resultam na remoção de poluentes ânionicos, que a liberação dos fármacos e vitaminas ocorre de modo favorável durante alguns dias e, em contrapartida para os demais hóspedes estudados necessitariam de semanas para liberação. Além disso, o estudo destacou que as taxas de liberação podem variar de acordo com o hospedeiro⁴⁸.

Barahuie et al., (2014)⁴⁴ estudou a incorporação de fármacos variados em hidroxissais lamelares por técnicas distintas, entre os fármacos está o fenbufen e ciprofloxacino (antibiótico). Os resultados obtidos para o fenbufen demonstraram o aumento da solubilidade e da estabilidade térmica, bem como uma liberação lenta. Para o ciprofloxacino obteve-se uma leve melhora na estabilidade.

Ryu et al., (2010)³¹ realizou a intercalação do antibiótico Cefazolina em hidróxidos duplos lamelares utilizando método de troca iônica, a fim de obter um nanohíbrido de liberação lenta. Os resultados comprovaram a intercalação do fármaco entre as lamelas e as análises demonstraram a estabilidade das moléculas do fármaco no HDL, em função das interações eletrostáticas. Além disso, o aumento da atividade antimicrobiana foi alcançado em decorrência da liberação controlada.

A intercalação de compostos lamelares com fármacos, vêm demonstrando resultados interessantes, destacando-se a liberação lenta do fármaco que atua como hóspede na matriz lamelar. Ademais, analisando características como a baixa toxicidade, biocompatibilidade, a estabilidade química e o baixo custo de produção observa-se que a utilização de materiais intercalados é uma alternativa acessível.

2.5.3 Coprecipitação e Intercalação

Diversos métodos para sintetizar um hidroxissal são encontrados atualmente, como a troca iônica^{27,49}, hidrotermal, hidrólise de ureia, hidrólise de sais e óxido, reconstrução, precipitação e coprecipitação⁴⁰. Dentre as metodologias citadas, destaca-se a coprecipitação química, que pode ser realizada sob duas condições: pH constante e pH variável. Além disso, o método possibilita o controle do tamanho das partículas durante a síntese, deste modo tem-se uma técnica simples, com baixo custo e alto rendimento⁴⁰.

O método de coprecipitação por pH variável, consiste na adição de uma solução com o ânion a ser intercalado em um recipiente com a solução dos sais dos cátions (di e trivalentes) precursores, concomitantemente adiciona-se gota a gota uma solução para ajustar o pH⁵⁰. Em contrapartida o método sob pH constante é realizado com a adição simultânea gradual das soluções de sais de cátions e do ânion a ser intercalado, adiciona-se também uma solução básica a fim de manter o pH constante⁵¹. Com o controle do pH ajustado, ocorre a coprecipitação dos sais de cátions com as lamelas semelhante à da brucita e, posteriormente a solvatação dos ânions entre as lamelas⁵⁰.

A coprecipitação é realizada sob agitação constante, o tempo varia conforme o ânion a ser intercalado e a temperatura ambiente⁵². O precipitado é filtrado e/ou centrifugado, posteriormente é lavado com água deionizada para remoção dos resíduos e seco geralmente a 60 °C⁵³.

Estudos demonstram que as intercalações de moléculas biológicas foram satisfatórias, entre eles fármacos anti-inflamatórios que apresentaram diferentes formas da liberação. A utilização do fármaco em excesso na síntese por coprecipitação em compostos lamelares resulta majoritariamente na intercalação do mesmo. Além do mais, a intercalação não diminui o efeito do fármaco sendo possível obter material com controle de liberação⁵⁴.

Contudo, para a eficiência da coprecipitação e da intercalação devidos parâmetros devem ser considerados, dentre eles a procedência dos sais dos cátions e dos ânions a serem intercalados, a temperatura em que a síntese deve ser realizada e, o pH ideal que será determinado em função dos cátions e ânions utilizados^{25,55}.

2.6 RECOBRIMENTO DO NANOTUBO POR COMPOSTO LAMELAR

Os materiais com escala nanométrica e porosa possuem potencial aplicação em implantes ortodônticos e ortopédicos, devido a sua similaridade com a estrutura óssea humana⁵⁶, bem como alterações químicas responsáveis por estimular a osseointegração⁵⁷.

A utilização de nanotubos de dióxido de titânio (TiO₂), de carbono, dentre outros, atrai interesse no meio científico devido a suas particularidades⁵⁸, como a área de superfície específica, sendo possível melhorar essas propriedades pelo controle da morfologia durante a síntese do filme.

Além disso, diversos estudos demonstraram a utilização de polímeros para aplicação biomédica, a fim de controlarem infecções ou atuarem como barreira difusional para fármacos⁵⁸⁻⁶². Polímeros bioativos como quitosana e ácido hialurônico⁶² são comumente empregados, devido as suas propriedades como biocompatibilidade, ação antimicrobiana e o estímulo da proliferação celular⁶³.

Diante disso, a intercalação de compostos farmacêuticos às matrizes lamelares é uma alternativa para possível liberação lenta, pois pode atuar como barreira difusional ao recobrir um nanomaterial, como nanotubos de dióxido de titânio.

Serafim et al., (2009)⁶⁴ avaliaram o potencial de liberação de um nutriente em nanocompósito carregado com argilominerías e, relataram que a adição do argilomineral favoreceu a liberação retardada do nutriente.

Nanotubos de carbono e hidroxissais duplos lamelares apresentam boas qualidades para aplicações, a junção destes materiais, originando um material híbrido, é possível devido as interações das cargas negativas dos materiais de carbono e das cargas positivas dos HDL. Zhao et al., (2012)⁶⁵ descreveram alguns métodos para a formação do material híbrido, por meio de uma mistura direta e a dispersão do hidroxissal duplo lamelar destacado como método simples. Outra alternativa foi a deposição de finas camadas em etapas, pelo método “layer-by-layer” que propicia a arquitetura nanométrica e definida, bem como, o controle da composição química. Além disso, o método de coprecipitação também pode ser utilizado por meio da precipitação do material de carbono e do HDL, neste pode ocorrer uma intercalação ou uma adsorção dos materiais, onde no caso da adsorção HDL é crescido vertical ou paralelamente sobre o material de carbono.

O método de adsorção foi utilizado em uma mistura do HDL e da enzima na superfície do eletrodo a fim de produzir um material híbrido (eletrodo modificado – HDL/enzima)^{66,67}. Para a realização desta adsorção utilizou-se da técnica de evaporação por solvente, onde uma suspensão do HDL ou da mistura do HDL com a enzima foi produzida e, em seguida depositada no eletrodo para posterior secagem a temperatura ambiente⁶⁸.

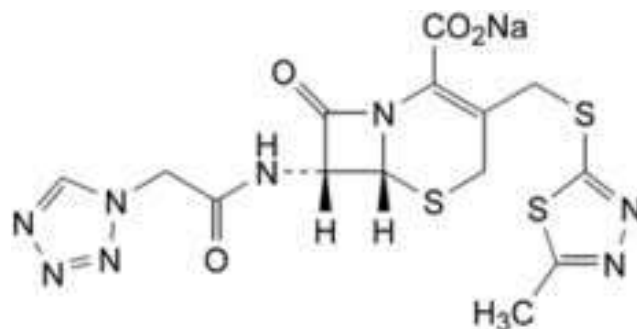
Devido as semelhanças entre os compostos lamelares HDL e HSL, bem como a possível intercalação de fármacos entre as lamelas, as técnicas citadas podem ser estudadas a fim de obter um material híbrido composto por nanotubos de dióxido de titânio com hidroxissais lamelares intercalados com ânion proveniente Cefazolina sódica, com o intuito de produzir um dispositivo para implantação com liberação lenta.

2.7 CEFAZOLINA SÓDICA

Segundo a ANVISA as cefalosporinas são antimicrobianos β -lactâmicos de amplo espectro e caracterizadas em gerações de acordo com sua função antimicrobiana (atuação frente a gram-positivas ou gram-negativas) e suas características farmacodinâmicas e cinéticas. A primeira geração das cefalosporinas foram sintetizadas por meio da modificação da cadeia lateral RI presente na cefalosporina básica. Esta geração é ativa contra bactérias gram-positivas e atividade moderada contra gram-negativas, além disso a geração engloba os antibióticos Cefalotina, Cefalexina, Cefradoxila e Cefazolina⁶⁹.

A Cefazolina sódica é utilizada em função da sua eficácia terapêutica e, é administrada por meio de solução injetável devido a não absorção por via oral. É um fármaco de uso controlado empregado na profilaxia perioperatória (pré, intra e pós-operatório). A estrutura molecular da Cefazolina Sódica pode ser observada na Figura 5⁷.

Figura 5. Estrutura Molecular da Cefazolina Sódica (CAS 27164-46-1).



Fonte: Pedroso M. T., 2013⁷.

Em geral, as células bacterianas apresentam em sua estrutura a parede celular, estas ficam localizadas na área externa à membrana plasmática e possuem como objetivo garantir a proteção desta célula. Para o efetivo crescimento e desenvolvimento do microrganismo é de extrema importância a integridade da parede celular. A Cefazolina Sódica possui como mecanismo de ação a inibição da biossíntese da proteína, que é responsável pela força e rigidez da parede celular, agindo de forma letal ao microrganismo⁷.

Dentre as características físico-químicas do fármaco, pode-se destacar seu pH variante em 6,0-6,5, o comprimento de onda de máxima absorção em 270nm e sua solubilidade em água é de 50 mg mL⁻¹. Estas características são interessantes para a intercalação com o composto lamelar, visto que a síntese possui condições semelhantes.

O fármaco apresenta uma atuação favorável frente a um microrganismo bacteriano, projetando sua possível utilização em implantes locais na estrutura óssea. Além disso, com o auxílio de devidas técnicas de incorporação o fármaco pode executar sua função de inibir o microrganismo por meio de uma liberação lenta no local implantado.

2.8 LIBERAÇÃO DE FÁRMACO

A abordagem de sistemas para liberação lenta de drogas, bem como o estudo da cinética de liberação⁷⁰, ganhou atenção dos pesquisadores nas últimas décadas. Além disso, a arquitetura organizada dos nanotubos de dióxido de titânio,

bem como a variação em sua espessura^{71,72}, propõe sua utilização na entrega de drogas.

Há uma grande gama de medicamentos utilizados em sistemas de liberação lenta, como anti-inflamatórios e antibióticos. A utilização terapêutica convencional sugere que as administrações de medicamentos devem ser injetadas ou ingeridas, porém em muitos casos isso resulta em efeitos colaterais, como a nefrotoxicidade⁷⁴ devido ao longo período de uso dos medicamentos (semanas a meses). Diante disso, a distribuição da droga no local do implante se mostra uma alternativa promissora^{75,76} devido as propriedades oferecidas, como diminuição de efeitos colaterais e do tempo de hospitalização, promoção de concentrações elevadas da droga no local, redução da presença da mesma na circulação sanguínea sistêmica, entre outros, desta maneira a utilização da liberação local da droga pode otimizar o processo de cura.

A cinética de liberação de nanoestruturas porosas quando em contato com a fisiologia do organismo é guiada por meio do mecanismo de difusão, este que controla a transferência de massa das moléculas da droga dos nanotubos⁷⁷. Certas condições podem influenciar este processo de cinética, destacando-se a interação interfacial do fármaco com a superfície do implante, o coeficiente de difusão, a taxa de dissolução, o pH, entre outros.

Estudos indicam que a liberação de ordem zero é desejável, pois nesta a taxa de liberação do fármaco permanece constante (sem variação na concentração no organismo), característica de sua estabilidade na dosagem. Esta ordem de liberação se aproxima de uma situação ideal⁷⁸, em que a liberação é constante e uniforme independente da concentração e do tempo.

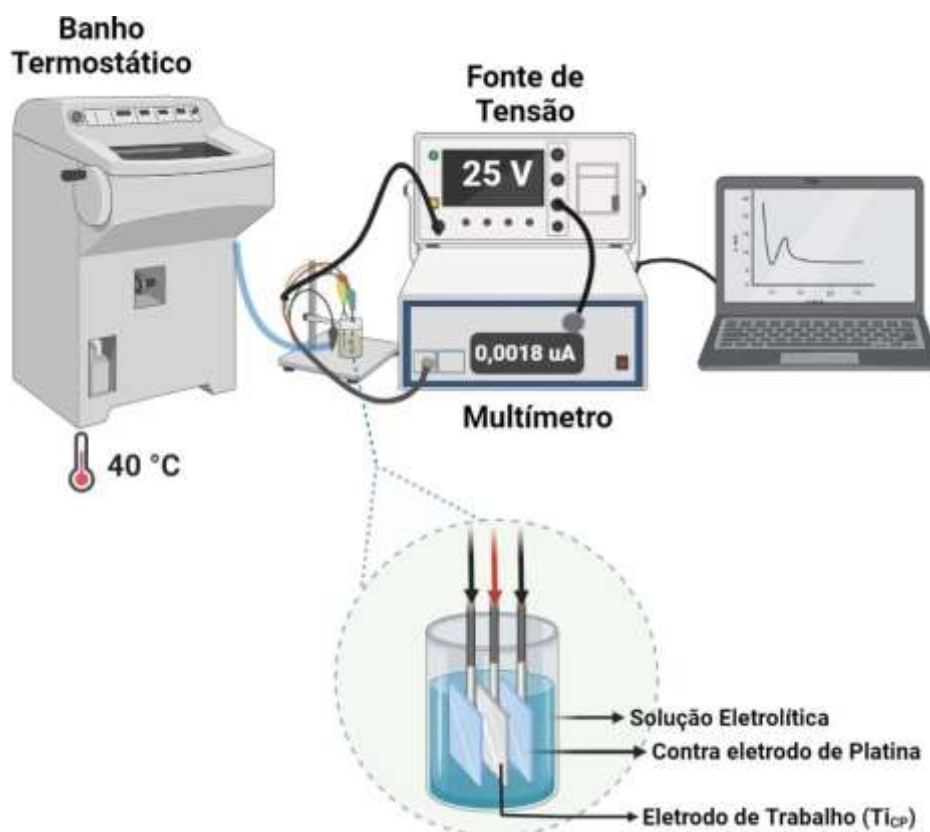
3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SÍNTESE DOS FILMES DE DIÓXIDO DE TITÂNIO

Amostras de Ti_{CP} (ASTM F67) com uma área exposta de aproximadamente $2,0\text{ cm}^2$ foram utilizadas como substratos na síntese de coatings nanoestruturados de TiO_2 , crescidos por meio da anodização potenciostática, na Figura 6 tem-se a representação da técnica. Previamente à anodização potenciostática os substratos metálicos (Ti) foram ser polidos com uma lixa decarbeto de silício (1200 mesh), a fim de remover a fina camada de óxido natural denominado como óxido nativo, formado sobre a superfície, em seguida lavou-se as amostras com água ultrapura (Milli-Q).

A metodologia para anodização potenciostática é uma adaptação de Simon et al., (2019)⁷⁹. Em um reator eletroquímico, adicionou-se 50 mL de uma solução organo-aquosa composta por 9,5% v/v H_2O , 0,5% v/v SBF (Simulated Body Fluid) e 0,75% m/m de fluoreto de amônio (NH_4F) em etilenoglicol. A solução conhecida como SBF, foi utilizada para simular a composição sanguínea do plasma humano, de acordo com a metodologia proposta por Kokubo et al., (1991)⁸⁰. No reator foi empregado um par de contra eletrodo de platina dispostos simetricamente e em paralelo ao eletrodo de trabalho (Ti_{CP}), bem como a aplicação de uma diferença de potencial de 25 V. Um banho termostático foi utilizado para o controle da temperatura em $40\text{ }^\circ\text{C}$, e um multímetro para a aquisição das curvas do crescimento do óxido. Para realização do crescimento do óxido sobre a superfície do Ti_{CP} , algumas condições foram mantidas constantes, como a concentração da solução, temperatura e a tensão aplicada. No presente trabalho, variou-se o tempo de anodização (10 e 30 minutos), valores determinados a partir de resultados anteriores do grupo de pesquisa.

Figura 6. Representação do sistema utilizado para a síntese de TiO₂.



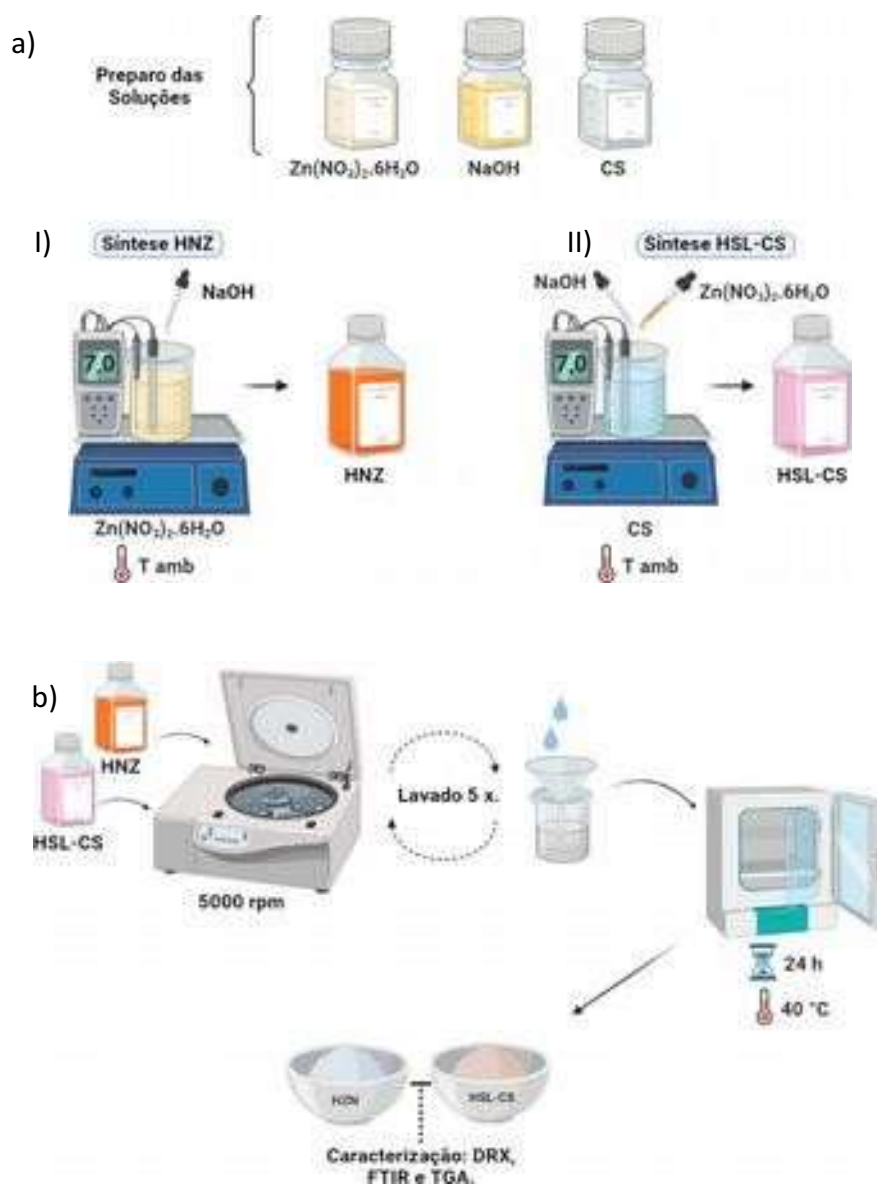
Fonte: Criado com Biorender, 2022.

3.2 SÍNTESE DO HIDROXISSAL LAMELAR COM O FÁRMACO

A metodologia da síntese dos compostos de interesse foi adaptada de Marangoni et al., (2009)⁸¹ e de Liu e Zhang (2016)⁸². O hidroxinitrato de zinco puro (HZN) foi sintetizado por precipitação alcalina e, atuou como material de controle para o composto intercalado. Para o HZN uma solução de 0,5 mol L⁻¹ contendo o salnitrato de zinco hexahidratado {Zn(NO₃)₂.6H₂O} foi utilizada, com temperatura ambiente e a agitação constante durante todo o experimento. Uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de 1,0 mol L⁻¹ foi gotejada até alcançar um pH 6,8 por meio do monitoramento com um pHmetro, como representado na Figura 7-a-I . O resultado da reação é a obtenção um sólido branco, que foi centrifugado a 5000 rpm e em seguida lavado (5x) com água destilada e levado a estufa (40 °C) durante 24 h para secagem (Figura 7-b).

A síntese do composto intercalado realizou-se pelo método de coprecipitação, este consiste na adição de 0,026 mol de nitrato de zinco hexahidratado $\{Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O\}$ e uma solução 1 mol L⁻¹ de hidróxido de sódio (NaOH) simultaneamente à solução de 0,021 mol L⁻¹ do ânion de interesse (Cefazolinásódica) mantendo a agitação constante e o monitoramento do pH até 7 (com uso do pHmetro) durante todo o experimento, como pode ser observado na Figura 7-a-II. Posteriormente, o material obtido foi centrifugado a 5000 rpm e lavado repetidamente (5x) com água destilada e em seguida levado a estufa a 40 °C durante 24 h para a evaporação da água (Figura 7-b).

Figura 7. Representação do procedimento para a síntese do HNZ e do HSL-CS.



3.3 INCORPORAÇÃO DOS MATERIAIS NO DIÓXIDO DE TITÂNIO

Para a incorporação dos compostos (HSL-CS e CS) sobre os nanotubos de TiO_2 utilizou-se do método de imersão com posterior evaporação do solvente com adaptação das metodologias propostas por Mousty e Prévot (2013)⁶⁸ e por Ionita et al., (2017)⁸³. Para a incorporação do HSL-CS, preparou-se uma suspensão do sólido obtido (hidroxissal intercalado com o fármaco) em quantidade equivalente a 0,02 mol de Cefazolina em água e, em seguida inseriu-se cada filme (TiO_2) previamente identificado em 50 mL da solução. Em contrapartida, para a incorporação do fármaco puro (CS) foi diluído em água 0,02 mol e inseriu-se cada filme identificado em 50 mL da solução. Tanto para a incorporação do HSL-CS como da CS os nanotubos permaneceram em imersão em suas respectivas soluções durante 24 h com agitação constante a 100 rpm para garantir a interação superfície/solução. Posteriormente foram inseridos em estufa a 40 °C para a evaporação da água, como pode ser observado na Figura 8.

Todo o procedimento foi realizado com proteção da luz, utilizando de papel alumínio envolvido em todos os recipientes que possuíam a solução com o fármaco e em seguida o material finalizado para o ensaio de liberação, devido à sensibilidade do fármaco. A temperatura de evaporação não danificara a droga, pois a sua degradação inicia em 172 °C⁷.

Figura 8. Representação do processo de incorporação do HSL-CS e CS.



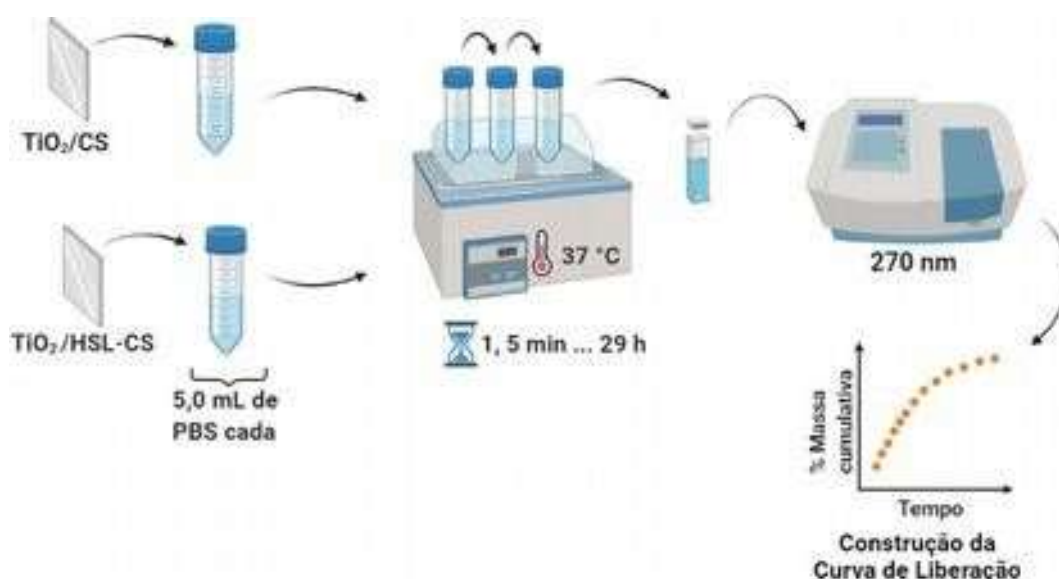
3.4 ENSAIO DE LIBERAÇÃO DO FÁRMACO

As metodologias para o ensaio de liberação foram adaptadas de Latip et al., (2013)³⁹ e Campos, P. P. (2018)⁸⁴. O ensaio de liberação do fármaco da estrutura lamelar foi realizado em tubos falcons com 5 mL de solução tampão fosfato (PBS), em pH de 7,4 e dispostos sequencialmente, os materiais imersos são transportados para o próximo tubo com os tempos determinados a uma temperatura de 37 °C. O monitoramento da liberação da droga com o transporte das amostras de tubo em tubo seguiu nos seguintes intervalos de tempo de 1, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e 2, 4, 6, 19, 23 e 29 horas. Cada tubo falcon recebeu a devida identificação de acordo com o tempo de retirada do material.

A concentração da Cefazolina sódica foi calculada por meio da curva de calibração do fármaco solubilizado no PBS. Para a quantificação da liberação da droga utilizou-se da espectroscopia UV-Vis, no comprimento de onda de 270 nm, referente ao máximo de absorbância da Cefazolina sódica⁷.

A porcentagem em massa foi calculada por meio da quantidade de Cefazolina sódica liberada em PBS, dividida pela quantidade total do fármaco incorporado. A partir desta, a curva de massa cumulativa de fármaco liberado em função do tempo foi construída e investigada.

Figura 9. Representação do procedimento realizado no ensaio de liberação dos materiais.



Fonte: Criado com Biorender, 2022.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOMATERIAIS

A morfologia das amostras de TiO₂NT e HSL-CS/TiO₂NT foram analisadas pela Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com ampliações variando de 50.000 a 100.000 x. Posteriormente, para as amostras de TiO₂NT foram realizadas as análises quantitativas das micrografias com software ImageJ, para a determinação do diâmetro interno das possíveis nanoestruturas presentes na superfície do material.

Para a caracterização dos hidroxissais lamelares obtidos realizou-se as análises de difratometria de raios X (DRX), espectroscopia vibracional na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica (TGA). A análise de DRX foi realizada a fim de definir as fases cristalinas dos compostos lamelares, bem como possibilitar o cálculo da distância basal. Para isto, empregou-se o equipamento disposto no Laboratório Interdisciplinar de Ciências Físicas na Universidade Federal da Integração Latino-Americana de Foz do Iguaçu, onde os parâmetros utilizados do difratômetro (PANalytical – Empyrean) foram com fonte de radiação de CuK α = 1,5418 Å, tensão de 40 kV e corrente de 30 mA.

Para a análise de espectroscopia vibracional na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizou-se o equipamento Perkin Elmer (Spectrum 100s Spectrometer) com o acessório de refletância total atenuada (ATR) com um cristal de seleneto de zinco (ZnSe), com acumulações de 4 varreduras com as faixas variando de 600 a 4000 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹.

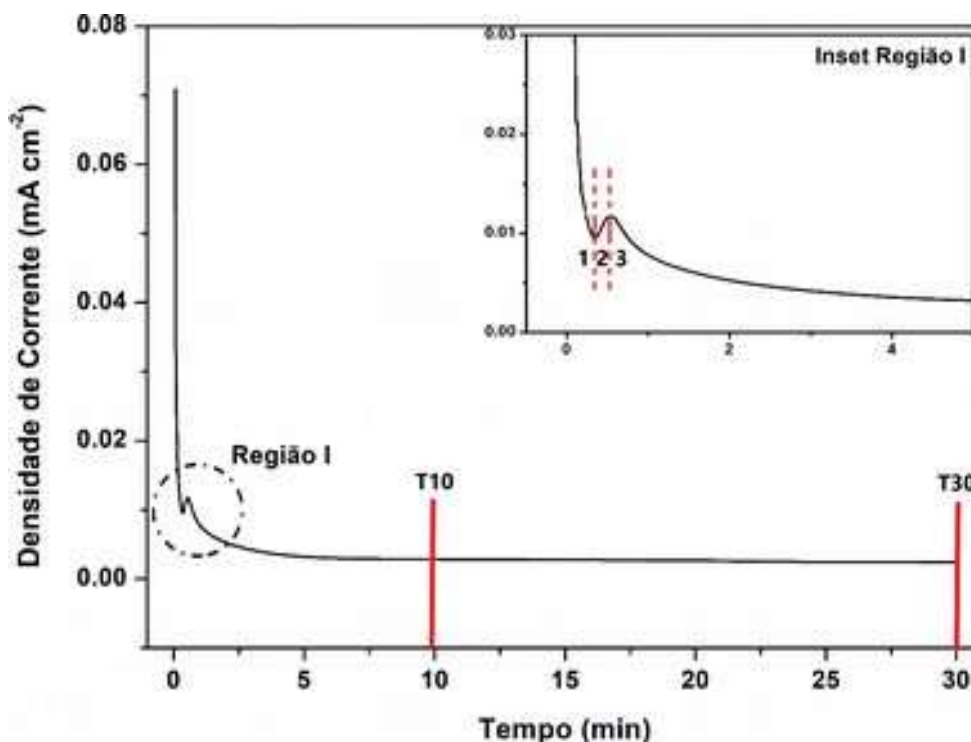
A análise termogravimétrica (TGA) e a calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas com o equipamento da Perkin Elmer (STA 6000), a taxa de aquecimento foi de 10 °C min⁻¹, partindo da temperatura ambiente até 900 °C, com um fluxo de oxigênio as 20 mL min⁻¹. Onde os gráficos obtidos nessa análise são referentes à perda de massa em função da temperatura.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 SÍNTESE DOS FILMES DE DIÓXIDO DE TITÂNIO

A síntese dos *coatings* de dióxido de titânio (TiO_2) foi realizada partindo do substrato de Ti_{CP} (titânio comercialmente puro) por meio do método de anodização potencioestática com variação do tempo (10 e 30 minutos). A Figura 8 representa a curva cronoamperométrica com os estágios de crescimento eletroquímico, este resultado foi reprodutível para todas as amostras sintetizadas.

Figura 10. Curva de anodização com representação dos estágios de crescimento eletroquímico (Inset Região I - 1, 2 e 3) e demarcada com tempo de retirada dos filmes sintetizados (T10 e T30).



Fonte: Autoria própria, 2022.

A oxidação eletroquímica pode ser acompanhada através do gráfico da densidade de corrente (mA cm^{-2}) em função do tempo (min) de anodização, chamado de cronoamperograma ou curva cronoamperométrica. As curvas cronoamperométricas apresentam três estágios de crescimento eletroquímico (1, 2 e 3 no Inset da Região I - Figura 3), o primeiro ocorre ao se aplicar uma diferença de potencial resultando em uma queda abrupta da corrente até seu valor mínimo devido

a formação de um de óxido superficial (TiO_2) de alta resistência, conhecido por óxido barreira. No segundo estágio a densidade de corrente aumenta em função da interação do óxido superficial com os íons fluoreto presentes na solução eletrolítica, resultando na dissolução do óxido barreira e levando à nucleação dos nanotubos. O último estágio é caracterizado pelo decaimento da corrente até alcançar seu estado estacionário, ou seja, a taxa de crescimento do óxido é equivalente a taxa de dissolução, é nesta região que há o crescimento dos nanotubos no sentido vertical levando à alta organização¹². Neste último estágio ocorre a estabilização da densidade de corrente⁸⁵.

De acordo com Macak et al., (2007)⁸⁵ o último estágio do crescimento eletroquímico, onde a taxa de crescimento e dissolução são equivalentes, algumas características dos nanotubos como comprimento e espessura podem ser variáveis dependente das condições difusionais, como temperatura, diferença de potencial aplicado e a composição da solução eletrolítica.

Estudos anteriores de Roy et al., (2011)⁷¹ relataram que para o crescimento dos nanotubos na superfície do material, a presença de íons fluoreto na composição do eletrólito variando de 0.1 a 1 % e a diferença de potencial aplicado entre 1 e 30 V tem influência significativa.

A solução eletrolítica utilizada na síntese das nanoestruturas possui íons fluoreto e, fluído corporal simulado (SBF) em sua composição. O SBF é composto por diversos sais para assemelhar-se ao plasma sanguíneo, sendo possível reproduzir condições semelhantes ao ambiente implantado⁸⁶. Além disso, a presença de SBF na composição da solução eletrolítica, mesmo que pouca quantidade, pode otimizar as propriedades mecânicas dos materiais nanotexturizados e, de forma indireta auxiliar da definição dos nanotubos⁹⁸.

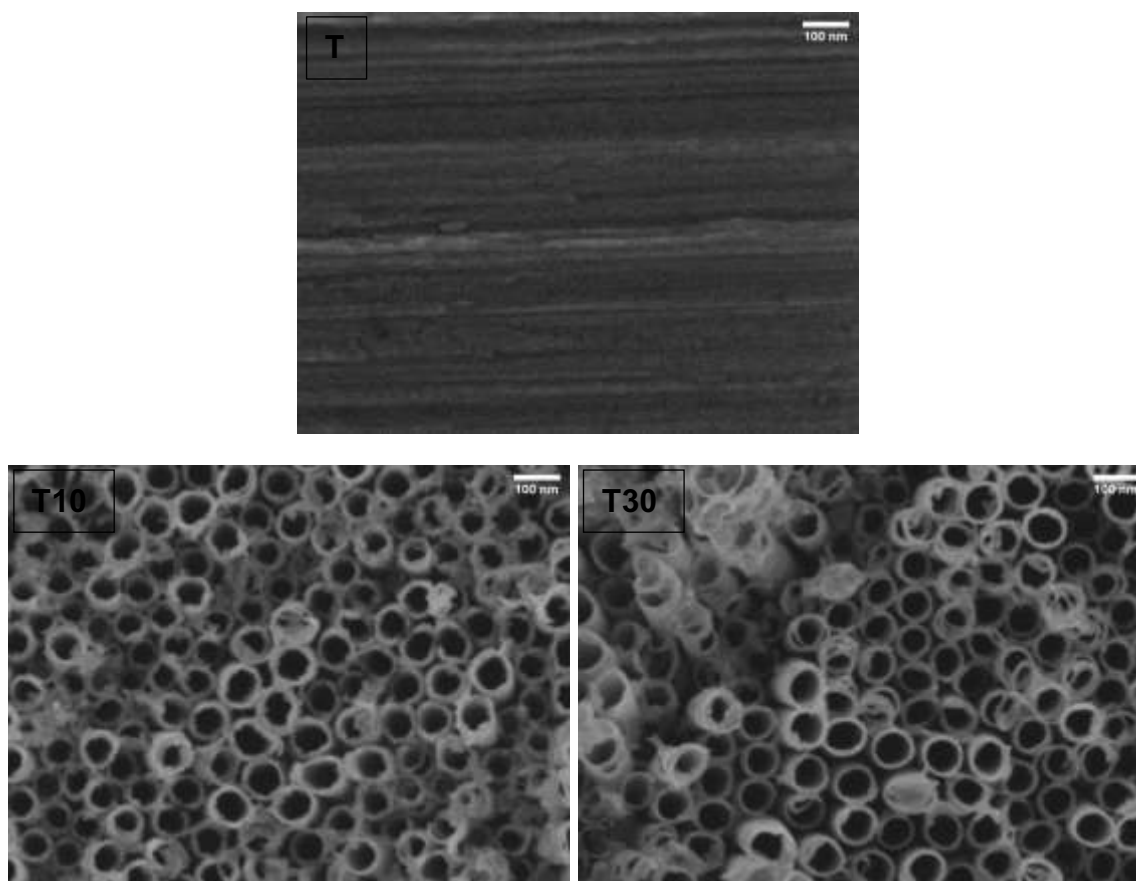
Analisando a Figura 10, pode-se notar que o estado estacionário se inicia antes da retirada do primeiro tempo de anodização, T10, deste modo, os demais filmes anodizados (T30) não possuem diferenças significativas em seu processo de formação, pois todos estão presentes no terceiro estágio de crescimento. No entanto diferenças quantitativas em relação ao diâmetro e comprimento dos nanotubos podem ocorrer, devido à taxa de crescimento e dissolução serem equivalentes.

A taxa de dissolução também pode ser afetada pela temperatura de síntese anódica, para soluções organo-aquosas a variação da temperatura deve ser de 0 a 40 °C para favorecer o crescimento das nanoestruturas¹².

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COATINGS

A morfologia dos *coatings* obtidos nos tempos de síntese (10 e 30 minutos), bem como a morfologia do substrato metálico (Ti_{CP}) são apresentados na Figura 11. Analisando a morfologia dos nanotexturizados, pode-se observar a presença de estruturas nanotubulares, bem como seu alinhamento perpendicular sobre a superfície do metal apresentando uma alta-organização das estruturas. Este resultado, se apresenta em concordância com o obtido nas curvas cronoamperométricas para cada tempo de síntese.

Figura 11. Morfologia das amostras sem (T) e com (T10 e T30) nanotexturização nos tempos de síntese (10 e 30 minutos).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Por meio da análise comparativa da morfologia dos nanotubos para cada tempo de síntese, observar-se que com 10 minutos de anodização houve a presença

de NTs altamente organizados. Após os 30 minutos de anodização, tem-se uma leve desorganização e uma diminuição na definição das nanoestruturas, tal resultado sugere que a auto-organização das nanoestruturas é inversamente proporcional ao tempo de síntese anódica.

Como citado anteriormente, as condições e a composição do meio para realizar a síntese, podem alterar a conformidade e organização das estruturas sobre a superfície do substrato metálico. Bem como a presença de SBF na solução eletrolítica pode otimizar as propriedades mecânicas e contribuir na definição dos nanotubos. Contudo, o tempo de síntese pode atuar de forma desfavorável, de modo que com o aumento do tempo o processo de dissolução química prevalece em relação à oxidação, induzindo pequenas rachaduras na superfície dos *coatings*, este fenômeno ocorre quando a síntese alcança o último estágio da curva, o estado estacionário.

A utilização de eletrólitos orgânicos em tempos prolongados provoca um afinamento na superfície dos tubos devido à exposição e corrosão por cloreto e fluoreto, logo a taxa de crescimento e ataque químico são proporcionais, promovendo a dissolução das nanoestruturas que tornam-se irregulares, originando as morfologias *nanograss*, dificultando o crescimento dos nanotubos^{71,87}.

A variação do tempo de síntese resulta em alterações na morfologia dos *coatings*, como no diâmetro interno dos NTs. Os resultados para o diâmetro de NTs foram tratados por meio de análise estatística (ANOVA) e estão representados na Tabela 1. Analisando os dados da Tabela 1, pode-se observar que houve o aumento do diâmetro do nanotubo de forma proporcional ao aumento do tempo de síntese. Além disso, a ANOVA indica diferença estatística entre as amostras nanotexturizadas em função do tempo de anodização.

Tabela 1. Diâmetro dos Nanotubos obtidos a partir do TiCP em 10 e 30 minutos de anodização.

Amostra	Diâmetro dos Nanotubos (nm)
T10	44,11 ± 3,17 ^B
T30	80,13 ± 5,84 ^A

Letras sobrescritas referem-se ao resultado de ANOVA. Onde as letras A e B denotam diferença estatística entre as médias.

Fonte: Autoria própria, 2022.

Segundo Brammer et al., (2009)⁸⁸ materiais nanotexturizados com diâmetro de 100 nm possuem potencial para serem utilizados como implantes, induzindo à maiores chances de adesão celular. Isso se deve aos alongamentos de osteoblastos, sugerindo melhor taxa de osseointegração quando comparado com diâmetros inferiores. De acordo com Kulkarni et al., (2014)⁸⁷ materiais nanotexturizados com os diâmetros internos variando de 15 a 100 nm podem propiciar maior atividade nos osteoblastos e sugerir a osseointegração. Diante disso, analisando o diâmetro interno dos revestimentos obtidos a partir da síntese anódica, sugere-se que possuem potencial para o processo de osseointegração, visto que para ambos os tempos de síntese o valor está compreendido entre a faixa de 15 a 100 nm.

4.3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS LAMELARES

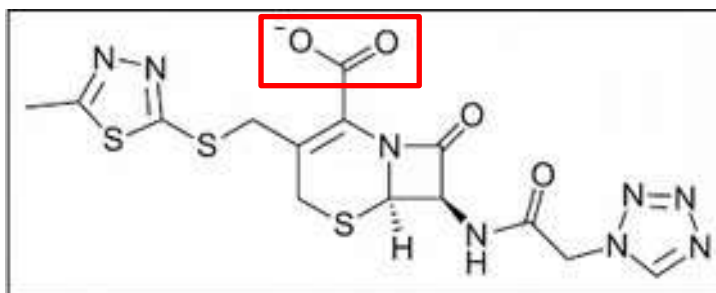
4.3.1 Caracterização dos materiais por Difractometria de Raios X

O hidroxissal lamelar intercalado com o ânion proveniente da Cefazolina Sódica (HSL-CS) foi obtido por meio da reação entre três soluções, que foram: nitrato de zinco hexahidratado, hidróxido de sódio e a Cefazolina Sódica solubilizados em água ultrapura (Milli-Q).

A reação isolada entre nitrato de zinco hexahidratado e o hidróxido de sódio resultou na formação de um material disposto em camadas, ou seja, um composto lamelar. Foi possível obter esta estrutura, pois a presença de zinco octaédrico e tetraédrico gera uma carga residual positiva na lamela e, o nitrato atua como ânion que interage eletrostaticamente com as lamelas e favorece a eletroneutralidade. Este material é denominado como hidroxinitrato de zinco (HNZ).

Seguindo esta condição o método de coprecipitação possibilita a formação das lamelas do HNZ em paralelo com a substituição do ânion nitrato pela molécula Cefazolina, pois a lamela do HNZ vai ser formada, preservada e rapidamente interagir com o ânion. A Cefazolina se coordena por meio do carboxilato (como ilustrado na Figura 12), durante a reação houve a solubilização e o ajuste do pH para a coordenação do ânion COO^- . Este material foi denominado como hidroxissal lamelar intercalado com Cefazolina (HSL-CS).

Figura 12. Molécula da Cefazolina demarcando a posição do carboxilato.



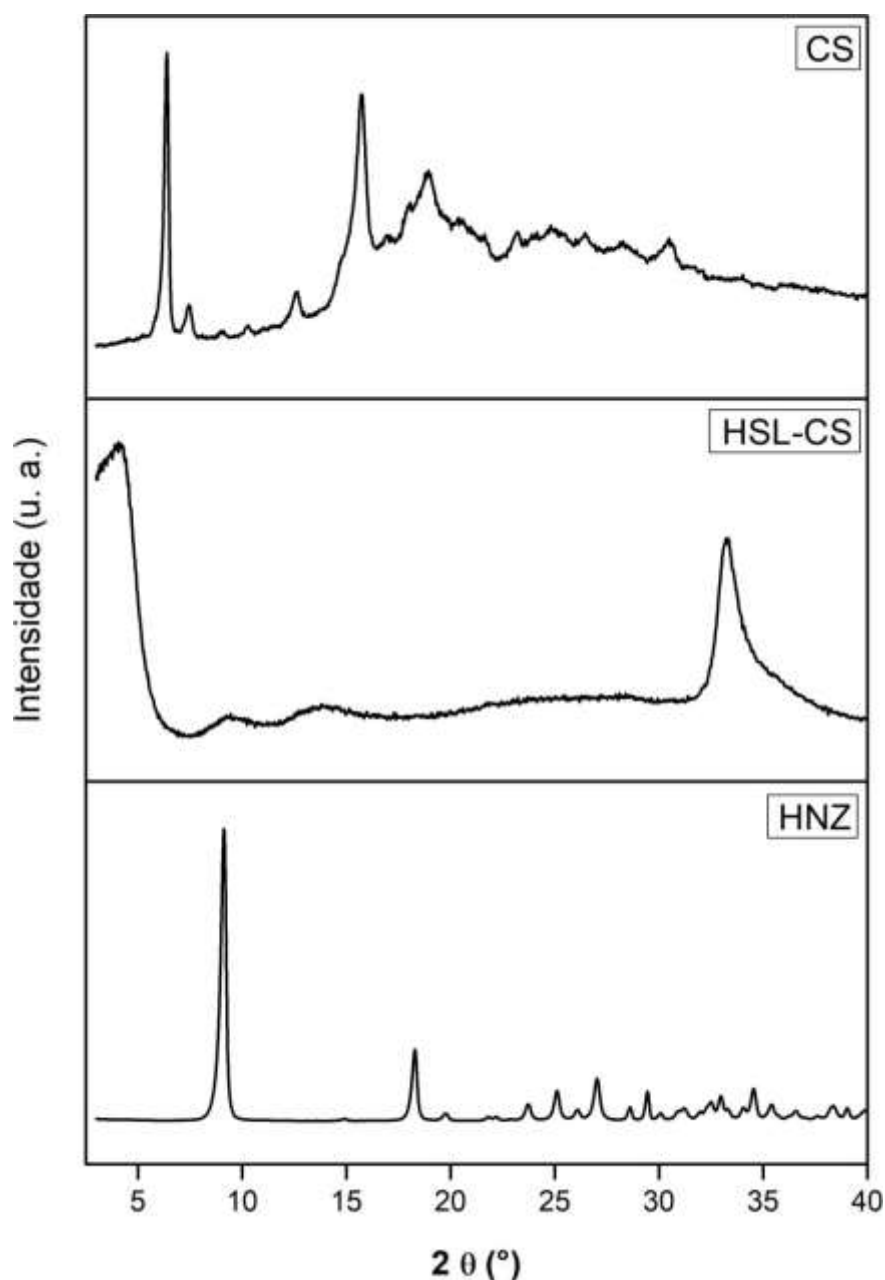
Fonte : Adaptado de Ghasemi M., 2020⁸⁹

A difração de raios X do HNZ representado na Figura 13 confirma a estrutura do material sintetizado $\{Zn_5(OH)_8(NO)_3 \cdot 2H_2O\}$, conforme estabelecido na Ficha do JPCDS 24-1460. O material apresentou boa cristalinidade com um pico intenso referente ao plano (200) em aproximadamente $9,09^\circ$, bem como a ordem de repetição com uma distribuição uniforme dos planos de reflexão basal, comprovando a estrutura lamelar (Figura 13 – HNZ). Além disso, utilizando a Lei de Bragg descrita na Equação 1 calculou-se a distância basal da estrutura que resultou em aproximadamente $9,5 \text{ \AA}$ ⁹⁰.

$$d = \frac{n \lambda}{\sin \theta} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde d é a distância basal, n é um número natural, λ é o comprimento de onda da radiação incidente e θ é o ângulo de incidência em relação ao plano considerado. Para o cálculo da distância basal utilizou-se o pico referente ao plano (200) do difratograma do HNZ com a fonte de radiação $CuK\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$)⁹¹.

Figura 13. Difratogramas da Cefazolina Sódica e dos sólidos sintetizados.

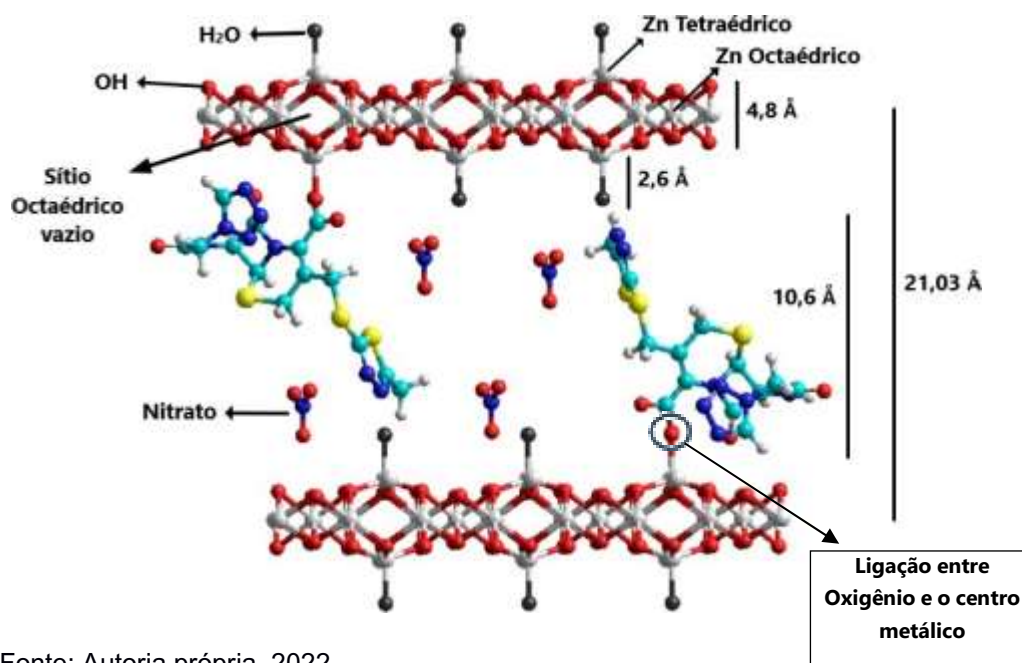


Fonte: Autoria própria, 2022.

Para o hidroxissal intercalado com o fármaco (HSL-CS) é possível observar um pico intenso em aproximadamente $4,2^\circ$, ao calcular a distância basal do material obteve-se valor aproximado de $21,03 \text{ \AA}$. Diante disso tem-se um possível espaçamento lamelar de aproximadamente $11,03 \text{ \AA}$, este espaçamento pode estar relacionado com a existência de uma monocamada de Cefazolina, visto que o tamanho estimado da molécula da Cefazolina, considerando a possível ligação monodentada (a ser discutida em seguida no FTIR) entre o centro metálico e o

oxigênio presente no carboxilato até o extremo da molécula, obteve-se tamanho de $\cong 10,6 \text{ \AA}$ de acordo com o programa Hyperchem. Os valores descritos demonstram resultado positivo para a intercalação, diante disto é possível estimar as coordenações obtidas durante a síntese como representado na Figura 14.

Figura 14. Representação estimada do hidroxissal lamelar intercalado com o ânion proveniente da Cefazolina.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Analisando o possível espaçamento lamelar de aproximadamente $11,03 \text{ \AA}$, e subtraindo o valor do tamanho estimado da molécula de Cefazolina, tem-se uma diferença de aproximadamente $0,43 \text{ \AA}$. Este valor, pode corresponder ao espaço que o restante da molécula de Cefazolina pode ter utilizado para se alocar na lamela, aos ânions nitrato residuais ou moléculas de água presentes no espaço interlamelar. Na Figura 14, pode-se observar a representação da possível disposição da Cefazolina na lamela.

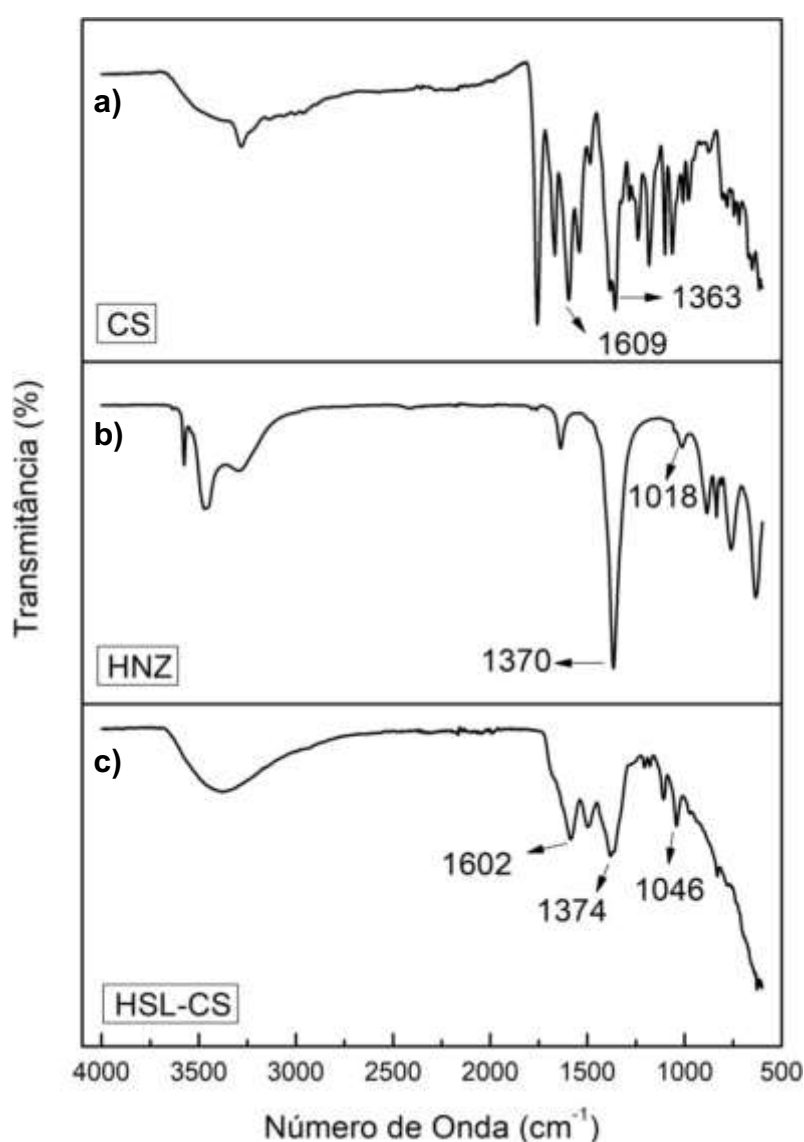
4.3.2 Caracterização dos materiais por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A análise do espectro na região do infravermelho com transformada de Fourier é utilizada em função dos espectros padronizados que a técnica fornece

facilitando a identificação da amostra, pois cada molécula apresenta características específicas no infravermelho.

A técnica de espectroscopia FTIR foi empregada nos primeiros estudos a respeito do hidroxinitrato de zinco $\{Zn_5(OH)_8(NO_3)_2 \cdot 2H_2O\}$ em 1995, neste artigo os autores descreveram duas bandas observadas, onde uma estava em 1380 cm^{-1} referente ao estiramento N-O (para o íon nitrato livre) e uma em 1020 cm^{-1} com baixa intensidade em função do modo proibido⁹². Na Figura 13-b é possível observar o espectro do HNZ com os estiramentos levemente deslocados, deste modo sugere-se que a banda com maior intensidade que denota o estiramento N-O se encontra em 1370 cm^{-1} e a banda de baixa intensidade foi identificada em 1018 cm^{-1} .

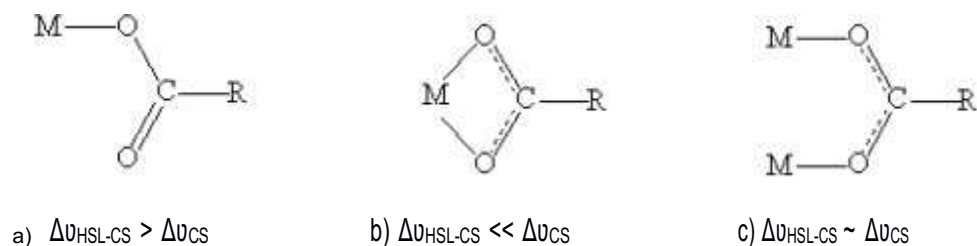
Figura 15. Espectro do infravermelho para os sólidos CS, HNZ e HSL-CS.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Os carboxilatos (grupo funcional COO^-) da Cefazolina interagem com as lamelas dos hidroxissais lamelares, sendo assim, o composto atua como ânion suprindo o déficit de carga na lamela. Este apresenta duas bandas intensas, uma entre 1620 e 1530 cm^{-1} em relação ao estiramento assimétrico (ν_{as}) e uma entre 1420 e 1380 cm^{-1} em relação ao estiramento simétrico (ν_{s})⁹². De acordo com Nakamoto (1986)⁹³ a diferença de vibração entre o estiramento assimétrico e simétrico ($\Delta\nu = \nu_{\text{as}} - \nu_{\text{s}}$) do carboxilato reflete na forma em que o composto está coordenado com as lamelas do hidroxissal lamelar. De modo que, se o $\Delta\nu$ do composto (HSL-CS) apresentar valor maior que o $\Delta\nu$ da Cefazolina (CS) a coordenação será do tipo monodentada (Figura 16-a), se o $\Delta\nu$ do composto (HSL-CS) apresentar valor inferior ao $\Delta\nu$ da Cefazolina (CS) a coordenação será do tipo bidentada (Figura 16-b), e se os valores de $\Delta\nu$ forem próximos o carboxilato formará uma ligação em ponte entre dois centros metálicos (Figura 16-c)⁹³.

Figura 16. Possíveis formas de coordenação do grupo carboxilato com o centro metálico.



Fonte: Nakamoto K, 1986⁹³.

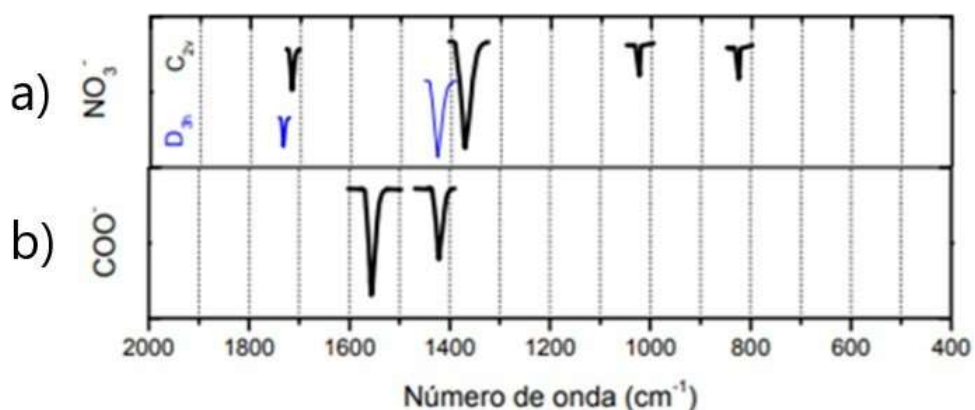
O espectro FTIR do sólido da CS (Figura 15-a) apresentou bandas em 1609 e em 1363 cm^{-1} , referente aos estiramentos assimétricos e simétricos respectivamente. Sugere-se que estes estiramentos são referentes ao grupo carboxilato COO^- , visto que as bandas estão compreendidas na faixa de banda intensa do composto⁷.

Analisando o espectro FTIR do sólido do HSL-CS (Figura 15-c) observa-se bandas em 1602 e 1374 cm^{-1} , sugere-se que estes são estiramentos assimétricos e simétricos, respectivamente, referente ao grupo carboxilato. Deste modo, após calcular a diferença do estiramento ($\Delta\nu$) sugere-se que ocorreu uma coordenação do tipo monodentada, do carboxilato com o centro metálico da lamela, como

representado na Figura 14, pode-se observar a ligação sugerida entre o Oxigênio e o centro metálico.

Na Figura 17-a é apresentado as principais bandas para o nitrato ligado ao hidroxissal, nota-se a banda de baixa intensidade próxima a 1000 cm^{-1} . Na Figura 17- b referente ao carboxilato ligado ao hidroxissal lamelar observa-se as bandas entre 1400 e 1600 cm^{-1} . A banda de nitrato referente ao HNZ se encontra na mesma região da banda do CS, deste modo, se as espécies coexistirem no material HSL- CS, a banda principal em 1370 cm^{-1} aparecerá sobreposta. As bandas apresentadas na Figura 17-a, em relação as vibrações para o nitrato, são representadas em azul para o D_{3h} , e as bandas em preto são referentes à C_{2v} .

Figura 17. Região das bandas que apresentam principais vibrações dos contra-íons em hidroxissais lamelares.



Fonte: Adaptado de Nakamoto K, (1986)⁹³.

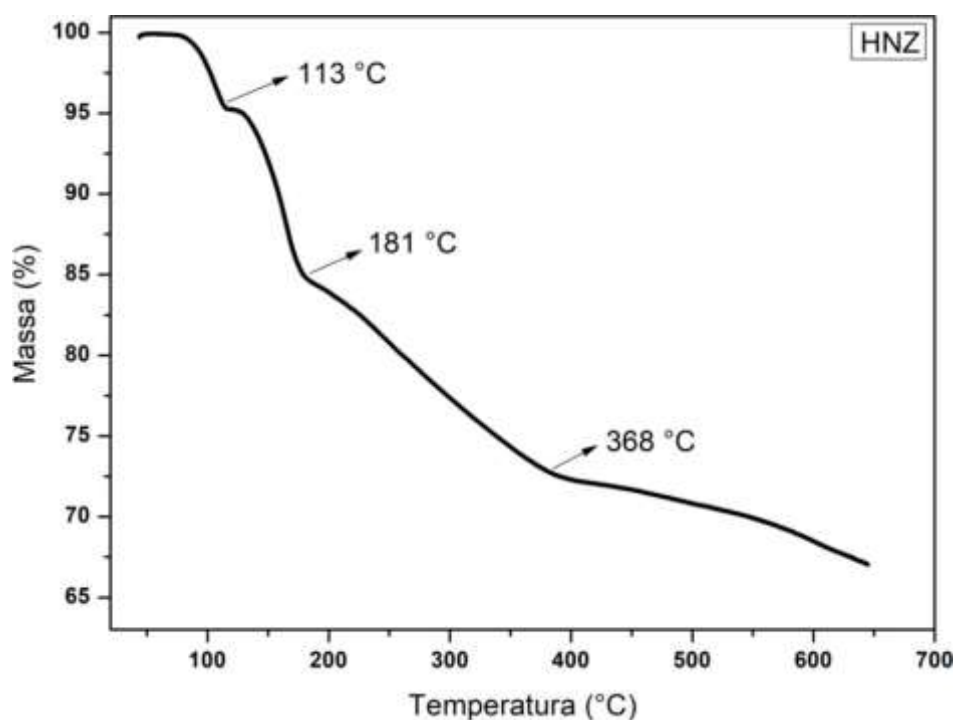
Diante do exposto acima, é possível sugerir que o material apresentado no espectro de FTIR do HSL-CS é a Cefazolina devido às bandas referentes ao carboxilato (presente no fármaco). Deste modo, obteve-se um hidroxissal lamelar intercalado com a Cefazolina, com uma coordenação do tipo monodentada.

4.3.3 Caracterização dos materiais por Análise Termogravimétrica

A análise térmica (TGA) é empregada a fim de avaliar a perda ou ganho da massa em função do tempo ou temperatura, a curva de TGA do HNZ pode ser observada na Figura 18. Nesta observa-se o início da decomposição térmica em aproximadamente $113\text{ }^\circ\text{C}$ em função da perda de massa pela desidroxilação e

decomposição dos nitratos presentes no composto, neste início tem-se a formação de $Zn_3(OH)_4(NO_3)_2$ e ZnO . Em aproximadamente $181\text{ }^\circ\text{C}$ ocorre uma desidratação do $Zn_3(OH)_4(NO_3)_2$ que resulta na formação de $Zn(NO_3)_2$ e ZnO . E no final da curva observa-se a decomposição final em aproximadamente $368\text{ }^\circ\text{C}$, onde $Zn(NO_3)_2$ resulta em ZnO , NO_2 , NO e O_2 , resultados similares foram obtidos por Hongo *et al*, (2010)⁹⁴ e Ongaratto G. C., (2021)⁹⁰.

Figura 18. Curva TGA do HNZ.



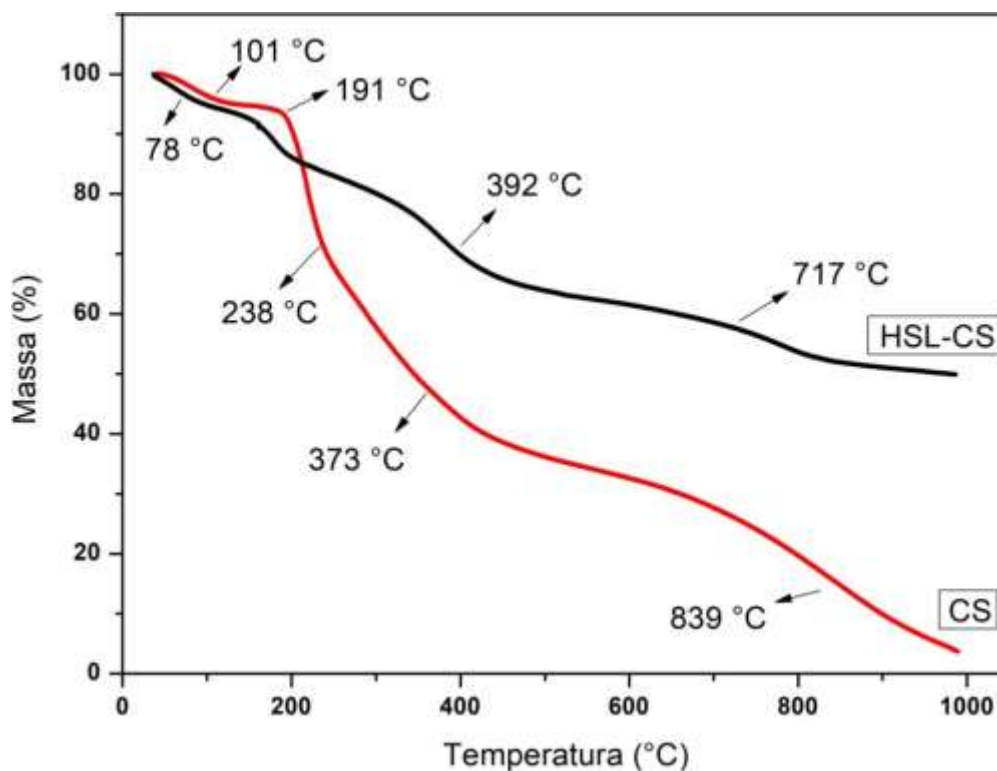
Fonte: Autoria própria, 2022.

A curva de análise térmica do HSL-CS e do fármaco CS estão representadas na Figura 19, de modo que é possível observar os curtos platôs de perda de massa das amostras. Para a curva da CS tem-se o início da perda de massa em aproximadamente $101\text{ }^\circ\text{C}$, Furlaneto *et al*, (1994)⁹⁵ observaram um efeito endotérmico entre 90 e $120\text{ }^\circ\text{C}$ em função da perda de água do composto, posteriormente a este efeito ressaltaram um efeito exotérmico devido à degradação do fármaco. Pedroso T. M., (2013)⁷ pontua em sua pesquisa referente ao fármaco Cefazolina Sódica que a decomposição do fármaco se inicia em $172\text{ }^\circ\text{C}$.

Utilizando a Cefazolina Sódica como tratamento superficial Nayak *et al*, (2017)⁹⁶ observaram três etapas de degradação com uma perda de massa de 88,89%.

Na Figura 19, referente à curva TGA-CS pode-se concluir que a perda de massa foi de aproximadamente 96,76 % até a temperatura de 990,75 °C. Diante disso, não foi possível afirmar que houve o término dos eventos térmicos da amostra.

Figura 19. Curva TGA HSL-CS e CS.



Fonte: Autoria própria, 2022.

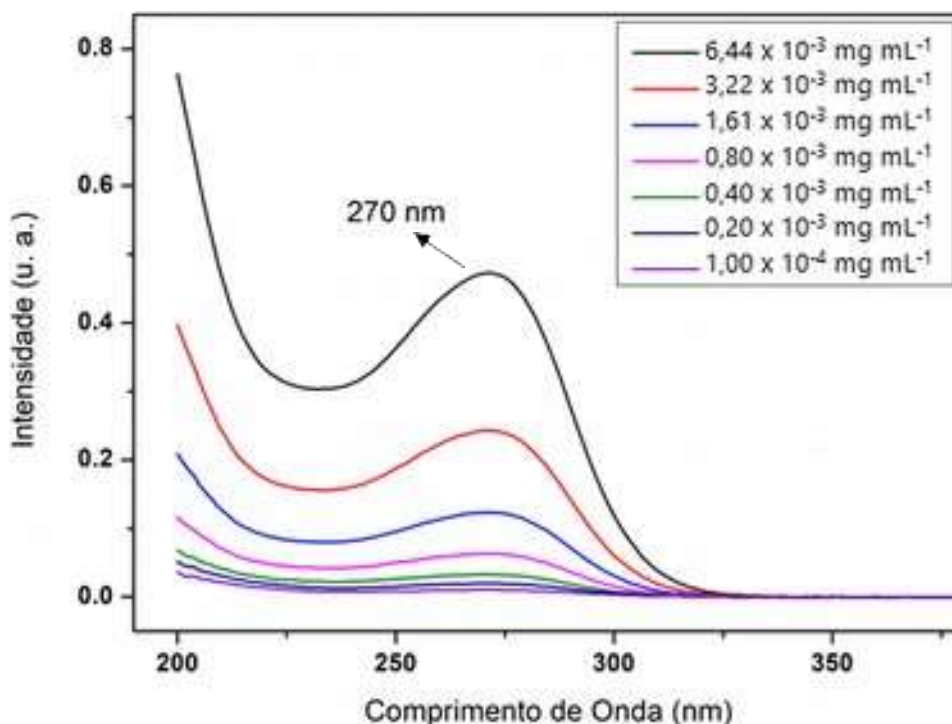
Para a curva do HSL-CS observa-se perda de água na amostra com o decorrer do tempo, bem como a permanência de ZnO até 1000 °C, com um leve platô de perda de massa em aproximadamente 717 °C, temperatura inferior comparada com a curva TGA do material CS. A análise TGA para o material foi realizada a fim de estimar a quantidade intercalada de Cefazolina no hidroxissal lamelar. Para isto, partiu-se de $Zn_5(OH)_8(NO_3)_{2-x}(CS)_x \cdot nH_2O$, utilizando a massamolar de cada molécula e o ponto de inflexão (94,736% e 49,911%) extraído da curva de TGA, obteve-se o valor de $x=0,5$ e $n=2,4$. Deste modo, tem-se que a fórmula geral do composto é $Zn_5(OH)_8(NO_3)_{1,5}(CS)_{0,5} \cdot 2,4H_2O$. Este resultado evidencia que a quantidade de CS no HSL-CS foi cerca de quatro vezes menor em relação a capacidade de troca iônica do composto, bem como a presença de nitrato.

4.4 INCORPORAÇÃO E LIBERAÇÃO DA CEFAZOLINA SÓDICA

A espectroscopia UV-Visível (UV-Vis) é utilizada em função da absorção de radiação eletromagnética em regiões do visível e ultravioleta do espectro, de modo que o comprimento de onda abrangido para estas regiões são de 400 à 800 nm e inferior a 400 nm, respectivamente. Para validar o comprimento de onda com absorção máxima do fármaco em estudo (CS) utilizada nos ensaios de liberação empregou-se a técnica UV-Vis com faixa de variação no comprimento de onda de 200 a 800 nm da solução do fármaco CS. Com o intuito de avaliar o comportamento de absorção do fármaco realizou-se diluições seriadas em água ultrapura (Milli-Q) partindo de uma concentração de $1,65 \text{ mg mL}^{-1}$.

Na Figura 20 são expostas as curvas de varredura, nesta é possível observar a banda de máxima absorção característica do fármaco em 270 nm. Esta banda confirma a presença do fármaco visto que Pedroso, T. M., (2013)⁷ confirmou comportamento semelhante no comprimento de onda de 271 nm.

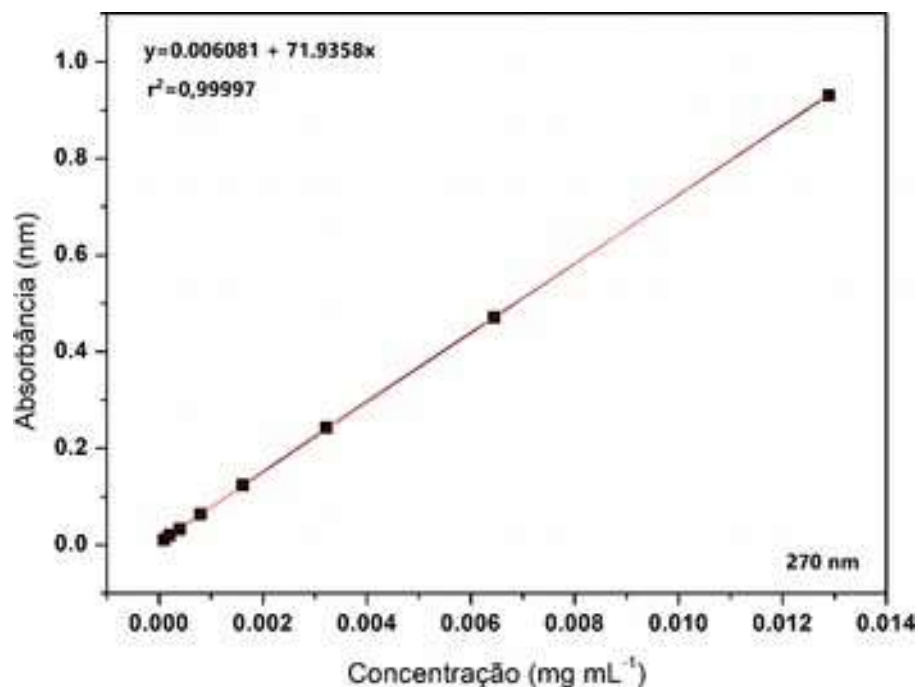
Figura 20. Espectro de absorção da Cefazolina Sódica obtida por meio de diluição seriada do fármaco em água ultrapura.



Fonte: Autoria própria, 2022.

A curva de calibração foi construída por meio de diluições seriadas partindo da solução mãe, a fim de quantificar o fármaco. Para isto, utilizou-se uma faixa de concentração de $6,4453 \times 10^{-3}$ a $1,007 \times 10^{-4}$ para a regressão, como resultado obteve-se a equação da reta igual a $y = 0,000,0,e0,10 + 7003e5819$, com um coeficiente de correlação linear (r^2) igual a 0,99997 como representado na Figura 21.

Figura 21. Curva de calibração da Cefazolina Sódica.



Fonte: Autoria própria, 2022.

As amostras foram divididas para a incorporação do CS e HSL-CS de acordo com o tempo de síntese dos *coatings*, esta classificação está descrita na Tabela 1. Por meio da quantificação de massa acumulativa em função do tempo foi possível realizar a normalização dos dados, de modo que foi dividido a massa obtida em cada tempo de retirada de alíquota pela massa total liberada, estes valores podem ser observados na curva de liberação do fármaco puro e intercalado no hidroxissal (Figura 22).

A Figura 22 representa a liberação dos materiais incorporados a fim de avaliar as variações entre as amostras, bem como a equivalência dos resultados. É possível observar na curva de liberação que todas as amostras prosseguiram com a característica de uma liberação lenta, visto que apresentam liberação até 29 horas de imersão na solução de PBS, além disso as amostras foram transportadas de tubo em

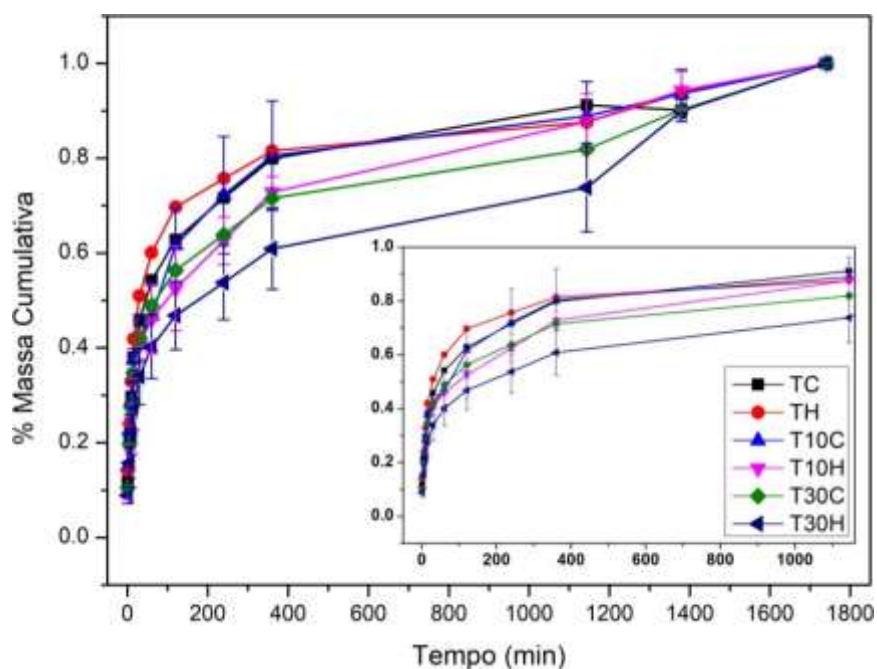
tubo em seus tempos delimitados a fim de não supersaturar a solução e propiciar a liberação dos filmes a base de TiCP. A Tabela 2 representa a identificação das amostras, com referência à quantidade de massa liberada exposta na Tabela 3.

Tabela 2. Designação de cada amostra.

Material	Denominação de amostras		
incorporado	T	T10	T30
CS	TC	T10C	T30C
HSL-CS	TH	T10H	T30H

Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 22. Liberação do material a partir dos coatings em solução PBS.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Pode-se observar que a liberação das amostras com fármaco (CS) e com o material intercalado (HSL-CS), para o tempo de 10 e 30 minutos seguiram a liberação em função do tempo. De modo que ambos prosseguiram carregando material até o instante final de liberação, caracterizando um perfil de liberação em que a massa acumulativa aumenta de forma proporcional ao tempo de imersão. Além disso, o início da curva de liberação demonstra um “burst” que caracteriza a rápida dissolução das moléculas de CS presentes na superfície dos nanotubos nos 15

minutos iniciais de imersão das amostras. Com o decorrer do tempo, tem-se a diminuição do coeficiente angular da curva de liberação, denotando que o mecanismo de transporte mássico passou ao estado mais controlado de liberação.

Tabela 3. Quantidade de massa cumulativa pela massa total liberada nos coatings para os dois materiais utilizados na incorporação.

Material incorporado	Massa cumulativa/ Massa total (m/mt)		
	T	T10	T30
CS	0,914 ± 0,004 ^A	0,926 ± 0,049 ^A	0,816 ± 0,001 ^{A, B}
HSL-CS	0,877 ± 0,001 ^A	0,842 ± 0,004 ^{A, B}	0,698 ± 0,089 ^B

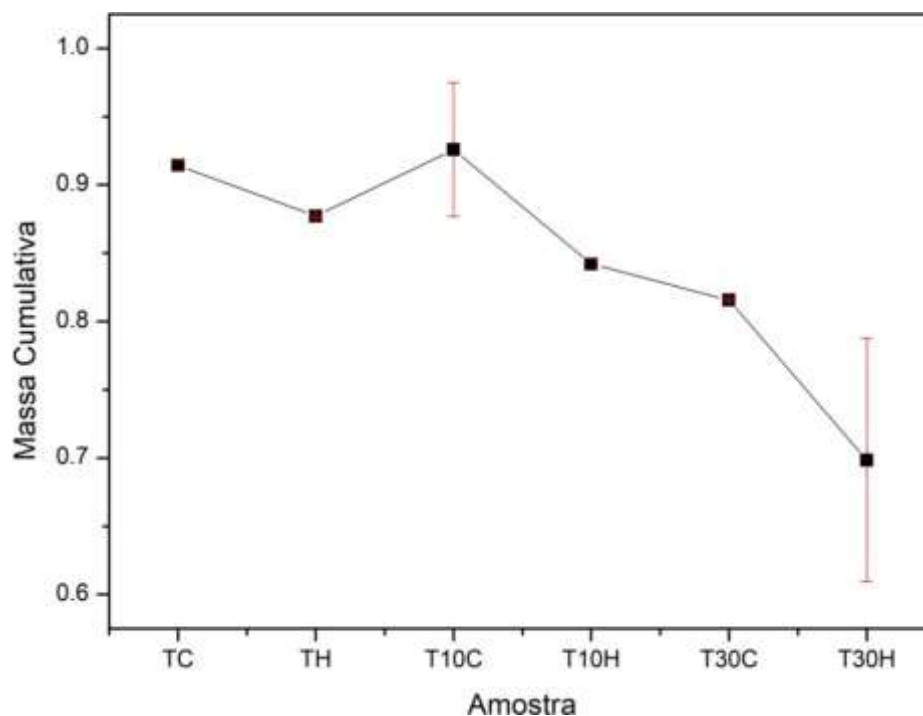
Letras sobrescritas referem-se ao resultado de ANOVA. Os valores que compartilham da mesma letra são estatisticamente equivalentes.

Fonte: Autoria própria, 2022.

A quantidade de massa liberada da curva total está representada na Tabela 3, e sugere que para ambas as amostras de 10 e 30 minutos, houve quantidade de massa superior liberada para o material incorporado apenas com CS quando comparada com o material intercalado (HSL-CS). A análise estatística ANOVA foi realizada no tempo de 1144 minutos e demonstrou que a amostra T30 (HSL-CS) apresentou liberação mais lenta quando comparada com as demais.

Em análise ao tratamento superficial realizado (anodização em 10 e 30 minutos) sugere-se que, para o material incorporado HSL-CS as amostras nanotexturizadas (T10H e T30H) liberaram uma quantidade inferior de massa que a amostra TH no tempo de 1144 minutos, deste modo, a presença de nanotubos na superfície do titânio possivelmente auxiliou na retenção do material incorporado. Para as amostras incorporadas com a CS, observa-se que a amostra T30C liberou quantidade de massa inferior quando comparada ao substrato (TC) no mesmo intervalo de referência, contudo a amostra T10C apresentou comportamento similar à TC. Estes resultados podem ser melhor observados na Figura 23, que representa a variação de massa liberada para cada amostra com a respectiva barra de erro referente ao desvio padrão.

Figura 23. Variação de massa liberada para cada amostra, dados extraídos para um tempo de liberação de 1144 minutos.



Fonte: Autoria própria, 2022.

A interação da superfície dos nanotubos (NTs) com o material incorporado pode afetar na cinética de liberação, onde a superfície dos NTs pode variar em função do óxido desenvolvido eletroquimicamente, ou seja, a redução da molhabilidade, o comprimento dos nanotubos e o aumento do diâmetro são características que podem ser modificadas em função do tempo de síntese. Diante disso, nota-se a variação de quantidade de massa entre os tempos de síntese, onde a menor quantidade de massa liberada em 30 minutos pode ser resultado do aprisionamento dos materiais incorporados nos canais verticais dos nanotubos, ocasionando uma menor interação com o meio de liberação e consequentemente retardando a difusão.

O diâmetro de nanotubo é proporcional ao tempo de anodização e esta característica é interessante para a osseointegração com a estrutura óssea. Além disso, o aumento do diâmetro favorece a deposição de material na superfície do nanotubo, desde que ocorra a compatibilidade⁸⁷. A cinética de liberação se altera conforme o diâmetro do nanotubo devido ao efeito de capilaridade, que é uma tendência dos líquidos subirem em tubos extremamente finos, de modo que quanto maior o diâmetro do tubo menor o fluxo no interior do tubo, logo este fenômeno pode retardar a liberação⁹⁷.

Deste modo, as amostras em 30 minutos liberaram uma menor quantidade de massa em relação as demais, sugerindo a eficiência da anodização para formação dos nanotubos e posterior reservatório de material. A amostra em 30 minutos do HSL-CS se mostrou estatisticamente diferente da amostra sem anodização para o mesmo material incorporado, sugerindo que o material sintetizado e incorporado auxiliou na liberação do fármaco liberando uma quantidade significativa de massa após o decorrer do tempo.

5 CONCLUSÕES

Este trabalho se propôs a estudar a influência do tempo de síntese anódica na morfologia dos *coatings* obtidos a partir do substrato Ti_{CP} por meio da técnica de anodização potencioestática. Em seguida, investigar a intercalação do fármaco Cefazolina Sódica em hidroxissal lamelar, partindo de soluções com concentrações conhecidas. Bem como, avaliar o comportamento de liberação do material intercalado (HSL-CS) sobre as nanoestruturas.

A partir dos resultados, pode-se sugerir que o tempo de síntese é inversamente proporcional à auto-organização dos nanotubos, em função da dissolução superficial com o decorrer do tempo em virtude da presença de íons fluoreto na solução de síntese. Bem como, o tempo de síntese é diretamente proporcional ao diâmetro dos nanotubos, apresentando vantagens para a adesão celular em possíveis implantações.

Em relação ao hidroxissal lamelar, analisando o DRX pode-se calcular o possível distanciamento basal e estipular o espaçamento interlamelar, que condiz a intercalação de uma monocamada do ânion da Cefazolina no hidroxissal lamelar.

A análise de FTIR possibilitou a identificação das bandas do ânion proveniente da Cefazolina da matriz lamelar no produto de intercalação, bem como a identificação da coordenação entre o carboxilato e o centro metálico por meio da diferença de vibração entre os estiramentos simétrico e assimétrico do HSL-CS e da Cefazolina Sódica, caracterizando a ligação como do tipo monodentada.

A análise de TGA foi empregada a fim de estimar a quantidade de Cefazolina intercalada no hidroxissal lamelar, e por meio cálculos a partir da massa molar e dos pontos de inflexão do composto chegou-se na fórmula geral $Zn_5(OH)_8(NO_3)_{1,5}(CS)_{0,5} \cdot 2,4H_2O$, descrevendo que a quantidade de Cefazolina foi cerca de quatro vezes inferior ao inserido na solução. Contudo, este resultado não interferiu no estudo de liberação, tendo em vista a presença de fármaco no HSL-CS em 29 horas de liberação.

As estruturas crescidas sobre a superfície do substrato em 30 minutos de síntese anódica apresentaram melhor resultado na cinética de liberação. Sugere-se que neste tempo houve menor quantidade de massa liberada para ambos os materiais incorporados. Além disso, neste tempo de síntese a amostra incorporada com o

material intercalado apresentou-se estatisticamente diferente. Destacando a amostra com potencial de retenção do fármaco.

Diante disso, os resultados indicam a possibilidade de se obter estruturas nanotubulares, auto-organizadas com potencial para liberação lenta de fármaco com um baixo tempo de síntese (30 minutos). Além disso, a inserção do fármaco em um hidroxissal lamelar possibilitou uma cinética de liberação mais lenta.

Considerando as características vantajosas dos materiais estudados, o baixo tempo de síntese e a possibilidade de uma liberação local de forma lenta, pode-se concluir que o desenvolvimento de nanomateriais com potencial aplicação na indústria de implantes ortopédicos e ortodônticos é de extrema importância.

REFERÊNCIAS

1. Sinhoret, M. & Vitti, R. P. Biomateriais na Odontologia: panorama atual e perspectivas futuras Biomaterials in Dentistry: current view and future perspectives. *Rev assoc paul ciR dent* **67**, 178–86 (2013).
2. Branemark, P. I. Osseointegration and its experimental background. *J. Prosthet. Dent.* **50**, 399–410 (1983).
3. Wei, H. & Eilers, H. From silver nanoparticles to thin films: Evolution of microstructure and electrical conduction on glass substrates. *J. Phys. Chem. Solids* **70**, 459–465 (2009).
4. Minagar, S., Berndt, C. C., Wang, J., Ivanova, E. & Wen, C. A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. *Acta Biomater.* **8**, 2875–2888 (2012).
5. Albrektsson, T. & Zarb, G. A. Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. *Int. J. Prosthodont.* **6**, 95–105 (1993).
6. Hashemi, A., Ezati, M., Mohammadnejad, J., Houshmand, B. & Faghihi, S. Chitosan coating of tio2 nanotube arrays for improved metformin release and osteoblast differentiation. *Int. J. Nanomedicine* **15**, 4471–4481 (2020).
7. Paulista, U. E. *et al.* Análise Químico-Farmacêutica De Análise Químico-Farmacêutica De. (2013).
8. Baltar, C. A. ., Sampaio, J. A. & Andrade, M. C. Titânio: minerais de titânio. *Rochas minerais Ind. usos e especificações* 655–676 (2005).
9. Konatu, R. FUNCIONALIZAÇÃO DA LIGA Ti15Zr15Mo APÓS CRESCIMENTO DE NANOTUBOS DE TiO2 COM RECOBRIMENTO DE QUITOSANA, ÁCIDO HIALURÔNICO E PARTÍCULAS DE ZnO PARA APLICAÇÃO BIOMÉDICA. (2018).
10. Lima, C. & Augusto, A. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL E MECÂNICA DO TITÂNIO COMERCIALMENTE PURO E DA LIGA Ti-6Al-4V UTILIZADOS COMO BIOMATERIAL (IMPLANTES). 125–126.
11. Kowalski, D., Kim, D. & Schmuki, P. TiO2 nanotubes, nanochannels and mesosponge: Self-organized formation and applications. *Nano Today* **8**, 235–264 (2013).

12. Regonini, D., Bowen, C. R., Jaroenworarluck, A. & Stevens, R. A review of growth mechanism, structure and crystallinity of anodized TiO₂ nanotubes. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **74**, 377–406 (2013).
13. Mohr, L. C. *et al.* Efeito antimicrobiano de nanopartículas de ZnO E TiO₂ frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. *Rev. do Congr. Sul Bras. Eng. Aliment.* **3**, 01–10 (2018).
14. Puckett, S. D., Taylor, E., Raimondo, T. & Webster, T. J. The relationship between the nanostructure of titanium surfaces and bacterial attachment. *Biomaterials* **31**, 706–713 (2010).
15. OLIVEIRA, L. L. Incorporação de Clorexidina na Superfície da liga Ti-7,5Mo após o crescimento de Nanotubos de TiO₂. (2016).
16. Liu, X., Chu, P. K. & Ding, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **47**, 49–121 (2004).
17. Hanawa, T. A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium. *J. Periodontal Implant Sci.* **41**, 263–272 (2011).
18. Gulati, K., Aw, M. S. & Losic, D. Drug-eluting Ti wires with titania nanotube arrays for bone fixation and reduced bone infection. *Nanoscale Res. Lett.* **6**, 1–6 (2011).
19. Dale, G. R., Hamilton, J. W. J., Dunlop, P. S. M., Lemoine, P. & Byrne, J. A. Electrochemical growth of titanium oxide nanotubes: The effect of surface roughness and applied potential. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **9**, 4215–4219 (2009).
20. Sopha, H., Hromadko, L., Nechvilova, K. & Macak, J. M. Effect of electrolyte age and potential changes on the morphology of TiO₂ nanotubes. *J. Electroanal. Chem.* **759**, 122–128 (2015).
21. Possamai, F. Avaliação da superfície de implantes dentários tratados com nanotubos, carregados com doxiciclina e revestidos com biomateriais. (2017).
22. Cardoso, S. *Educação.* **28**, 723–726 (2005).
23. Dines, M. B. Intercalation in layered compounds. *J. Chem. Educ.* **51**, 221–223 (1974).

24. Schöllhorn, R. Intercalation chemistry. *Phys. B+C* **99**, 89–99 (1980).
25. Arizaga, G. G. C., Satyanarayana, K. G. & Wypych, F. Layered hydroxide salts: Synthesis, properties and potential applications. *Solid State Ionics* **178**, 1143–1162 (2007).
26. Marangoni, R. Materiais multifuncionais obtidos a partir da intercalação de corantes aniônicos em hidróxidos duplos e hidroxissais lamelares e dispersos em polímeros. *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 1689–1699 (2013).
27. Nunes, L. M. 1,4-6 ,. **24**, 799–807 (2001).
28. Kryszewski, M. Nanointercalates - novel class of materials with promising properties. *Synth. Met.* **109**, 47–54 (2000).
29. Cunha, V. R. R. *et al.* HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES: NANOPARTÍCULAS INORGÂNICAS PARA ARMAZENAMENTO E LIBERAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE BIOLÓGICO E TERAPÊUTICO. *Quim. Nova* **33**, 159–171 (2010).
30. Evans, D. G. & Slade, R. C. T. Structural aspects of layered double hydroxides. *Struct. Bond.* **119**, 1–87 (2005).
31. Ryu, S. J., Jung, H., Oh, J. M., Lee, J. K. & Choy, J. H. Layered double hydroxide as novel antibacterial drug delivery system. *J. Phys. Chem. Solids* **71**, 685–688 (2010).
32. Santini, O. *et al.* Structural and magnetic properties of Fe and Co nanoparticles embedded in powdered Al₂O₃. *J. Colloid Interface Sci.* **289**, 63–70 (2005).
33. Botan, R. Síntese e Caracterização de Nanocompósitos de Poli(estireno) com Materiais Lamelares – Hidróxido Duplo Lamelar e Hidroxissal Lamelar – Via Polimerização In Situ. (2014).
34. Arizaga, G. G. C. MODIFICAÇÃO QUÍMICA DE SUPERFÍCIES DE HIDROXINITRATO DE ZINCO E HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES COM ÁCIDOS MONO E DICARBOXÍLICOS. 153–164 (2008).
35. Oliveira, H. B. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXISSAIS DE Zn E HIDROXISSAIS DUPLOS LAMELARES DE Zn/Ni E APLICAÇÃO NA REMOÇÃO DE ÍONS CROMATO DE ÁGUAS. **147**, 11–40 (2016).

36. Al Ali, S. H. H. *et al.* Controlled release and angiotensin-converting enzyme inhibition properties of an antihypertensive drug based on a perindopril erbumine-layered double hydroxide nanocomposite. *Int. J. Nanomedicine* **7**, 2129–2141 (2012).
37. Hwang, S. H., Han, Y. S. & Choy, J. H. Intercalation of functional organic molecules with pharmaceutical, cosmeceutical and nutraceutical functions into layered double hydroxides and zinc basic salts. *Bull. Korean Chem. Soc.* **22**, 1019–1022 (2001).
38. Zanotelli, N. C. Suplemento alimentício multifuncional obtido por meio da intercalação de vitaminas em hidroxissais lamelares e posterior adsolubilização de aroma. (2019).
39. Abdul Latip, A. F., Hussein, M. Z., Stanslas, J., Wong, C. C. & Adnan, R. Release behavior and toxicity profiles towards A549 cell lines of ciprofloxacin from its layered zinc hydroxide intercalation compound. *Chem. Cent. J.* **7**, 1–11 (2013).
40. Choi, S. J. & Choy, J. H. Layered double hydroxide nanoparticles as target-specific delivery carriers: Uptake mechanism and toxicity. *Nanomedicine* **6**, 803–814 (2011).
41. Xu, Z. P., Zeng, Q. H., Lu, G. Q. & Yu, A. B. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chem. Eng. Sci.* **61**, 1027–1040 (2006).
42. Kriven, W. M., Kwak, S. Y., Wallig, M. A. & Choy, J. H. Bio-resorbable nanoceramics for gene and drug delivery. *MRS Bull.* **29**, 33–37 (2004).
43. Danjo, M; Mizuguchi, Y; Yagita, Y; Kakiguchi, K; Yanagida, T; Tsuchioka, M. Intercalation of the anticancer agent cytarabine and its related compounds in γ -titanium phosphate. doi:<https://doi.org/10.1246/bcsj.70.3011>.
44. Barahuie, F., Hussein, M. Z., Fakurazi, S. & Zainal, Z. Development of drug delivery systems based on layered hydroxides for nanomedicine. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 7750–7786 (2014).
45. Panda, H. S., Srivastava, R. & Bahadur, D. In-vitro release kinetics and stability of anticardiovascular drugs-intercalated layered double hydroxide nanohybrids. *J. Phys. Chem. B* **113**, 15090–15100 (2009).
46. Burzlaff, A., Brethauer, S., Kasper, C., Jackisch, B. O. & Scheper, T. Flow cytometry: Interesting tool for studying binding behavior of DNA on inorganic

- layered double hydroxide (LDH). *Cytom. Part A* **62**, 65–69 (2004).
47. Li, B., He, J., Evans, D. G. & Duan, X. Inorganic layered double hydroxides as a drug delivery system - Intercalation and in vitro release of fenbufen. *Appl. Clay Sci.* **27**, 199–207 (2004).
 48. Khan, A. I. *et al.* Recent developments in the use of layered double hydroxides as host materials for the storage and triggered release of functional anions. *Ind. Eng. Chem. Res.* **48**, 10196–10205 (2009).
 49. Newman, S. P. & Jones, W. Comparative Study of Some Layered Hydroxide Salts Containing Exchangeable Interlayer Anions. *J. Solid State Chem.* **148**, 26–40 (1999).
 50. Mishra, G., Dash, B. & Pandey, S. Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. *Appl. Clay Sci.* **153**, 172–186 (2018).
 51. Crepaldi, E. L. & Valim, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: Síntese, estrutura, propriedades e aplicações. *Quim. Nova* **21**, 300–311 (1998).
 52. F. Cavani, F. Trifirb, A. V. HYDROTALCITE-TYPE ANIONIC CLAYS: PREPARATION, PROPERTIES AND APPLICATIONS. *Metron* **69**, 297–307 (1991).
 53. Gharibshahian, E., Jafar Tafershi, M. & Fazli, M. Effects of solution concentration and capping agents on the properties of potassium titanyl phosphate nanoparticles synthesized using a co-precipitation method. *J. Phys. Chem. Solids* **116**, 241–249 (2018).
 54. Mohanambe, L. & Vasudevan, S. Anionic clays containing anti-inflammatory drug molecules: Comparison of molecular dynamics simulation and measurements. *J. Phys. Chem. B* **109**, 15651–15658 (2005).
 55. Ladewig, K., Zhi, P. X. & Gao, Q. L. Layered double hydroxide nanoparticles in gene and drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **6**, 907–922 (2009).
 56. Bessauer, L. H. Desenvolvimento e Caracterização de Nanotubos de TiO₂ em Implantes de Titânio. 95 (2011).
 57. Rosifini Alves-Rezende, M. C. *et al.* Surface treatment of dental implants: SBF. *Rev. Odontológica Araçatuba* **32**, 38–43 (2011).

58. Simi, M. Tratamento de superfície de implantes dentários: formação de nanotubos. (2013).
59. Chouirfa, H., Migonney, V. & Falentin-Daudré, C. Grafting bioactive polymers onto titanium implants by UV irradiation. *RSC Adv.* **6**, 13766–13771 (2016).
60. D'Ayala, G. G., Malinconico, M. & Laurienzo, P. Marine derived polysaccharides for biomedical applications: Chemical modification approaches. *Molecules* **13**, 2069–2106 (2008).
61. Laranjeira, M. C. M. & De Fávère, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. *Quim. Nova* **32**, 672–678 (2009).
62. Souza, W. R. de. Modificação De Quitosana Com Ácido Hialurônico E Sua Blenda Com Colágeno Para Aplicação Biomédica. (2019).
63. Jeong, S. H. *et al.* Effective Wound Healing by Antibacterial and Bioactive Calcium-Fluoride-Containing Composite Hydrogel Dressings Prepared Using in Situ Precipitation. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **4**, 2380–2389 (2018).
64. Serafim, A; Bortolin, A; Aouada, F; Ribeiro, C; Mattoso, L. Liberação Lenta de Nutrientes a Partir de Nanocompósitos Carregados com Argilominerais. (2009).
65. Zhao, M. Q., Zhang, Q., Huang, J. Q. & Wei, F. Hierarchical nanocomposites derived from nanocarbons and layered double hydroxides - Properties, synthesis, and applications. *Adv. Funct. Mater.* **22**, 675–694 (2012).
66. Shan, D., Cosnier, S. & Mousty, C. HRP wiring by redox active layered double hydroxides: Application to the mediated H₂O₂ detection. *Anal. Lett.* **36**, 909– 922 (2003).
67. Shan, D., Yao, W. & Xue, H. Amperometric detection of glucose with glucose oxidase immobilized in layered double hydroxides. *Electroanalysis* **18**, 1485–1491 (2006).
68. Mousty, C. & Prévot, V. Hybrid and biohybrid layered double hydroxides for electrochemical analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**, 3513–3523 (2013).
69. Farinha, S., Tomaz, E. & Cardoso, B. Perfis de sensibilização às Cefalosporinas na prática clínica. 263–272 (2018).

70. Bizerra, A. & Silva, V. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. *Rev. Saúde e Meio Ambient.* 1–12 (2016).
71. Roy, P., Berger, S. & Schmuki, P. TiO₂ nanotubes: Synthesis and applications. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **50**, 2904–2939 (2011).
72. Kunrath, M. F., Hubler, R., Shinkai, R. S. A. & Teixeira, E. R. Application of TiO₂ Nanotubes as a Drug Delivery System for Biomedical Implants: A Critical Overview. *ChemistrySelect* **3**, 11180–11189 (2018).
73. Jia, H. & Kerr, L. L. Sustained Ibuprofen Release Using Composite Poly(Lactic-co-Glycolic Acid)/Titanium Dioxide Nanotubes from Ti Implant Surface. *J. Pharm. Sci.* **101**, 2271–2280 (2013).
74. Silva, V. L. C., Gil, F. Z., Nascimento, G. & Cavanal, M. F. Aminoglycoside and nephrotoxicity. *Kidney Blood Press. Res.* **10**, 327–337 (1987).
75. Daza, J. DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE PVA/COLÁGENO ANIÔNICO COMO NOVOS SISTEMAS POLIMÉRICOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ANTIBIÓTICOS. (2019).
76. Soundrapandian, C., Sa, B. & Datta, S. Organic-inorganic composites for bone drug delivery. *AAPS PharmSciTech* **10**, 1158–1171 (2009).
77. Sinn Aw, M., Kurian, M. & Losic, D. Non-eroding drug-releasing implants with ordered nanoporous and nanotubular structures: Concepts for controlling drug release. *Biomater. Sci.* **2**, 10–34 (2014).
78. Sáez, Virginia; Hernáez, Estíbaliz; López, L. Liberación controlada de fármacos. aplicaciones biomédicas. *Rev. Iberoam. Polímeros* **4**, 111–122 (2003).
79. Simon, A. P. *et al.* Enhancement of Mechanical Properties and Wettability of TiO₂NT Arrays Formed in Simulated Body Fluid-Based Electrolyte. *Adv. Eng. Mater.* **21**, 4–7 (2019).
80. Kokubo, T., Hata, K., Nakamura, T. & Yamamuro, T. *Apatite Formation on Ceramics, Metals and Polymers Induced by a CaO SiO₂ Based Glass in a Simulated Body Fluid.* *Bioceramics* vol. 4 (Butterworth-Heinemann Ltd, 1991).
81. Marangoni, R., Ramos, L. P. & Wypych, F. New multifunctional materials obtained by the intercalation of anionic dyes into layered zinc hydroxide nitrate

- followed by dispersion into poly(vinyl alcohol) (PVA). *J. Colloid Interface Sci.* **330**, 303–309 (2009).
82. Liu, J., Zhang, Y. & Zhang, X. Inorganic-organic nanohybrid materials of layered zinc hydroxide nitrate with intercalated salicylate: Preparation, characterization and UV-blocking properties. *Int. J. Nanosci.* **15**, 1–9 (2016).
 83. Ionita, D. *et al.* Activity of vancomycin release from bioinspired coatings of hydroxyapatite or TiO₂ nanotubes. *Int. J. Pharm.* **517**, 296–302 (2017).
 84. Campos, P. P. DESENVOLVIMENTO DE FILMES NANOESTRUTURADOS LAYER-BY-LAYER COM FOCO EM SISTEMAS DE MATERIAIS SENSÍVEIS A ESTÍMULOS. (Universidade Estadual Paulista, 2018).
 85. Macak, J. M. *et al.* TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* (2007) doi:10.1016/j.cossms.2007.08.004.
 86. Kokubo, T. & Takadama, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* **27**, 2907–2915 (2006).
 87. Kulkarni, M. *et al.* Titanium nanostructures for biomedical applications. *Nanotechnology* **26**, (2015).
 88. Brammer, K. S. *et al.* Improved bone-forming functionality on diameter-controlled TiO₂ nanotube surface. *Acta Biomater.* **5**, 3215–3223 (2009).
 89. Ghasemi, M. *et al.* In-situ electro-generation and activation of hydrogen peroxide using a CuFeNLDH-CNTs modified graphite cathode for degradation of cefazolin. *J. Environ. Manage.* **267**, 110629 (2020).
 90. C., O. G. Cochineal carmine adsorbed on layered zinc hydroxide salt with improved stability for application in cooked meat products. (2021).
 91. Moraes, S. B., Botan, R. & Lona, L. M. F. Synthesis and characterization of polystyrene/layered hydroxide salt nanocomposites. *Quim. Nova* **37**, 18–21 (2014).
 92. Stählin, W. & Oswald, H. R. The crystal structure of zinc hydroxide nitrate, Zn₅(OH)₈(NO₃)₂·2H₂O. *Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Crystallogr. Cryst. Chem.* **26**, 860–863 (1970).

93. Nakamoto K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds by Kazuo Nakamoto. (1986).
94. Hongo, T., Iemura, T., Satokawa, S. & Yamazaki, A. Chromate adsorption and pH buffering capacity of zinc hydroxy salts. *Appl. Clay Sci.* **48**, 455–459 (2010).
95. Furlanetto, S., Mura, P., Gratteri, P. & Pinzauti, S. Stability prediction of cefazolin sodium and cephaloridine in solid state. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **20**, 2299–2313 (1994).
96. Nayak, G., Kumar Trivedi, M., Branton, A., Trivedi, D. & Jana, S. Effect of the Consciousness Energy Healing Treatment on the Characteristic Properties of Cefazolin Sodium. *Adv. Biotechnol. Microbiol.* **13**, 1–6 (2019).
97. Boncel, S., Walczak, K. Z. & Koziol, K. K. K. Dynamics of capillary infiltration of liquids into a highly aligned multi-walled carbon nanotube film. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2**, 311–317 (2011).
98. SIMON, A. P.; SANTOS, V. A. Q.; RODRIGUES, A.; SANTOS, J. S.; TRIVINHO-STRIXINO, F.; PEREIRA, B. L.; LEPIENSKI, C. M.; SIKORA, M. S. Enhancement of Mechanical Properties and Wettability of TiO₂NT Arrays Formed in Simulated Body Fluid-Based Electrolyte. *Advanced Engineering Materials*, [S. l.], v. 21, n. 12, p. 4–7, 2019.