



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Maria Fernanda Reyes Buendia

**SÍNTESE VERDE DE NANO-HIDROXIAPATITA MEDIADA POR RAÍZES DE
EUCLEA NATALENSIS PARA APLICAÇÃO NA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO
ANTIMALÁRICO ARTEMISININA**

Florianópolis - SC

2024

Maria Fernanda Reyes Buendia

**SÍNTESE VERDE DE NANO-HIDROXIAPATITA MEDIADA POR RAÍZES DE
EUCLEA NATALENSIS PARA APLICAÇÃO NA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO
ANTIMALÁRICO ARTEMISININA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Natan Padoin

Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Cíntia Soares

Prof. Dr. Humberto Gracher Riella

Florianópolis - SC

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Buendia, Maria Fernanda Reyes

Síntese Verde de Nano-Hidroxiapatita Mediada por Raízes de *Euclea natalenses* para Aplicação na Liberação do Fármaco Antimalárico Artemisinina / Maria Fernanda Reyes Buendia ; orientador, Natan Padoin, coorientador, Cíntia Soares, coorientador, Humberto Gracher Riella, 2024.

96 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Nano-hidroxiapatita. 3. *Euclea natalensis*. 4. Artemisinina. 5. Liberação controlada. I. Padoin, Natan. II. Soares, Cíntia. III. Riella, Humberto Gracher IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. V. Título.

Maria Fernanda Reyes Buendia

**SÍNTESE VERDE DE NANO-HIDROXIAPATITA MEDIADA POR RAÍZES DE
EUCLEA NATALENSIS PARA APLICAÇÃO NA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO
ANTIMALÁRICO ARTEMISININA**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Gustavo Lopes Colpani
Universidade Comunitária da Região de Chapecó – UNOCHAPECÓ

Prof.^a Dr.^a Claudia Sayer
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia Química.

Prof.^a Débora de Oliveira, Dr.^a
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Prof. Natan Padoin, Dr.
Orientador

Florianópolis - SC, 2024

Este trabalho é dedicado aos meus pais, que sempre me apoiaram na distância, me aconselharam e foram meu motor, aos meus familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao universo pela oportunidade de vivenciar satisfatoriamente uma etapa da minha vida e por fazer parte de uma Universidade de excelência, pela qual tenho grande admiração.

À minha mãe, Amanda Buendia Obando, e ao meu pai, Javier Daniel Reyes Mendoza, que são meu motor, minha companhia e meus exemplos. Dedico a eles todo meu amor e gratidão, por sempre me incentivarem a escolher o que eu desejo na minha vida e ir atrás, pois uma vida sem objetivos é uma vida vazia.

A todos meus familiares e amigos que sempre torceram por mim e estiveram presentes na minha vida, além da ajuda na adaptação em um novo país com uma língua e cultura diferente, a troca de ideias, conceitos e vivências que contribuíram para meu crescimento pessoal.

Aos professores Natan Padoin, Cíntia Soares e Humberto Gracher Riella e ao pesquisador Lusitano Pier Macuvele pela orientação, paciência e aprendizado que agregaram na minha pesquisa.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, ao qual tive a oportunidade de ingressar e por todo o conhecimento obtido.

À toda equipe LabMAC, pela troca de ideias e pela ajuda na minha pesquisa.

À FAPESC, pelo incentivo financeiro.

Enfim, agradeço a todas as pessoas que, de certa forma, contribuíram para este trabalho e para conclusão desta etapa importante na minha vida.

“Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o que, com frequência,
poderíamos ganhar, por simples medo de arriscar.”

William Shakespeare.

RESUMO

Um dos três maiores problemas de saúde pública do mundo é a malária, com a maioria dos casos na África Subsaariana. Diversas estratégias têm sido utilizadas para combater a doença, tais como: vacinas, controle vetorial e administração de medicamentos. Nesta última estratégia, um dos medicamentos mais utilizados tem sido a artemisinina, da planta *Artemisia annua*. Porém, embora apresente propriedades farmacológicas, a artemisinina apresenta baixa solubilidade em água e óleo, baixa biodisponibilidade e sensibilidade em meios ácidos. Uma estratégia utilizada para mitigar esses problemas é a utilização de nanomateriais que cumpram a função de carregar, transportar e distribuir o medicamento nas condições desejadas. Nesse sentido, a hidroxiapatita, que pertence à família dos compostos de fosfato de cálcio, apresenta potencial devido à sua osteocondutividade, biocompatibilidade, possibilidade de sinergismo, não toxicidade, solubilidade em água, entre outras características relevantes. No presente trabalho, a nano-hidroxiapatita foi sintetizada utilizando a rota de precipitação com variação de três parâmetros: temperatura de reação (temperatura ambiente, 50 °C e 75 °C), taxa de gotejamento (0,5 mL/min, 1,0 mL/min e 1,5 mL/min) e quantidade de extrato de *Euclea natalensis* (zero, 1,20 g e 2,40 g), utilizado para modificação do nanomaterial visando modular a morfologia e a cinética de liberação do fármaco-alvo. Os materiais foram caracterizados por uma série de técnicas, incluindo: difração de raios X (XRD), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise de área superficial (BET) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Os resultados obtidos confirmam a síntese da hidroxiapatita com e sem *Euclea natalensis*. Observou-se a obtenção de uma estrutura mais esférica, que melhorou a capacidade de adsorção, morfologia e tamanho das partículas, com a utilização da substância modificadora. Adicionalmente, o material possui eficiência de carregamento de 44,9% e percentual de liberação de 48,19% em 26 h com os seguintes parâmetros: 1,20 g de *Euclea natalensis*, taxa de gotejamento de 1,5 mL/min e 50 °C na reação. Os resultados obtidos foram comparados com dados da literatura, observando-se um bom desempenho do sistema de liberação investigado neste estudo em relação aos trabalhos previamente reportados.

Palavras-Chave: Nano-hidroxiapatita. *Euclea natalensis*. Artemisinina. Liberação controlada.

ABSTRACT

One of the three major public health problems in the world is malaria, with most cases occurring in Sub-Saharan Africa. Various strategies have been employed to combat the disease, including vaccines, vector control, and drug administration. In the latter strategy, one of the most used drugs has been artemisinin, derived from the plant *Artemisia annua*. However, despite its pharmacological properties, artemisinin has low solubility in water and oil, low bioavailability, and sensitivity in acidic environments. One strategy used to mitigate these issues is the use of nanomaterials that serve to load, transport, and deliver the drug under desired conditions. In this context, hydroxyapatite, which belongs to the family of calcium phosphate compounds, shows potential due to its osteoconductivity, biocompatibility, potential for synergism, non-toxicity, water solubility, among other relevant characteristics. In the present study, nano-hydroxyapatite was synthesized using the precipitation method with variations in three parameters: reaction temperature (room temperature, 50°C, and 75°C), drip rate (0.5 mL/min, 1.0 mL/min, and 1.5 mL/min), and the amount of *Euclea natalensis* extract (zero, 1.20 g, and 2.40 g), used to modify the nanomaterial to modulate the morphology and release kinetics of the target drug. The materials were characterized using a series of techniques, including X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), surface area analysis (BET), and transmission electron microscopy (TEM). The results obtained confirm the synthesis of hydroxyapatite with and without *Euclea natalensis*. A more spherical structure, which improved adsorption capacity, morphology, and particle size, was observed with the use of the modifying substance. Additionally, the material showed a loading efficiency of 44.9% and a release percentage of 48.19% over 26 hours with the following parameters: 1.20 g of *Euclea natalensis*, a drip rate of 1.5 mL/min, and a reaction temperature of 50°C. The results obtained were compared with literature data, showing good performance of the drug delivery system investigated in this study compared to previously reported works.

Keywords: Nano-hydroxyapatite. *Euclea natalensis*. Artemisinin. Controlled release.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estratégias para combater a malária	23
Figura 2 - Estrutura de a) artemisinina, b) dihydroartemisinina, c) artemether, d) artesunate e e) arteether	31
Figura 3 – Propriedades farmacológicas da artemisinina.....	32
Figura 4 – Método de preparação e características estruturais dos lipossomas.....	36
Figura 5 – Vantagens dos feroides como sistema de entrega de medicamentos	37
Figura 6 – Estrutura dos dendrímeros	38
Figura 7 – Matérias-primas dos poliméricos	39
Figura 8 – Linha do tempo de micro/nano emulsões e suas vantagens.....	40
Figura 9 – Matérias-primas de lipídios sólidos	41
Figura 10 – Características do metal para aplicações biomédicas.....	42
Figura 11 – Características dos materiais à base de carbono	43
Figura 12 – Diferentes fontes de fósforo e cálcio na síntese de hidroxiapatita	44
Figura 13 - Processo de síntese da hidroxiapatita com e sem <i>Euclea natalensis</i>	55
Figura 14 - Quantificação de artemisinina nos processos de adsorção e liberação	61
Figura 15 - DSC de uma amostra inicial de hidroxiapatita não calcinada sem presença de <i>Euclea natalensis</i> com síntese a 50 °C e 1,0 mL/min.	67
Figura 16 - DRX com referência do cartão P-46056 da ICSD (a) H1, H1-C, H3, H3-C, H5, H5-C, H7, H7-C. (b) H2-EN, H2-C-EN, H4-EN, H4-C-N, H6-EN, H6-C-EN, H8-EN, H8-C-EM. (c) H9-EN, H9-C-EN, H10-EN, H10-C-EN, H11-EN, H11-C-EN	68
Figura 17 - FTIR da hidroxiapatita sem <i>Euclea natalensis</i> : (a) H1, H1-C, H3 e H3-C; (b) H5, H5-C, H7 e H7-C.....	71
Figura 18 - FTIR da hidroxiapatita com <i>Euclea natalensis</i> : (a) H2-EN, H2-C-EN, H4-EN e extrato; (b) H6-EN, H6-C-EN, H8-EN, H8-C-EN e extrato; (c) H9-EN, H9-C-EN, H10-C-EN, H11-EN, H11-C-EN e extrato; (d) H9-EN e H9-EN + Artemisinina	72
Figura 19 - Método BJH para H5, H5-C, H8-EN, H8-C-EN, H9-EN, H9-C-EN: (a) área de superfície, (b) tamanho dos poros, (c) volume de poro	77
Figura 20 - Imagens de MET da hidroxiapatita com e sem <i>Euclea natalensis</i> : (a) H2-EN, (b) H2-C-EN, (c) H5, (d) H5-C, (e) H8-EN, (f) H8-C-EN, (g) H9-EN, (h) H9-C-EN.....	80

Figura 21 - Imagens de MET (material aglomerado) da hidroxiapatita com e sem <i>Euclea natalensis</i> : (a) H2-EN, (b) H2-C-EN, (c) H5, (d) H5-C, (e) H8-EN, (f) H8-C-EN, (g) H9-EN, (h) H9-C-EN	81
Figura 22 - Eficiência de carregamento: (a) relação molar 1:2 artemisinina/hidroxiapatita em 24 h, (b) relação mássica 1:10 artemisinina/hidroxiapatita em 24 h	83
Figura 23 - Liberação cumulativa da artemisinina em H5 e H9-EN: (a) Tempo desde 0 min até 1560 min, (b) Tempo desde 0 min até 20 min.	85
Figura 24 - Modelo cinético para liberação de artemisinina: (a) Primeira ordem H9-EN, (b) Higuchi H9-EN, (c) Hixson-Crowell H9-EN	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alguns casos de administração maciça de medicamentos	28
Tabela 2 – Condições das etapas da síntese por precipitação química.....	44
Tabela 3 - Propriedades farmacológicas da <i>Euclea natalensis</i>	49
Tabela 4 - Variáveis do planejamento experimental e nomenclatura.....	56
Tabela 5 - Resumo dos ensaios preliminares de síntese de hidroxiapatita.....	65
Tabela 6 - Bandas características das amostras de hidroxiapatita sintetizadas	69
Tabela 7 - Variáveis de resposta do planejamento experimental	74
Tabela 8 - Análise de variância (ANOVA): modelo linear e quadrático	75
Tabela 9 - Resumo do modelo da Tabela 8	75
Tabela 10 - Comprimento médio (nm) por contagem no software Image J.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

BET – Técnica de caracterização de Brunauer, Emmett e Teller

BJH – Diâmetro médio dos poros pelo método Barret-Joyner-Halenda

BSV – Vacina contra a fase sanguínea

DDT – Dicloro-difenil-tricloroetano

DRX – Difração de raios X

DSC – Calorimetria de varrimento diferencial

FTIR – Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

LabMAC – Laboratório de Materiais e Computação Científica

MET – Microscopia Eletrônica de Transmissão

nHA – Nano-hidroxiapatita

PBS – Solução salina tamponada com fosfato

PEV – Vacina pré-eritrocítica

PLA – poli-(ácido lático)

TBV – Vacina de bloqueio de transmissão

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

WSV – Vacina contra os esporozoítos inteiros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 OBJETIVOS	20
1.1.1 Objetivo Geral	20
1.1.2 Objetivos Específicos	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 MALÁRIA	22
2.1.1 Estratégias e metas para combater a malária.....	23
2.1.1.1 Vacinas	23
2.1.1.2 Controle de vetores	24
2.1.1.2.1 Rede tratada com inseticida.....	25
2.1.1.2.2 O spray residual em interiores.....	25
2.1.1.2.3 Administração de medicamentos em massa.....	26
2.2 ARTEMISININA.....	30
2.2.1 Propriedades da Artemisinina	31
2.2.2 Futuro da Artemisinina.....	33
2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO BASEADOS EM NANOMATERIAIS PARA FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS OU ARTEMISININA E SEUS DERIVADOS	33
2.3.1 Lipossomas	34
2.3.2 Feroides	36
2.3.3 Dendrímeros	37
2.3.4 Poliméricos.....	38
2.3.5 Micro/Nano emulsões.....	39
2.3.6 Nanopartículas de lipídios sólidos.....	40

2.3.7 Nanomateriais metálicos	41
2.3.8 Nanomateriais à base de carbono	42
2.4 HIDROXIAPATITA	43
2.4.1 Métodos de síntese	43
2.4.1.1 <i>Precipitação química</i>	44
2.4.1.2 <i>Sol-Gel</i>	45
2.4.1.3 <i>Hidrotermal</i>	46
2.4.1.4 <i>Síntese verde</i>	46
2.4.2 Propriedades e aplicações.....	47
2.5 EUCLEA NATALENSIS.....	48
2.6 ADSORÇÃO	50
2.7 MODELOS CINÉTICOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS.....	51
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
3.1 MATERIAIS DE PARTIDA	53
3.2 SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA	53
3.2.1 Obtenção do extrato de <i>Euclea natalensis</i>	53
3.2.2 Síntese de hidroxiapatita sem <i>Euclea natalensis</i>	54
3.2.3 Síntese de hidroxiapatita com <i>Euclea natalensis</i> como modificador....	55
3.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	56
3.6 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	57
3.6.1 Comportamento térmico - análise preliminar por DSC	57
3.6.2 Difração de raios X.....	57
3.6.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	58
3.6.4 Área superficial, diâmetro médio de poro e volume dos poros.....	59
3.6.5 Microscopia eletrônica de transmissão.....	59

3.7 APLICAÇÃO.....	60
3.7.1 Detecção de artemisinina.....	60
3.7.2 Carregamento da artemisinina na hidroxiapatita.....	61
3.7.3 Liberação da artemisinina em PBS 1X.....	62
4.1 ENSAIOS PRELIMINARES	63
4.1.1 Comportamento térmico.....	63
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA	67
4.2.1 Difração de raios X.....	67
4.2.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 69	
4.2.3 Tamanho de cristalito através da equação de Scherrer.....	73
4.2.4 Análise estatística dos parâmetros.....	74
4.2.5 Área superficial, diâmetro médio de poro e volume dos poros.....	76
4.2.6 Microscopia eletrônica de transmissão – MET	77
4.3 APLICAÇÃO.....	82
4.3.1 Carregamento da artemisinina nas amostras de hidroxiapatita	82
4.3.2 Estudo de liberação da artemisinina em PBS 1X	84

1 INTRODUÇÃO

A hidroxiapatita pertence à família dos compostos de fosfato de cálcio, com uma razão molar Ca/P = 1,67 e fórmula química $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. É comumente encontrada no corpo humano por ser constituinte de ossos e dentes (AFRIANI et al., [s.d.]). Além disso, é osteo-condutora e osteo-indutora, podendo ser utilizada como liberador de fármacos em infecções ósseas e tumores malignos (VEERLA et al., 2019). Possui estrutura cristalina monoclinica ou hexagonal com parâmetros de rede: $a = b = 9,432 \text{ \AA}$, $c = 6,881 \text{ \AA}$ and $\gamma = 120^\circ$ (AFRIANI et al., [s.d.]).

Pode ser sintetizada por diferentes métodos, como precipitação química, sol-gel, hidrotérmico, metátese, pulverização de plasma, combustão e sinterização de partículas. Tais rotas podem ser classificadas em seca, úmida e de alta temperatura, gerando diferenças na morfologia, tamanho, porosidade e cristalinidade (AFRIANI et al., [s.d.]; CHANDANSHIVE et al., 2013; MELGAR et al., 2021; VEERLA et al., 2019). Para a rota úmida que será usada, comumente adiciona-se modificadores orgânicos e macromoléculas como cetil trimetilo (CTAB), polietilenoglicol (PEG), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), etalonamina ou ácido cítrico (MELGAR et al., 2021). Porém, nesta pesquisa se propõe uma rota verde usando como modificador a *Euclea natalensis*.

A hidroxiapatita é biocompatível com o corpo humano, possui elevada afinidade de ligação para substâncias farmacológicas pelo seu carácter poroso, apresenta boa perspectiva como transportador de fármacos - pela sua capacidade de adsorção (tendo uma vantagem na forma nanométrica por troca iônica) -, tem grande eficácia e não é tóxica. Além disso, apresenta características importantes quanto à cristalinidade, solubilidade, morfologia (sendo uma vantagem a microesfera pela maior interação entre a superfície e a molécula do fármaco), liberação prolongada (dependendo do método de preparação e do material de partida para a síntese). Sua possível resposta terapêutica resulta de sinergismo com alguns fármacos, fácil modificação e superfície extremamente ativa (FARKAS et al., 2023; VERMA et al., 2023), tornando-a promissora para utilização como carregador de fármacos com a possibilidade de mitigar a baixa biodisponibilidade, a sensibilidade dos fármacos em meios ácidos ou básico e a pouca solubilidade em água.

Nesta investigação, o fármaco de interesse é a artemisinina - isolada em 1971 após uma profunda investigação iniciada em 1967 a partir de fontes cultivadas na China (FENG et al., 2020; WOERDENBAG; LUGT; PRAS, [s.d.]) -. Trata-se de um composto ativo antimalárico da *Artemisia annua* (FENG et al., 2020), com estrutura de uma lactona sesquiterpênica com uma ponte de peróxido (EKIERT et al., 2021) que age contra a doença, um dos três principais problemas de saúde pública no mundo com a maior quantidade de casos na África subsaariana (NADIA; LU, 2022) - mesmo com a diminuição entre 2000 e 2015 de 22% nos casos e 50% nas mortes relacionadas (EFFIONG F.B, 2022) -.

Um importante problema no combate à malária é a sua facilidade de mutação, ocasionando uma elevada resistência aos medicamentos (GUJJARI et al., 2022), em função de diferentes fatores como a taxa de mutação dos parasitas, a carga parasitária global, a seleção de medicamentos, a adesão ao tratamento, entre outros (GARG et al., 2020). Devido a essa resistência, ao seu ciclo de vida complexo, ao mecanismo de evasão das respostas imunitárias e a outros fatores, desenvolveram-se estratégias para tratar os desafios atuais como: campanhas de vacinação, controle de vetores - incluindo dois tipos: rede tratada com inseticida e o *spray* residual de interiores (ADEBISI Y.A, 2022) - e administração maciça de medicamentos.

Conhecido como o principal fármaco no combate à malária, a artemisinina apresenta algumas dificuldades de manuseio, como sensibilidade em meios ácidos ou básicos, sensibilidade térmica (WOERDENBAG; LUGT; PRAS, [s.d.]), desenvolvimento de resistência no corpo humano, baixa solubilidade em água e óleo, hidrofobicidade em metabolismo rápido, relativamente baixa biodisponibilidade (cerca de 40%) quando administrada por via oral e baixo tempo de circulação no corpo humano (D’ALESSANDRO et al., 2020).

Assim, usando materiais como carregadores e sistemas de liberação é possível aumentar a efetividade da administração de artemisinina. Dentre eles, os nanomateriais têm ganhado importância pelo aumento de área superficial - que permite carregar maiores quantidades de fármaco -, pela melhoria do alvo - pois visam especificamente células ou tecidos, reduzindo efeitos negativos e aumentando a eficácia -, pela capacidade de liberação controlada e pela capacidade de proteção (HUH; KWON, 2011; NEVES BORGHETTI-CARDOSO et al., 2020).

Uma importante característica neste contexto é a morfologia do nanomaterial, com impacto na liberação controlada de medicamentos, particularmente no ritmo e na duração da liberação (FARKAS et al., 2023; VEERLA et al., 2019). No caso específico da hidroxiapatita, as partículas esféricas têm uma área de superfície significativa e uma estrutura de poros com extensão substancial, o que resulta em uma elevada capacidade de carga de fármacos (MELGAR AGUILAR et al., 2021). Portanto, será utilizado o extrato de *Euclea natalensis*, pois contém naftoquinonas e terpenos que contribuem para a redução do cálcio na síntese, favorecendo uma morfologia mais esférica e facilitando a formação de partículas menores (VIANA DA SILVA et al., 2019). É fundamental lembrar que as características do fármaco a ser administrado, o tecido alvo e o perfil de liberação pretendido devem ser levados em consideração ao escolher um determinado sistema de liberação (MYRICK; VENDRA; KRISHNAN, 2014; NEVES BORGHETI-CARDOSO et al., 2020).

Sendo assim, este estudo visou a síntese de hidroxiapatita com modulação de morfologia e tamanho de partícula - utilizando a rota de precipitação química, com avaliação do efeito da temperatura de síntese (temperatura ambiente, 50 °C e 75 °C), da taxa de gotejamento da fonte de fósforo (0,5 mL/min, 1,0 mL/min e 1,5 mL/min) e da quantidade de *Euclea natalensis* (zero, 1,20 g e 2,40 g) no desempenho do processo. Tomou-se como referência o estudo conduzido por Melgar Aguilar et al. (2021) e ensaios preliminares. Além disso, o material foi detalhadamente caracterizado e investigou-se sua capacidade de carregamento e liberação de artemisinina em condições fisiológicas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Investigar o potencial da nano-hidroxiapatita sintetizada por precipitação química a partir da rota verde como carregador de artemisinina e avaliar o modelo cinético de liberação do fármaco em PBS 1X 7,4 pH.

1.1.2 Objetivos Específicos

Para atender o objetivo geral proposto, esta investigação pautou-se nos seguintes objetivos específicos:

- Investigar se a temperatura de síntese, a quantidade de extrato de raízes de *Euclea natalensis* e a taxa de gotejamento exercem influência sobre a morfologia, o tamanho e as características físico-químicas do material sintetizado.
- Avaliar se o material sintetizado é efetivo como carregador de artemisinina, mediante sua caracterização (tamanho de partícula, morfologia de partícula, porosidade, tamanho de poro, área superficial e grupos funcionais) e avaliação do efeito das diferentes condições no processo de síntese.
- Avaliar se a liberação controlada de artemisinina a partir do nanomaterial funcionalizado (obtido em diferentes condições de processo) segue modelos cinéticos clássicos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo estão apresentados os principais tópicos necessários para o entendimento do trabalho desenvolvido com base na literatura. Assim, realizou-se um estudo sobre o contexto geral da malária, as propriedades da artemisinina, sistemas de liberação baseados em nanomateriais para fármacos antimaláricos ou artemisinina e seus derivados, propriedades e métodos de síntese da hidroxiapatita, propriedades da *Euclea natalensis*, princípios básicos da adsorção e modelos cinéticos de liberação de fármacos.

2.1 MALÁRIA

A malária é causada pela picada do mosquito fêmea anófeles. O mecanismo de desenvolvimento da doença necessita de dois hóspedes (mosquito e ser humano). Inicialmente, um mosquito infetado inocula esporozoítos na corrente sanguínea humana que migram para o fígado em cerca de 40 h a 48 h. No entanto, os primeiros sintomas podem surgir em 14 h. Conseqüentemente, os esporozoítos farão um processo de maturação em 78 h, aproximadamente, posteriormente liberando merozoítos haploides que invadem as proteínas através dos receptores específicos dos eritrócitos, causando uma nova invasão na corrente sanguínea e convertendo alguns glóbulos vermelhos em macrogametócitos que farão a reprodução sexuada da doença (GUJJARI et al., 2022).

A primeira problemática da doença é a sua facilidade de mutação, ocasionando uma elevada resistência aos medicamentos (GUJJARI et al., 2022). Devido a essa resistência, ao seu ciclo de vida complexo e ao mecanismo de evasão das respostas imunitárias, o desenvolvimento de uma vacina apresenta desafios. No entanto, alguns candidatos obtiveram uma avaliação de fase II em voluntários humanos que se situa entre a imunidade adquirida natural e a imunidade induzida pela vacina (ADITYA et al., 2013). Além disso, um caso foi registrado na fase IV, sendo a vacina pré-eritrocitária com subunidade como um tipo de imunogênico (EFFIONG F.B, 2022).

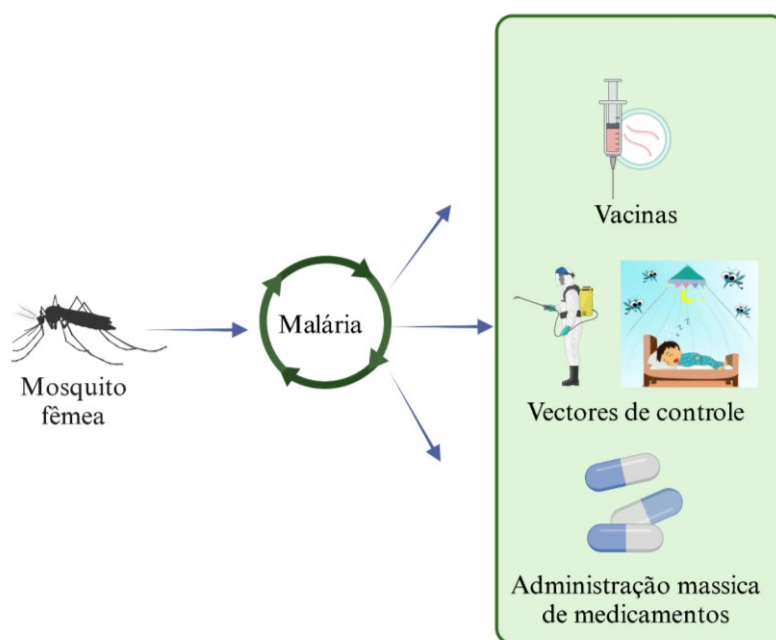
A temperatura é um fator que influencia a forma como a doença se propaga. Como resultado, o vetor da malária prefere climas quentes e úmidos. A concentração da malária é influenciada por mudanças transitórias de temperatura que ocorrem ao longo das estações

(NGONGHALA, 2023). No entanto, algumas estratégias foram utilizadas para tratar, combater e erradicar a doença.

2.1.1 Estratégias e metas para combater a malária

Entre as estratégias para combater a malária estão: vacinação, controle de vetores e administração de medicamentos em massa (veja a Figura 1).

Figura 1 - Estratégias para combater a malária



Fonte: elaborado pela autora (2024)

2.1.1.1 Vacinas

A vacina pré-eritrocítica (PEV), a vacina contra os esporozoítos inteiros (WSV), a vacina contra a fase sanguínea (BSV), a vacina contra a malária placentária (PMV) e a vacina de bloqueio da transmissão (TBV) são algumas das candidatas contra a malária, as quais dependem da fase do ciclo de vida em que atuam e se encontram em diferentes etapas, respectivamente: pré-clínico, fase 1, fase ½, fase 2 e fase 4 (EFFIONG F.B, 2022).

Cerca de 55% dos casos estão concentrados na África Subsaariana, principalmente na Nigéria e na República Democrática do Congo, com 27% e 12% dos casos, respectivamente. Políticas econômicas inadequadas, que geram condições de pobreza favoráveis à reprodução dos vetores (mosquitos), e características climáticas tropicais - com precipitação abundante e temperaturas elevadas que facilitam a propagação da malária - contribuem com mais de 90% de todas as mortes relacionadas com a doença nessa região (ADEBISI Y.A, 2022). Portanto, as estratégias de vacinação concentram-se naturalmente nessa área.

As campanhas de vacinação na Nigéria enfrentaram diferentes desafios mediados por condições sociais, econômicas e ambientais, tais como receio de efeitos adversos da vacina. Um exemplo claro foram as crenças de que a vacina contra a Covid-19 torna os homens estéreis, contém microchips de rastreamento implantados ou até causa a morte (EFFIONG F.B, 2022). A vacina na fase 4, chamada vacina contra a malária RTS,S, com um custo estimado em seis países africanos em um intervalo de 26,11 a 28,28 dólares por criança totalmente vacinada, tem uma eficácia de prevenção de 98,3% em bebês com idades compreendidas entre 6 e 12 semanas, com um acompanhamento de 38 meses.

Um fator limitante para o sucesso das estratégias de vacinação na região é a necessidade de uma infraestrutura de ensaio que incorpora a capacidade humana e logística para cumprir com a conferência internacional sobre a harmonização das normas de boas práticas clínicas, envolvendo meios para assegurar uma população estável nos ensaios e garantir um acompanhamento eficiente (YEETEY; OWUSU-AGYEI; ASANTE, 2016). Além disso, há que se ressaltar como fator limitante a insuficiente produção local de matérias-primas de ingredientes farmacêuticos ativos, obrigando a dependência a países estrangeiros e resultando em um aumento do preço da vacina (ADEBISI Y.A, 2022). Há ainda que se levar em consideração a necessidade de manutenção da temperatura do sistema de cadeia de frio entre 2 °C e 8 °C para evitar alterações na qualidade da vacina em ambiente tropical (YEETEY; OWUSU-AGYEI; ASANTE, 2016).

2.1.1.2 Controle de vetores

Os vetores de controle incluem dois tipos: rede tratada com inseticida e o *spray* residual em interiores (ADEBISI Y.A., 2022).

2.1.1.2.1 Rede tratada com inseticida

É utilizada como a ferramenta principal para prevenir a malária, minimizando a possibilidade de contato entre o mosquito e o ser humano. Com um aumento significativo do percentual da população com acesso a redes tratadas com inseticidas, com mais de 67% em 2015 em comparação com menos de 2% em 2000, evitou-se mais de 350.000 mortes em crianças com menos de cinco anos em 40 países da África Subsaariana (ADEBISI Y.A, 2022). Contribuiu-se, assim, para uma redução de mais de dois terços de casos desde 2000 nessa região (WISNIEWSKI et al., 2019).

As campanhas em massa conseguem distribuir gratuitamente mosquiteiros tratados com inseticida de três em três anos às populações em geral, especialmente a grupos biologicamente vulneráveis como mulheres grávidas e bebês (WISNIEWSKI et al., 2019). Na África Subsaariana, o custo médio é de 3,87 dólares por unidade distribuída em campanha de massa, 4,69 dólares por dose de acesso contínuo, 50 dólares por ano por vida em que se evita a incapacidade e 117 dólares por caso de prevenção da malária (WISNIEWSKI et al., 2019).

Um desafio a esta estratégia é a utilização das redes tratadas com inseticida ou apenas redes de mosquitos na pesca. Esta prática tem sido notada na região da África Subsaariana, nações do Oceano Índico e Madagascar e acontece porque o tamanho da malha geralmente é inferior a 3 mm, permitindo-lhes pescar pequenos peixes sem necessitar habilidade, conhecimento, embarcações e investimento de capital. Por outro lado, as mulheres têm a possibilidade de acesso à pesca quebrando a barreira cultural (SHORT R., 2018). Faz-se necessário substituir a rede após a vida útil. No entanto, isso não ocorre na maioria dos casos, afetando a eficácia da técnica com o tempo (NGONGHALA, 2023).

2.1.1.2.2 O spray residual em interiores

O seu mecanismo de ação envolve a aplicação de inseticidas nas superfícies para matar os mosquitos adultos vetores (ADEBISI Y.A, 2022). Sua efetividade depende de uma aplicação de alta qualidade, bem cronometrada e de alta cobertura, exigindo equipamento

bem conservado, pessoal altamente qualificado, apoio logístico eficiente, comunidades acessíveis e aceitação. Nos países subsaarianos que contam com um sistema de saúde descentralizado e integrado, isso representa um desafio (KOLACZINSKI et al., 2007). Ainda assim, essa é a principal estratégia de controle da malária na África do Sul desde 1945, sendo incluída em 42 países africanos como programa nacional de controle da doença, principalmente usando dicloro-difenil-tricloroetano - conhecido como DDT (BATH et al., 2021).

Nos últimos anos, a técnica de spray residual de interiores orientada tornou-se uma outra estratégia interessante no combate à malária. Suas vantagens em relação ao spray residual de interiores são: a pulverização de menor quantidade de estruturas, a utilização de menos inseticida e o transporte e o equipamento mais baratos. Isso resulta em uma redução de 52% nos custos anuais, o que representa uma oportunidade para aumentar a eficiência dos programas de controle da malária (BATH et al., 2021).

No entanto, as redes tratadas com inseticida e o spray residual em interiores são afetados pela resistência aos inseticidas, que é causada pela redução da sensibilidade do sistema nervoso dos mosquitos. 80% dos países foram incluídos entre as nações (88 no total) com resistência aos piretróides de 2010 a 2020 (RAGHAVENDRA et al., 2022; SODERLUND et al., 2002).

Seu mecanismo de atuação é a modificação da cinética dos canais de sódio sensíveis à voltagem (SODERLUND et al., 2002). Mosquitos antropofágicos podem, também, buscar parte da alimentação em animais, mantendo a densidade populacional do vetor mesmo que esses animais não sejam reservatórios da doença. Neste contexto, o comportamento zoofágico causado pelo grande uso de redes tratadas com inseticidas e o spray residual em ambientes fechados aumenta (RUIZ-CASTILLO et al., 2021).

2.1.1.2.3 Administração de medicamentos em massa

A administração de medicamentos em massa consiste em aplicar a uma população específica um medicamento terapêutico completo contra uma doença específica. Desde o final da Segunda Guerra Mundial essa estratégia tem sido um elemento para controlar e eliminar a malária, a filariose linfática, a oncocercose, a esquistossomose, dentre outras

doenças (NADIA; LU, 2022). A China lançou um plano nacional, em 2010, com o objetivo de eliminar a malária em 2020, obtendo um certificado de ausência de malária pela organização mundial de saúde em 2021 (NADIA; LU, 2022). Outras experiências com a administração maciça de medicamentos na Tabela 1.

A mitigação na China foi mediada por diferentes componentes, tais como mudanças socioeconômicas, urbanização e programas de controle da malária, incluindo a participação da comunidade, investigadores e pessoal técnico em instituições de investigação que promovem a diminuição da transmissão da malária (NADIA; LU, 2022). Outros países ou regiões do mundo não têm esses componentes, sendo um desafio obter resultados semelhantes. Outros desafios são: a presença dos indivíduos nos programas de controle da malária em casa no momento da distribuição dos medicamentos, a recusa da comunidade em tomar os medicamentos associada a crenças culturais - sendo necessária uma cobertura de tratamento superior a 80% para ser eficaz -, recursos e fundos suficientes para assegurar a continuidade das atividades, além da minimização dos efeitos secundários (NADIA; LU, 2022).

Tabela 1 - Alguns casos de administração maciça de medicamentos

Vetor	Ano	Região	Fármaco	Administração	Resultado
<i>P. vivax</i> e <i>P. ovale</i>	1973 a 1983	Jiangsu (China)	Pirimetamina e Primaquina	Administração sazonal em massa antes do período de carga elevada	Elevado declínio da transmissão de <i>P. vivax</i>
<i>P. falciparum</i> e <i>P. vivax</i>	1962 a 1964	Índia	Pirimetamina e cloroquina	Primaquina durante 5 dias e cloroquina em dose única durante 4 dias, ao longo de 2 anos, com o spray residual interior como medida adicional	Controle da eclosão e redução da taxa de parasitas para zero
<i>P. falciparum</i>	1961 a 1963	Malásia	Cloroquina e Pirimetamina	Ambos mensais durante 31 meses	A prevalência do parasita chegou a zero em Orang Asli e a transmissão foi interrompida na Faixa Costeira
<i>P. falciparum</i> , <i>P. vivax</i> e <i>P. malária</i>	2003 a 2004	Camboja	Artemisinina e Pirimetamina	Dose baixa para 3.563 indivíduos de 17 aldeias da província de Kampong Speu	A taxa média total de parasitas diminuiu de 52,3% para 2,6%, apresentando diferenças na redução em cada aldeia
<i>P. falciparum</i> e <i>P. vivax</i>	1960	Lago Bunyonyi (Uganda)	Cloroquina e Pirimetamina	2 doses de ambos os medicamentos em um intervalo de 6 meses, com o spray residual interior como medida adicional	A transmissão foi interrompida na zona alvo

<i>P. falciparum</i> e <i>Anopheles gambiae s.l.</i>	1969 a 1979	Zona de savana do Sudão no norte da Nigéria	Propoux, Sulfalene, Cloroquina, Pirimetamina e larvicida com temefós	Diferentes combinações: 1) spray residual com propoux 2) combinação 1) com sulfaleno e pirimetamina em frequências diferentes 3) cloroquina em 4 doses de 5 em 5 semanas para crianças com menos de 10 anos 4) larvicida com efós na estação com chuva	Permaneceu o nível mínimo para manter o <i>P. falciparum</i> endêmico e o <i>Anopheles gambiae s.l.</i> continuava transmitindo a malária
<i>P. falciparum</i> e <i>P. vivax</i>	2007	Comores	Artemisinina e Piperaquina	1 ou 2 doses, dependendo da taxa de transporte do parasita. Se essa for inferior a 10%, 1 dose. A segunda dose foi administrada após 42 dias sem controle do vetor	A taxa média de transporte de parasitas baixou de 22,95% para 0,33%
<i>P. falciparum</i> e <i>P. vivax</i>	2013	Grande ilha Comoro	Artemisinina e Piperaquina	1 ou 2 doses, dependendo da taxa de transporte do parasita. Se essa for inferior a 10%, 1 dose. A segunda dose foi administrada após 42 dias com redes mosquiteiras inseticidas de longa duração e o spray residual interior	A incidência de casos de malária diminuiu de 109,4 em 2011 para 5,47 em 2014

Fonte: a autora (2024). Adaptado de Nadia J, 2022.

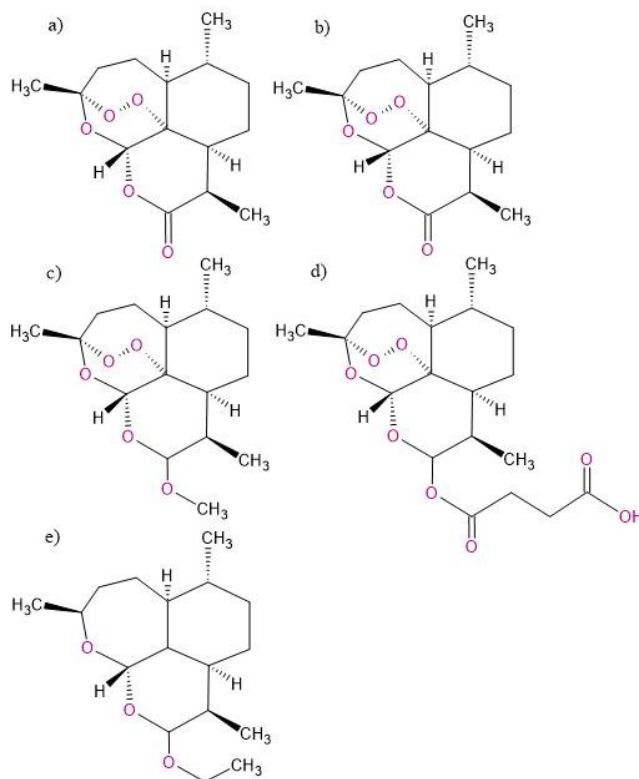
2.2 ARTEMISININA

O composto ativo antimalárico da *Artemisia annua* é denominado artemisinina (FENG et al., 2020; WOERDENBAG; LUGT; PRAS, [s.d.]). Sua estrutura é composta por uma lactona sesquiterpênica com uma ponte de peróxido, presente na *Artemisia annua* em faixas de 0,01 a 1,50 % de concentração em massa seca (EKIERT et al., 2021). Atua contra o *Plasmodium*, parasitas da malária resistentes à cloroquina e quinina (DAS, 2012). Possui um pKa com valor negativo de -4,4. É, portanto, uma substância moderadamente ácida e metade das suas moléculas estarão protonadas - com base nas propriedades preditas por Chemaxon -.

A *Artemisia annua* foi cultivada na China e foi utilizada para tratar muitos tipos de doenças que incluíam sintomas como febre, dor de cabeça, inflamação muscular, vômito, feridas, sarna, convulsão aguda, dor e hemorroidas (FENG et al., 2020).

Existem quatro derivados da *Artemisia annua* (Figura 2), sendo a artemisinina mais barata do que os outros três derivados - entre 180 e 420 dólares por quilograma, em vez de 3.500 dólares por quilograma para a dihidroartemisinina (IBRAHIM et al., 2015) -.

Figura 2 - Estrutura de a) artemisinina, b) dihydroartemisinina, c) artemether, d) artesunate e e) arteether



Fonte: elaborado pela autora (2024)

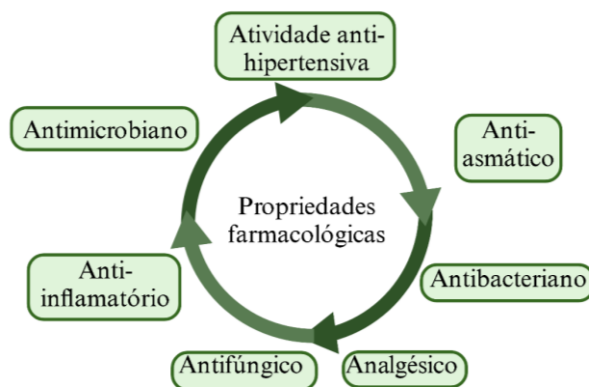
2.2.1 Propriedades da Artemisinina

A *Artemisia annua* possui propriedades farmacológicas (Figura 3), como: atividade anti-hipertensiva que previne a elevação do nível de hemoglobina glicosilada; também tem hipolipose e efeito protetor contra a perda de peso de animais diabéticos (DAS, 2012); atividade antimicrobiana, antibacteriana e antifúngica, através da penetração dos componentes do óleo essencial na membrana celular, causando disfunção celular e ocasionando maior permeabilidade contra *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes*; o óleo essencial também pode inibir a penetração do microrganismo no organismo hospedeiro, prevenindo a adesão de células microbianas e inibindo a expressão de hemolisina, gelatinase, desoxirribonuclease, lipases e lecitinase em *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* (DAS, 2012; EKIERT et al., 2021).

Sua atividade anti-inflamatória é relatada em extratos etanoicos e aquosos em modelos de doenças inflamatórias. O mecanismo é atribuído à inibição da proteína quinase ativada por mitógeno, NF-kB e expressão de TLR9, atividade induzida por calcitriol do CYP3A4 e atividade induzida por benz- α -pireno (EKIERT et al., 2021; FENG et al., 2020). Também reduziu a secreção de citocinas pró-inflamatórias pela presença de ácido e flavonoides isolados - com efeitos anti-inflamatórios conhecidos em modelos de ratos (FENG et al., 2020). Tais flavonoides têm também propriedades anticancerígenas: podem induzir a apoptose celular contra o câncer da mama, da bexiga, do cólon, do pulmão e do ovário (FENG et al., 2020) e inibir a viabilidade de algumas linhagens de células mamárias, como MDA-MB-231, MCF7, linha celular NSCLC A549, linha celular de câncer pancreático MIA PaCa-2 e linha celular de carcinoma de próstata PC-3, com concentração inibitória semi-máxima (IC₅₀) de 11,6 μ M, 36,4 μ M, 7,3 μ M, 35,6 μ M e 40,8 μ M, respectivamente (FENG et al., 2020).

A imunoregulação e a atividade imunossupressora foram observadas em Hangzhou por extrato etanoico após a indução de Concanavalina A e lipopolissacarídeo, ocasionando a proliferação de linfócitos e a supressão de alguns anticorpos como IgG, IgG1 e IgG2b no soro (EKIERT et al., 2021). Os efeitos analgésicos foram avaliados na Sérvia, reduzindo em 57% os episódios de contorção após a administração do óleo essencial na dose de 400 mg/kg (EKIERT et al., 2021) e atividade antiasmática com extrato de clorofórmio que inibe o alto k^+ , que induz a contração com $IC_{50} = 0,316 \text{ mg/mL}$ (FENG et al., 2020).

Figura 3 – Propriedades farmacológicas da artemisinina



Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.2.2 Futuro da Artemisinina

Um desafio nos últimos anos consiste em compreender como está relacionada a natureza não canônica e as vias celulares e metabólicas na resistência à artemisinina, dando especial atenção à componente da resposta ao stress, à dinâmica da tradução, aos ligantes moleculares e à interação dinâmica (TALMAN et al., [s.d.]). A identificação de alvos de fármacos tem sido estudada para compreender o potencial da artemisinina como fármaco antimalárico. Alguns métodos comumente empregados neste contexto são a radiomarcagem e o alvo proteico baseado em gel, com utilização de semelhança estrutural, de modelos de levedura e de proteômica química para varredura e identificação (YANG et al., 2020) dos alvos.

A artemisinina também está sendo estudada para o tratamento de outras infecções virais, como o VIH, o vírus da dengue, o vírus Chikungunya e o vírus Ebola (D'ALESSANDRO et al., 2020). Também é um medicamento potencial para o tratamento e prevenção da doença de Alzheimer, pois melhora a capacidade cognitiva e as funções neuronais, reduzindo o estresse oxidativo e a deposição de placas A β , além de reverter a fosforilação da via ERK/CREB em camundongos com Alzheimer induzidos por 3xTg (ZHAO et al., 2019). Além disso, poderia ter efeitos protetores com sinergismo com hidroxicloroquina, pois poderia impedir a produção de proteína na urina e inibir a deposição de IgG, C3 e IgA no mesangium glomerular, resultando em melhora na disfunção renal em ratos modelo IgAN (BAI et al., 2019).

2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO BASEADOS EM NANOMATERIAIS PARA FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS OU ARTEMISININA E SEUS DERIVADOS

Para melhorar a biodisponibilidade da artemisinina e de outras partículas hidrofóbicas no corpo humano, uma possibilidade é aumentar o tempo de circulação e, conseqüentemente, ter mais quantidade do fármaco no corpo, pois, se os fármacos hidrofóbicos ficam pouco tempo no plasma estes são eliminados, sendo rapidamente biotransformados por oxidação, redução e hidrólise (MYRICK; VENDRA; KRISHNAN,

2014). Para aumentar o tempo de circulação, existe a opção de utilizar carregadores, que são materiais com alta área superficial que permitem carregar fármacos.

Esses materiais devem ter características específicas para cada situação. No entanto, é muito importante estudar a interação entre o grupo funcional do transportador e o grupo funcional do fármaco para entender seu efeito sobre a biodisponibilidade (PISOSCHI et al., 2018), dentre outras características importantes como: atividade de sinergismo, capacidade de carga, propriedades do mecanismo, tempo de entrega, citotoxicidade, toxicidade, etc. (HU; MA; WANG, 2022). Nos últimos anos, os nanomateriais têm sido fortemente estudados por sua alta capacidade de aumentar a carga útil dos medicamentos e melhorar a entrega de medicamentos direcionados devido às suas propriedades físico-químicas, como composição química, tamanho, forma, carga superficial e capacidade de ligação a proteínas, além de alterar a resposta imune (WANG et al., 2022). Além disso, melhoraram a adsorção, distribuição, metabolismo e excreção produzindo um aumento na potência terapêutica (ADITYA et al., 2013).

As principais vantagens do uso de nanomateriais como sistema liberador são: a redução da dose do fármaco – combatendo, assim, a principal causa da resistência aos fármacos -, redução dos efeitos colaterais, proteção à degradação extracelular, aumento da eficácia e diminuição do custo devido à necessidade de menos fármaco para atuar contra a doença (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016; PUTTAPPA et al., 2019). Destaca-se, ainda, o direcionamento, seja passivo ou ativo.

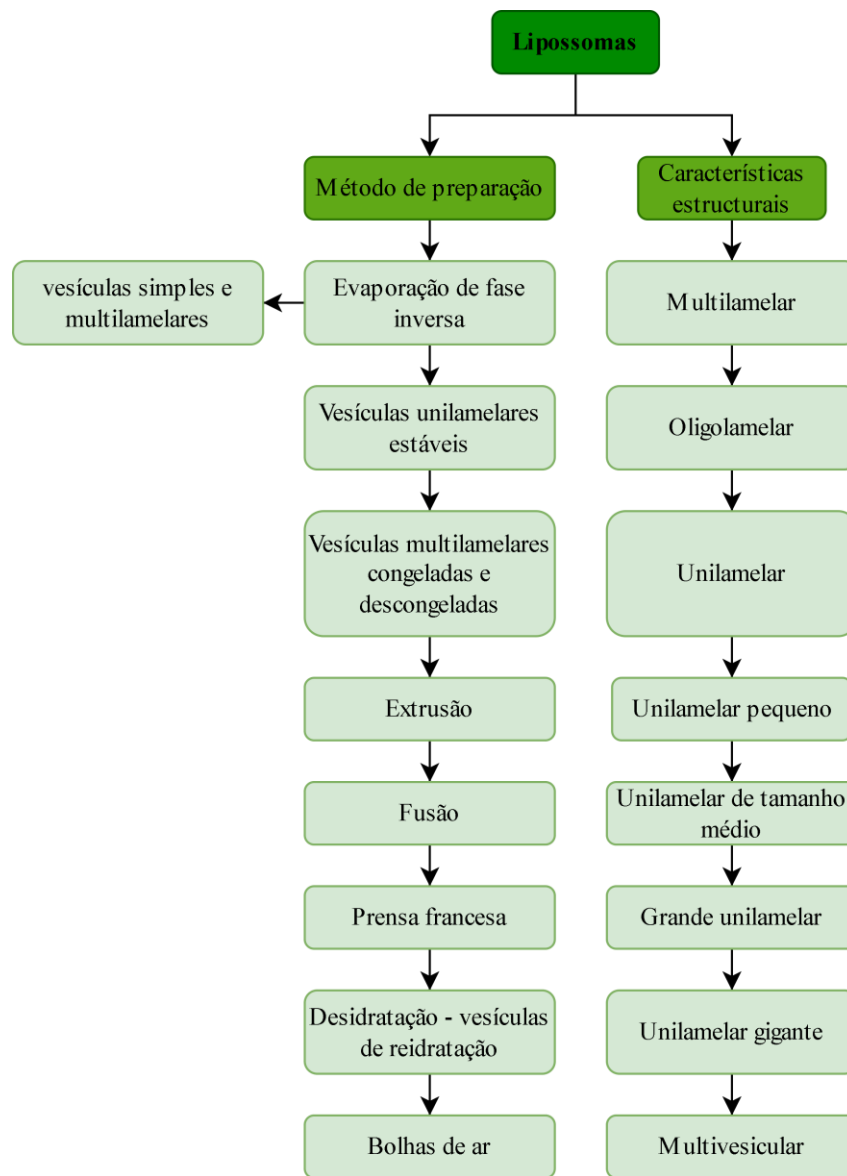
2.3.1 Lipossomas

Estes são definidos como nanomateriais biológicos com estrutura microscópica formatada por um núcleo aquoso com carácter polar e um sistema vesicular fosfolipídico bicamada que solubiliza moléculas lipofílicas e anfifílicas, com possibilidade de encapsular fármacos (GARG et al., 2017; KULKARNI; YADAV; VAIDYA, [s.d.]; PUTTAPPA et al., 2019). Os lipossomas podem ser classificados com base no método de preparação e nas características estruturais. Os métodos de preparação são: evaporação em fase reversa para vesículas simples e multilamelares, vesículas plurilamelares estáveis, vesículas multilamelares congeladas e descongeladas, extrusão, fusão, prensa francesa, e vesículas de

desidratação – reidratação. As características estruturais são: multilamelar, oligolamelar, unilamelar, unilamelar pequena, unilamelar de tamanho médio, unilamelar grande, unilamelar gigante e multivesicular (veja a Figura 4) (KULKARNI; YADAV; VAIDYA, [s.d.]).

As principais vantagens dos lipossomas são a liberação sustentada com mecanismo de entrega de fármacos específico no local, biodegradabilidade, inércia biológica, biocompatibilidade e não-toxicidade (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016; PUTTAPPA et al., 2019). Uma das tendências no desenvolvimento de lipossomas como sistema de entrega de fármacos é o controle do seu tamanho através da manufatura, podendo otimizar a eficiência aumentando o tempo de circulação (LIAN; HO, [s.d.]). Os lipossomas têm sido utilizados na administração de vacinas, na terapêutica genética, na administração oral de medicamentos e em aplicações clínicas como a terapia do câncer e a terapia antimicrobiana (KULKARNI; YADAV; VAIDYA, [s.d.]; LIAN; HO, [s.d.]).

Figura 4 – Método de preparação e características estruturais dos lipossomas



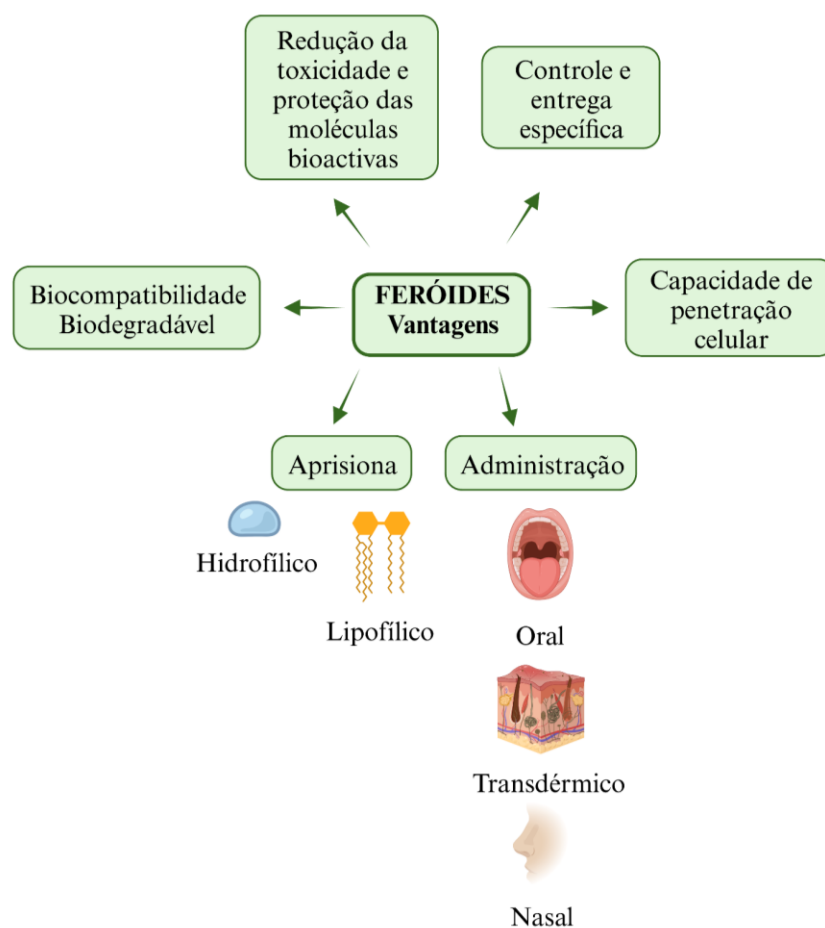
Fonte: elaborado pela autora (2024)

2.3.2 Feroides

Os feroides são um sistema de administração de fármacos de tamanho submicrométrico e micrométrico à base de coloides, fabricado por bicamadas lipídicas dinâmicas e variáveis de ésteres etílicos de ácidos graxos essenciais e óxido nitroso - água com características de auto-emulsificação devido a algumas interações de cadeias laterais (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016; ADITYA et al., 2013). A capacidade de aprisionar ou

encapsular fármacos hidrofílicos e lipofílicos, sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, redução da toxicidade, alta capacidade de penetração celular, possibilidade de administração oral, transdérmica e nasal, proteção de moléculas bioativas contra ataques enzimáticos, entrega controlada e direcionada, e estabilidade e segurança de uso são as principais vantagens do uso de feróides como sistema de entrega de medicamentos (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016; ADITYA et al., 2013; GARG et al., 2017).

Figura 5 – Vantagens dos feróides como sistema de entrega de medicamentos



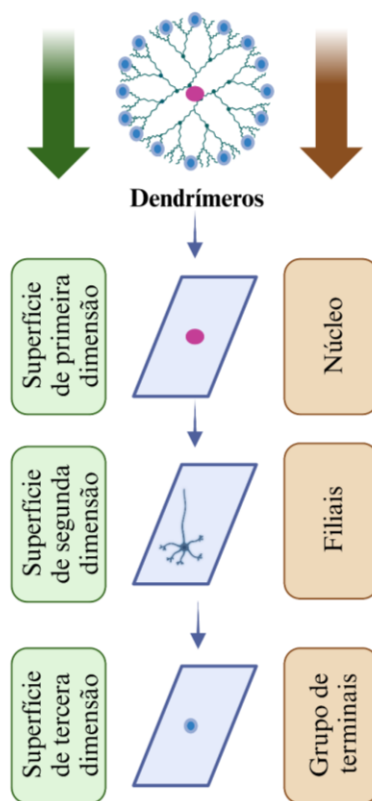
Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.3.3 Dendrímeros

Os dendrímeros consistem em macromoléculas sintéticas caracterizadas por superfície tridimensional com formas globulares versáteis e funcionalidade, com altos pontos

de ramificação monodispersos (ADITYA et al., 2013). Sua estrutura é composta por três domínios: átomos ou moléculas, com pelo menos duas funções químicas idênticas, compondo o núcleo; uma organização geométrica de camadas radialmente concêntricas denominadas gerações, que emergem do núcleo por ramificações, e grupos funcionais na superfície do dendrito (Figura 6) (GARG et al., 2017).

Figura 6 – Estrutura dos dendrímeros



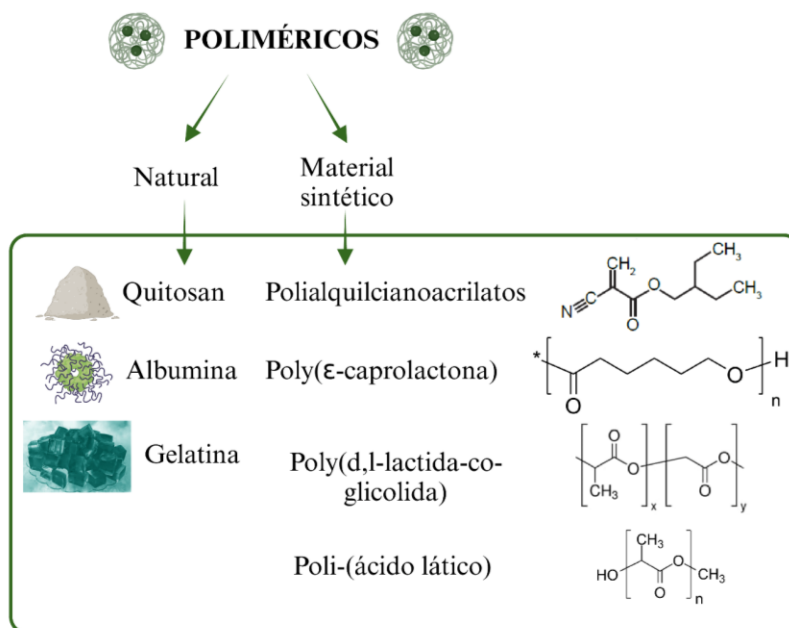
Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.3.4 Poliméricos

Partículas que podem ser de tamanho nanométrico e produzidas com materiais naturais ou sintéticos. Os naturais podem ser quitosana, albumina ou gelatina e os sintéticos podem ser polialquiloacrilatos, poli(ϵ -caprolactona), poli(d,l-lactídeo-co-glicolídeo) e poli-(ácido lático) (PLA) (Figura 7). Ser biocompatível e biodegradável são as principais

vantagens de usá-los para aprisionar ou adsorver drogas e entregá-las (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016; ADITYA et al., 2013; GARG et al., 2017).

Figura 7 – Matérias-primas dos poliméricos

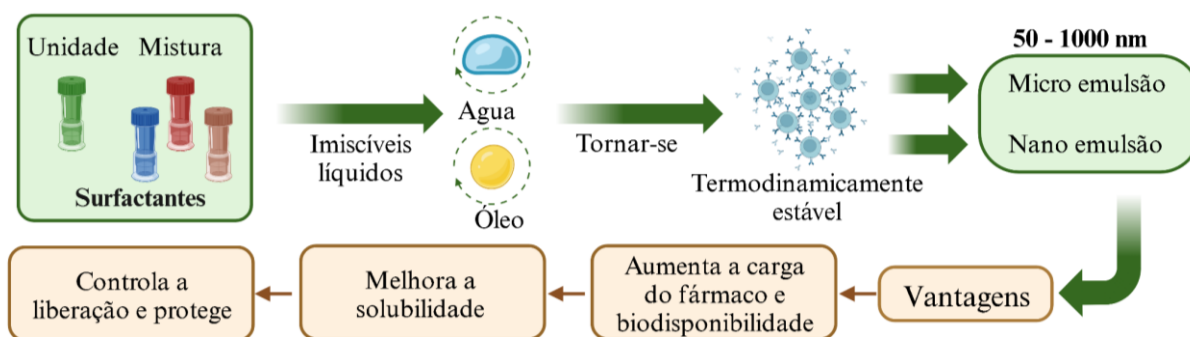


Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.3.5 Micro/Nano emulsões

Com a ajuda de um surfactante ou uma mistura de surfactantes, dois líquidos imiscíveis (água e óleo) constituem uma estrutura isotrópica termodinamicamente estável para aparecer como um único estado, com um tamanho entre 50 nm e 1000 nm, e podem ser classificados em micro ou nano emulsão. Para obter tais estruturas em equilíbrio termodinâmico, utiliza-se o diagrama ternário para denotar a proporção dos constituintes que existem naquela condição (ADITYA et al., 2013; GARG et al., 2017; PUTTAPPA et al., 2019). Aumentar a carga do fármaco, melhorar a solubilidade do fármaco, aumentar a biodisponibilidade, controlar a liberação do fármaco e proteger o fármaco da degradação enzimática situam as micro/nano emulsões em uma vasta gama de aplicações, incluindo como carregador de fármacos (PUTTAPPA et al., 2019).

Figura 8 – Linha do tempo de micro/nano emulsões e suas vantagens

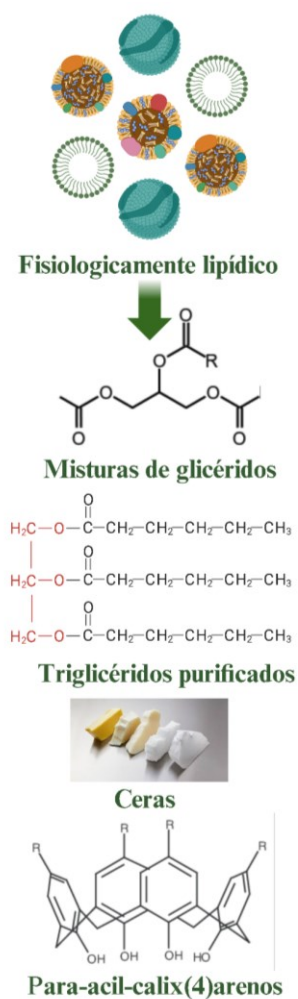


Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.3.6 Nanopartículas de lipídios sólidos

As nanopartículas lipídicas sólidas são componentes lipídicos fisiologicamente compatíveis como misturas complexas de glicerídeos, triglicerídeos altamente purificados, ceras e para-acil-calix(4)arenos (Figura 9). Consistem em partículas com tamanho submicrométrico entre 50 nm e 1000 nm, no estado sólido à temperatura ambiente, e podem ser estabilizadas por surfactantes (ADITYA et al., 2013; GARG et al., 2017). Conseguem-se, assim, aumentar a biodisponibilidade, ter uma eficiente adsorção e liberação controlada do fármaco e obter melhor direcionamento (DWIVEDI et al., 2014; GARG et al., 2020; OMWOYO et al., 2015).

Figura 9 – Matérias-primas de lipídios sólidos

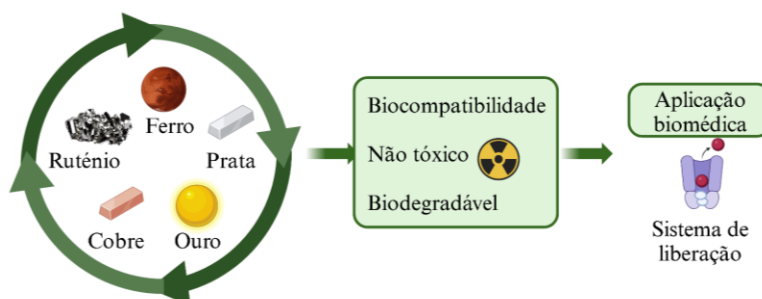


Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.3.7 Nanomateriais metálicos

Devido à sua biocompatibilidade, não-toxicidade para os seres humanos, sua biodegradabilidade e por ser útil em aplicações biomédicas (Figura 10), alguns metais como o ferro, a prata, o rutênio, o cobre e o ouro apresentam uma oportunidade para serem utilizados como sistemas de administração de medicamentos (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016). Em particular, a prata, uma partícula nobre com atividade antiviral e antibacteriana, tem afinidade com a artemisinina, podendo ser utilizada como veículo de entrega de fármacos para tratar a malária e combater a doença COVID-19 (AKBARI; MORAD; MAAZA, 2023).

Figura 10 – Características do metal para aplicações biomédicas

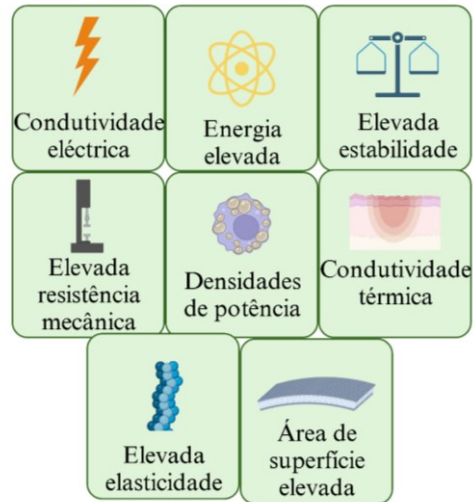


Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.3.8 Nanomateriais à base de carbono

Alguns materiais, como óxido de grafeno, fulerenos e nanotubos de carbono, têm sido utilizados na liberação controlada de fármacos devido à sua excelente condutividade elétrica, alta energia, alta estabilidade, alta resistência mecânica, densidades de potência, excelente condutividade térmica, alta elasticidade, alta área superficial e facilidade de funcionalização (Figura 11). Os nanomateriais à base de carbono são atraentes em aplicações biomédicas (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016). Os nanotubos podem ser classificados pela quantidade de camadas de grafeno, pois seus átomos estão dispostos em anéis de benzeno condensados enrolados por série em uma estrutura tubular. Então, existem nanotubos de carbono de parede simples, de parede dupla e de parede múltipla (ADERIBIGBE; MUKAYA, 2016).

Figura 11 – Características dos materiais à base de carbono



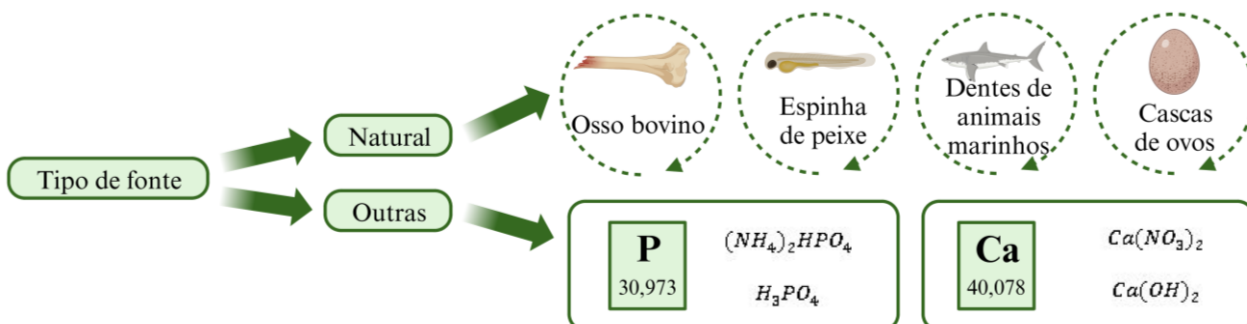
Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.4 HIDROXIAPATITA

2.4.1 Métodos de síntese

A hidroxiapatita pode ser sintetizada por diferentes métodos, como precipitação química, sol-gel, hidrotérmico, metátese, pulverização de plasma, combustão e sinterização de partículas - que, por sua vez, pode ser classificada em seco, úmido e método de alta temperatura - gerando diferenças na morfologia, tamanho, porosidade e fases cristalinas (AFRIANI et al., [s.d.]; CHANDANSHIVE et al., 2013; MELGAR et al., 2021; VEERLA et al., 2019). Para sintetizar a hidroxiapatita é necessário dispor de fontes de cálcio e fósforo, algumas das quais são ilustradas na Figura 12.

Figura 12 – Diferentes fontes de fósforo e cálcio na síntese de hidroxiapatita



Fonte: elaborado pela autora (2024). Desenvolvido com Biorender.com

2.4.1.1 Precipitação química

Este método depende de uma solução supersaturada de íons de fósforo e cálcio, de acordo com a razão molar da hidroxiapatita, e é classificado como método úmido (FOX; TRAN; TRAN, 2012). Para gerar uma estrutura cristalina ou amorfa, a velocidade de nucleação é importante porque vai determinar a solubilidade - dependendo da constante de solubilidade (K_{sp}) (FOX; TRAN; TRAN, 2012) -. Geralmente, é conduzida em pH alcalino e à temperatura ambiente (MOHD PU'AD et al., 2018). Na sequência, pode-se executar algumas etapas adicionais, como filtração, lavagem, secagem e calcinação, para obter o material em pó. Algumas das condições típicas para as etapas de síntese estão listadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Condições das etapas da síntese por precipitação química

Etapa	Intervalo de temperatura	Controle de pH	Agitação	Referências
Precipitação	Temperatura ambiente à temperatura de	Sim. Intervalo entre 8 e 10	Sim	(CHANDANSHIVE et al., 2013; MARTÍNEZ-VALENCIA;

	ebulição da água			ESPARZA-PONCE; ORTIZ- LANDEROS, [s.d.]; MOHD PU'AD et al., 2018)
Filtração	Temperatura ambiente	Não	Não	(MOHD PU'AD et al., 2018) (MARTÍNEZ- VALENCIA; ESPARZA-PONCE; ORTIZ- LANDEROS, [s.d.]; MOBASHERPOUR et al., 2007)
Secagem	60 – 85 °C	Não	Não	(MOBASHERPOUR et al., 2007)
Calcinação	100 a 1200 °C	Não	Não	(MOBASHERPOUR et al., 2007)

Fonte: elaborado pela autora (2024)

2.4.1.2 Sol-Gel

Este método de síntese é dominado por forças intra-solúveis, pois é uma técnica com duas fases, sólida e líquida, onde uma solução coloidal com tamanho de partícula entre 1 nm e 1000 nm é convertida em gel e depois solidificada pela secagem (CHOI et al., 2020; FOX; TRAN; TRAN, 2012). O sol-gel pode ser classificado em sistema de base aquosa, sistema de base alcoólica como metanol, etanol e propanol, ou processos não hidrolíticos. Já os precursores podem ser classificados como alcóxidos ou não alcóxidos, sendo os alcóxidos preferidos pela sua maior volatilidade com duas exceções: fosfatos de triálquilo e alcóxidos de silício. O primeiro é muito estável e difícil de hidrolisar e o segundo requer um catalisador ácido ou básico para a hidrólise (CHOI et al., 2020; JILLAVENKATESA; SR, 1998).

Algumas vantagens são uma temperatura mais baixa para a síntese em comparação com a precipitação, uma vez que durante a sinterização o pó tem alta reatividade e menor

possibilidade de degradação; microestrutura de grão fino e alta pureza de fase, o que permite um maior controle sobre a formação de fases específicas e a pureza das fases formadas (AGBEBOH et al., 2020; FATHI; HANIFI, 2007; JILLAVENKATESA; SR, 1998). Algumas desvantagens são a possível hidrólise dos fosfatos, o custo mais elevado das matérias-primas, a variação da relação Ca/P e a diversidade na morfologia (AGBEBOH et al., 2020; FATHI; HANIFI, 2007).

2.4.1.3 Hidrotermal

Este método é utilizado para controlar o tamanho dos nanomateriais. Trata-se de um método simples, que não utiliza surfactantes e ao que se pode facilmente alterar os parâmetros de síntese, como o pH e a temperatura, sendo a temperatura um fator importante para controlar o tamanho dos nanobastões da hidroxiapatita (FENG et al., 2020). Outros fatores importantes são a pressão e o tempo (MATIĆ et al., 2022). Nos últimos anos, este método tem sido fortemente estudado com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas do material para utilização em aplicações ortopédicas (JOKIĆ et al., [s.d.]). É importante manter a agitação da solução e o pH ajustado entre 4 e 10. A solução é mantida em um reator em um tempo específico para a condução da reação em uma faixa de temperatura entre 80 °C e 160 °C. As etapas posteriores podem ser: centrifugação, lavagem, filtração e secagem (FENG et al., 2020; JOKIĆ et al., [s.d.]).

2.4.1.4 Síntese verde

Uma rota mais verde é definida pelo uso de solventes menos tóxicos e ecologicamente corretos, pois em uma rota tradicional são utilizados solventes orgânicos e aditivos tóxicos. Cascas de ovos, algas vermelhas, plantas e extratos vegetais são alguns substitutos biológicos que podem produzir partículas renováveis não tóxicas com algumas vantagens, como maior biocompatibilidade, bom custo-benefício e vantagens ambientais (MELGAR et al., 2021). Além disso, se o extrato usado como precursor tiver minerais como Na^+ , Mg^{2+} e Zn^{2+} , pode-se obter propriedades antibacterianas da hidroxiapatita (MELGAR et al., 2021).

O material produzido pela rota verde é promissor para aplicação médica pelo aumento da biocompatibilidade (SATHISKUMAR et al., 2019). Utilizando o método de Hummer, a hidroxiapatita foi produzida com 100 g de folhas de anona recentemente colhidas e cuidadosamente limpas, 2,64 g de $NH_4H_2PO_4$ em 30 mL (0,24 M) e adição de óxido de grafeno a 0,5%, 1,0% e 1,5% na matriz de hidroxiapatita, de modo a compará-la com o material puro. O módulo de elasticidade aumentou de 10,81 GPa para 21,67 GPa, a microdureza aumentou de 0,48 GPa para 0,64 GPa, a resistência à fratura aumentou 64,5%, o valor do coeficiente de fricção aumentou de 0,30 para 0,60 e a viabilidade celular foi de 100% a 12,5 g/mL, demonstrando uma baixa citotoxicidade dependente da dose com o aumento da concentração na matriz. Portanto, o material tem potencial para utilização como substituto de tecidos duros (CHANDRA et al., 2023).

2.4.2 Propriedades e aplicações

A sua capacidade de aceitar uma vasta gama de substituintes catiônicos e aniônicos é uma de suas principais propriedades, uma vez que facilita a sua utilização em uma variedade de aplicações que incluem a adsorção de moléculas. Os íons de cálcio com carga positiva e os íons de fosfato com carga negativa que podem ligar-se a outros átomos e proporcionar uma capacidade significativa de adsorção são numerosos na superfície cristalina da hidroxiapatita. Porém, a microestrutura é o que influencia na sua eficácia, incluindo propriedades como o tamanho, a distribuição das partículas, a porosidade, a forma, a distribuição e a cristalinidade (VERMA et al., 2023). Os íons OH^- na superfície da hidroxiapatita começam por se desintegrar uma vez que o material é posto em contato com soluções aquosas. Subsequentemente, o Ca^{2+} fica livre. Assim, o resultado são numerosos locais com carga positiva (DU et al., 2021).

Graças às suas qualidades estruturais superiores, características químicas e físicas únicas, simplicidade de modificação, superfície excepcionalmente ativa, biocompatibilidade, tamanho adaptável, efeitos anti-inflamatórios, excelente dispersibilidade, capacidade de remoção e características não tóxicas a hidroxiapatita é frequentemente utilizada para tratar o rebordo alveolar, defeitos ósseos, sistemas de engenharia de tecidos, revestimento bioativo de implantes ósseos metálicos, implantes do ouvido médio, como material dentário, como

carregador de fármacos, adsorção de corantes, metais fortes e poluentes emergentes, foto catalise em fase simples e multifase (VERMA et al., 2023). Uma série de fins comerciais e técnicos não médicos, incluindo material hospedeiro para lasers, sensores de gás, condutores de íons, materiais fluorescentes e adsorventes de cromatografia para a purificação e separação de ácidos nucleicos e proteínas são outras aplicações da hidroxiapatita (VERMA et al., 2023).

Além seu tamanho nano o coloca como potencial uso para liberação intravenosa, com vantagem se a forma é esférica pois tem uma superfície ampla que é mais condutora (DU et al., 2021).

A principal razão para ser usado como carregador de fármacos é a sua capacidade de degradação relativamente acentuada em níveis de pH ácido e a sua capacidade de degradação limitada em condições de pH fisiológico (DU et al., 2021). Uma das fases de Ca/P que é mais estável em pH fisiológico é a hidroxiapatita. Assim, a hidroxiapatita deficiente em cálcio demonstrou uma degradabilidade promissora, particularmente a valores de pH mais baixos, onde foram substituídos por outros íons como o Fe^{2+} e o Mg^{2+} (DU et al., 2021).

2.5 EUCLEA NATALENSIS

Euclea natalensis é uma planta que pertence à família Ebenáceas, que se estende por regiões tropicais. Porém, a *Euclea* está restrita à África e sul da Arábia (WALLNÖFER, 2001), geralmente em áreas rochosas e áridas que contêm classes de naftoquinonas e terpenóides pentacíclicos (MAROYI, 2017), que ajudam na redução durante a síntese da hidroxiapatita, neste caso específico a redução do cálcio (VIANA DA SILVA et al., 2019). É considerada uma planta herbal medicinal que tem uso reportado contra gonorreia, sífilis, infecções de pele, erupções na pele, inchaços internos, crônico amebiano e febre tifoide (NICOLAO OTIENO et al., 2008). Além disso, apresenta um elevado potencial comercial pela sua atuação frente à dor de cabeça, bronquites, asma, dor de dente, infecções urinárias - com seus inícios em mercados informais principalmente em Moçambique e África do Sul (MAROYI, 2017) -. Apresenta diversas propriedades farmacológicas, registradas na Tabela 3.

Tabela 3 - Propriedades farmacológicas da *Euclea natalensis*

Propriedade	Descrição
Antibacteriana	Zona de inibição de 15 mm a 20 mm frente a <i>Staphylococcus aureus</i> e zona de inibição pelos patógenos variando de 8 mm a 24 mm frente a <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Salmonella Heidelberg</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella flexnerii</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .
Antimicrobiana	Com resultados mistos, várias pesquisas confirmam a capacidade antibacteriana, antifúngica, antimicobacterial e antiviral.
Antimicobacterial	Apresenta atividade frente a <i>Mycobacterium bovis</i> , <i>Mycobacterium fortuitum</i> e <i>Mycobacterium smegmatis</i> , com MIC entre 5,7 e 664,1 µg/mL com 7-metiljuglone ¹² e diospirina ¹¹ como os constituintes mais ativos.
Antifúngica	Frente a <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Phytophthora</i> spp. <i>Aspergillus niger</i> , por ação dos compostos betulina ¹ , lupeol ² , shinanolona ¹³ , 20(29)-lupeno-3β-isoferulato ¹⁴ e octahidroeucléina ¹⁵ e β-sitosterol ¹⁶ .
Antiviral	Com concentrações entre 0 mg/mL e 0,02 mg/mL, apresenta uma moderada ação antiviral frente ao vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1).
Antioxidante	A atividade eliminadora de DPPH do extrato vegetal foi de 94,4±0,01% usando radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), sendo tão útil quanto a Vitamina C.

Fonte: elaborado pela autora (2024). adaptado de (MAROYI, 2017)

No artigo “Síntese verde de nanopartículas de zircônia à base de extrato vegetal de *Euclea natalensis*: Otimização das condições de reação e avaliação das propriedades adsorptivas” foram obtidas partículas sintetizadas menores (VIENA DA SILVA et al., 2019), um dos principais objetivos desta pesquisa é a obtenção de partículas menores com a finalidade de aumentar da área superficial para maior absorção do fármaco, além de se beneficiar das propriedades nanométricas já citadas anteriormente.

2.6 ADSORÇÃO

Dois termos, adsorção e absorção, geram confusão pela sua terminologia similar. Porém, a adsorção é um fenômeno de superfície e está geralmente determinada pela relação de isoterma de adsorção. Por sua vez, a absorção gás-líquido, por exemplo, tem um consiste na solubilização de um ou mais componentes da fase gás na fase líquida (TIEN, 2019).

A adsorção depende do contato entre o sólido e o fluido e da afinidade entre adsorvente e adsorbato. Por isso, existem diferentes configurações do processo, dentre elas: a) adsorção com agitação, b) adsorção com fluxo contínuo em um tanque, c) adsorção com leito fixo, d) adsorção em leito móvel (TIEN, 2019).

Graças às características do adsorvente tem-se o conceito de equilíbrio de adsorção, que é representada por uma isoterma de adsorção relacionando a concentração do componente na fase fluida com sua concentração na superfície do sólido. Diferentes tipos de isotermas de adsorção são conhecidos: a) tipo I: concava na direção do eixo das abcissas, característico dos sólidos microporosos; b) tipo II: adsorção em monocamada e multicamada sem restrições, tipicamente encontrada em sólidos não porosos e macro porosos; c) tipo III: convexa em direção ao eixo das abcissas, típica de materiais macro porosos e não porosos com pouca afinidade entre o adsorbato-adsorvente; d) tipo IV: com um ciclo de histerese pela condensação capilar própria da adsorção/dessorção presente em materiais adsorventes mesoporosos; e) tipo V: caracterizada por baixa afinidade entre o adsorbato e o adsorvente em materiais mesoporosos; f) tipo VI: típica de adsorção multicamada em uma superfície não porosa e uniforme (TIEN, 2019).

2.7 MODELOS CINÉTICOS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

A liberação do fármaco em um meio *in vitro* é o processo em que o fármaco deixa o material que o contém e esse é dissolvido no meio. O estudo do perfil de liberação é importante para entender e otimizar o processo, resultando em maior eficiência na aplicação do fármaco (SINGHVI; SINGH, [s.d.]). Os modelos cinéticos que representam o comportamento relacionam o tempo com a quantidade do fármaco que está dissolvido no meio, definido a velocidade de transferência de massa desde a superfície sólida em direção ao meio ou solvente. Obtém-se, com isso, uma equação matemática que relaciona as variáveis do processo e permitem a obtenção de evidências sobre os fenômenos envolvidos (SINGHVI; SINGH, [s.d.]). Assim, a cinética de dissolução tem três fatores: a vazão do meio de dissolução em direção à interface sólido-líquido, a velocidade de reação na interface e a difusão molecular das moléculas dissolvidas na interface em direção à solução (SINGHVI; SINGH, [s.d.]).

Os modelos matemáticos que descrevem o fenômeno individualmente ou em combinação são: a) liberação cinética de ordem zero, considerado o modelo da liberação ideal pois faz referência à liberação constante considerando duas suposições - área constante e não formação de condições de equilíbrio no material (Equação 1) -; b) modelo de primeira ordem, que considera o gradiente de concentração entre a camada líquida estática que está próxima à superfície sólida e o líquido (camada limite mássica), ocorrendo geralmente em matrizes porosas - assim o processo é controlado pela saturação do soluto (Equação 2) -; c) Hixson-Crowell, que considera alteração na área de superfície e do diâmetro das partículas (Equação 3); d) modelo de Higuchi, onde se hipotetiza que a liberação se dá em uma única dimensão, sendo a dissolução da matriz desprezível e a difusividade do fármaco é constante com perfeitas condições de imersão (Equação 4) (SINGHVI; SINGH, [s.d.]).

$$Q = Q_0 + k_0 t \quad (1)$$

$$\text{Log } C = \text{Log } C_0 - Kt / 2,303 \quad (2)$$

$$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_{HC} t \quad (3)$$

$$Q_t = K_H t^{1/2} \quad (4)$$

onde Q é a quantidade de fármaco liberado ou dissolvido, Q_0 é a quantidade inicial na solução, k_0 é a constante de liberação, C_0 é a concentração inicial do fármaco, K é a constante de primeira ordem, Q_t é a quantidade de fármaco liberada no tempo t , Q_0 é a quantidade inicial do fármaco e K_{HC} é a constante de Hixson-Crowell.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo apresentará os reagentes e o processo utilizado para a síntese da hidroxiapatita, com e sem uso de *Euclea natalensis* como modificador de morfologia. Além disso, será apresentada a metodologia dos ensaios de carregamento e liberação da artemisinina no material sintetizado, considerando diferentes condições operacionais. O planejamento experimental usado para a síntese, bem como o fluxograma com as etapas do processo e os métodos de caracterização serão apresentados. Ressalta-se que todos os experimentos e as análises foram realizados nos laboratórios da Universidade Federal de Santa Catarina.

3.1 MATERIAIS DE PARTIDA

Como fonte de cálcio utilizou-se o hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$ 95% P.A., obtido da empresa Synth[®]. Como fonte de fósforo, utilizou-se ácido fosfórico (H_3PO_4) 85% P.A., da marca Alphatec[®]. Hidróxido de amônio (NH_4OH) 30% P.A., também da marca Alphatec[®], foi utilizado como estabilizador de pH. As matérias-primas para a síntese e aplicação foram utilizadas sem qualquer purificação adicional. Artemisinina 98% P.A. foi adquirida da Sigma-Aldrich[®] Brasil. Álcool etílico absoluto (CH_3CH_2OH) 99,5% foi adquirido da empresa NEON[®] e a solução tampão PBS pH 7,4 1x foi fornecida pela empresa Nova Biotecnologia[®]. A *Euclea natalensis* foi obtida de um depósito em Maputo (Moçambique). Sua identidade foi confirmada por Suzana Macuvele, bióloga do Museu de História Natural (UEM) daquele país.

3.2 SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA

3.2.1 Obtenção do extrato de *Euclea natalensis*

As raízes de *Euclea natalensis* foram previamente cortadas, lavadas e trituradas em um moinho de facas. Obteve-se o extrato por extração em Soxhlet, modificando-se um procedimento previamente reportado (NICOLAO OTIENO et al., 2008). A massa de 8 g de

pó de *Euclea natalensis* foi adicionada a 180 mL de etanol em um equipamento de extração Soxhlet por 6 h contínuas à temperatura de ebulição. A mistura foi rotoevaporada e armazenada com uma pequena quantidade de etanol até ser utilizada na síntese da hidroxiapatita verde. Assim, o processo foi repetido 14 vezes para a obtenção de aproximadamente 30 g de extrato.

3.2.2 Síntese de hidroxiapatita sem *Euclea natalensis*

Abidi e Murtaza descreveram um método simples de precipitação química para a síntese da hidroxiapatita (SIBTE; ABIDI; MURTAZA, 2013), utilizado nesta pesquisa com algumas modificações. Resumidamente, 3,899 g de $Ca(OH)_2$ 95% P.A. foram adicionados a 100 mL de água destilada e mantidos por 24 h em agitação com ajuda de um agitador magnético em um béquer de 250 mL. Em seguida, 2,0 mL de H_3PO_4 85% P.A. em 100 mL de água destilada foram adicionados ao meio com uma bomba de seringa, mantendo a razão molar estequiométrica 1,67 Ca/P.

Um planejamento experimental 2^3 foi proposto com as seguintes variáveis: temperatura de reação (temperatura ambiente, 50 °C e 75 °C), taxa de gotejamento da solução aquosa de H_3PO_4 (0,5 mL/min, 1,0 mL/min e 1,5 mL/min) mantendo a relação de 1,67 Ca/P com um volume determinado de solução e quantidade de *Euclea natalensis* (zero, 1,20 g e 2,40 g) baseado em pesquisas anteriores (AGBEBOH et al., 2020; CHANDANSHIVE et al., 2013; MELGAR AGUILAR et al., 2021) e ensaios preliminares reportados nas seções posteriores.

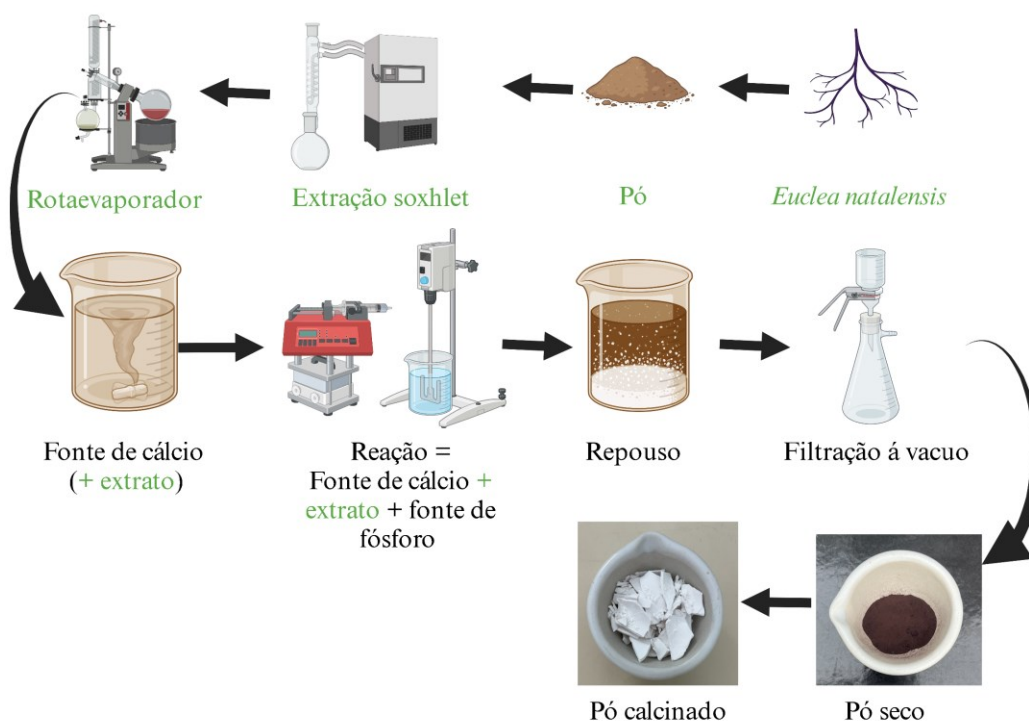
Após a conclusão da reação química o pH foi ajustado em valor igual a 11 usando uma solução de hidróxido de amônio 0,2 M observando o precipitado após minutos de repouso. Foram realizadas várias etapas intermediárias: repouso durante um dia em um sistema fechado para obter o precipitado, lavagem com água destilada pelo menos cinco vezes, filtração e secagem por 24 h a 100 °C. A última etapa consistiu na calcinação a 600 °C durante duas horas com uma taxa de aquecimento de 5 °C/min para extrair o material orgânico restante. É importante destacar que, no intuito de avaliar a redução na cristalinidade e em resposta observar o aumento da capacidade de degradação do material, facilitando a liberação da artemisinina, metade de cada amostra preparada foi reservada sem calcinação.

Além disso, com o objetivo de comparar o percentual de adsorção de artemisinina e a cinética de liberação do fármaco, avaliou-se o desempenho da liberação controlada em nanopartículas de hidroxiapatita calcinadas e não calcinadas (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al., 2022).

3.2.3 Síntese de hidroxiapatita com *Euclea natalensis* como modificador

A técnica de síntese utilizada baseou-se na descrição da Seção 3.2.2, com uma modificação: antes da agitação de 24 h, adicionou-se a quantidade especificada de *Euclea natalensis* à solução de hidróxido de cálcio. A morfologia da partícula pode ser alterada pelo extrato, pois o extrato contém naftoquinonas e terpenos que favorecem a redução do cálcio na síntese (MELGAR AGUILAR et al., 2021). Assim, obtém-se uma partícula com maior esfericidade, aumenta-se a área de superfície e, portanto, tem-se uma maior probabilidade de carregamento do fármaco. O processo completo, desde a obtenção do extrato até a obtenção da hidroxiapatita com a substância, é apresentado na Figura 13.

Figura 13 - Processo de síntese da hidroxiapatita com e sem *Euclea natalensis*



Fonte: elaborado pela autora (2024)

3.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Neste estudo, realizou-se um planejamento fatorial completo do tipo 2^3 utilizando o *software* Statistica[®]. As seguintes variáveis foram consideradas: temperatura de reação (25 °C, 50 °C e 75 °C), taxa de gotejamento da solução aquosa de H₃PO₄ (0,5 mL/min, 1,0 mL/min e 1,5 mL/min) e quantidade de *Euclea natalensis* (zero, 1,20 g e 2,40 g). Cada amostra foi nomeada de acordo com a nomenclatura apresentada na Tabela 4. Em cada ensaio, metade de cada amostra preparada foi reservada sem calcinação e recebeu uma nomenclatura diferente, conforme indicado na Tabela 4 (em concordância com a informação da Seção 3.2.2).

Tabela 4 - Variáveis do planejamento experimental e nomenclatura

Nome da amostra	Quantidade de extrato de <i>Euclea natalensis</i> (g)	Taxa de gotejamento da reação (mL/min)	Temperatura da reação (°C)	Nome da amostra sem calcinação
H1-C	0	0,5	25	H1
H2-C-EN	2,40	0,5	25	H2-EN
H3-C	0	2,5	25	H3
H4-C-EN	2,40	2,5	25	H4-EN
H5-C	0	0,5	75	H5
H6-C-EN	2,40	0,5	75	H6-EN
H7-C	0	2,5	75	H7
H8-C-EN	2,40	2,5	75	H8-EN
H9-C-EN	1,20	1,5	50	H9-EN
H10-C-EN	1,20	1,5	50	H10-EN
H11-C-EN	1,20	1,5	50	H11-EN

Fonte: elaborado pela autora (2024)

3.6 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

A hidroxiapatita sintetizada foi caracterizada através das seguintes técnicas: difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise de área superficial BET e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

3.6.1 Comportamento térmico - análise preliminar por DSC

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) mede a diferença de calor absorvido ou liberado por materiais em comparação com uma referência, à medida em que o material é submetido a variações controladas de temperatura, e permite a identificação de transições térmicas, como fusão, cristalização e mudanças de fase, oferecendo informações precisas sobre a estabilidade e a composição dos nanomateriais. A análise foi realizada em um Analisador Termogravimétrico e de Calorimetria Diferencial (TGA/DSC) da marca TA Instruments®, modelo Discovery SDT 650, no Centro Tecnológico SATC do estado de Santa Catarina. A temperatura foi elevada de 25 °C para 900 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e uma atmosfera de ar sintético. Os dados foram processados utilizando o software Origin® 2018.

3.6.2 Difração de raios X

A difração de raios X é uma técnica crucial na caracterização de materiais. Através da propriedade de interferência dos raios X, ao interagir com a rede cristalina do material gera-se padrões de difração distintos. A análise desses padrões permite determinar parâmetros como tamanho de cristalito, orientação cristalina e defeitos estruturais. Além disto, esta técnica permite obter informações detalhadas sobre a estrutura cristalina de um material em nível nanométrico (ZHANG et al., 2020). Cada material possui uma estrutura cristalina única que se reflete nos seus padrões de difração de raios X. Ao analisar estes padrões, é possível determinar a disposição atômica, a orientação cristalina e outros aspectos estruturais fundamentais (ZHANG et al., 2020).

A análise foi realizada em um difratômetro (Xpert PRO MPD - Multi-Purpose Diffractometer) disponível no Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da Universidade Federal de Santa Catarina, em um suporte de amostra de 16 mm, na faixa de $20^\circ \leq \theta \leq 60^\circ$, com passo $\theta = 0,04^\circ$ e tempo de passo de 0,12 s com fonte de emissão $\text{CuK}\alpha$. Nesta pesquisa, usou-se a difração de raios X para ter uma primeira aproximação do tamanho do cristalito com o uso da equação de Scherrer com o valor do parâmetro $k = 0,89$ e para identificar estruturas cristalinas, assim todos os difratogramas dos materiais sintetizados foram comparados com o cartão P-46056 da base de dados de estruturas cristalinas inorgânicas da ICSD – FIZ Karlsruhe. No presente trabalho, utilizou-se o *software* Origin[®] para a elaboração dos elementos gráficos e para a realização dos cálculos de tamanho de cristalito com ajuda do pacote Microsoft[®] Excel[®].

3.6.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) também é uma ferramenta crucial na caracterização de materiais. A técnica permite analisar as propriedades vibracionais das moléculas presentes, oferecendo informação sobre sua composição química e estrutura molecular em nível nanométrico (GUTAROWSKA; PIOTROWSKA, 2007). O FTIR permite a identificação de grupos funcionais, ligações químicas e alterações na superfície dos materiais. Além disso, a técnica detecta mudanças sutis nas propriedades químicas, proporcionando uma compreensão abrangente das interações moleculares (GUTAROWSKA; PIOTROWSKA, 2007).

Nesta pesquisa, utilizou-se o espectrômetro FTIR AGILENT[®] Technologies-Cary 600 Series (localizado na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina) na faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ cm}^{-1} - 4000 \text{ cm}^{-1}$. Para a preparação das amostras utilizaram-se pastilhas de KBr. Cada amostra foi macerada juntamente com o KBr contendo 2% m/m do material e prensada para obtenção de uma pastilha circular sem secagem pois a síntese já continha processo de secagem. A técnica permitiu a identificação de grupos funcionais e a compreensão da mudança posterior ao carregamento do fármaco, para analisar as interações moleculares.

3.6.4 Área superficial, diâmetro médio de poro e volume dos poros

O método BET desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller é uma ferramenta essencial para a determinação da área superficial específica. É baseada no método de adsorção física, pois permite quantificar a quantidade de gás nitrogênio (um gás não reativo) adsorvido e dessorvido sobre a superfície de uma determinada amostra em função da pressão, mantendo-se a temperatura constante. Esta técnica fornece informações sobre a porosidade e a distribuição do tamanho dos poros, aspectos críticos na compreensão das propriedades físicas e químicas dos nanomateriais (HASAN; BANERJEE; LEE, 2015). O material foi analisado no equipamento Quantachrome Instruments® - Autosorb-1, disponível na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC, sem preparo de amostra, pois o material já havia sido seco a 100 °C por 24 h durante sua síntese. Esta técnica foi aplicada com a finalidade de se obter o diâmetro médio de poro, volume dos poros e um valor de área superficial dos diferentes materiais sintetizados.

3.6.5 Microscopia eletrônica de transmissão

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) é uma ferramenta que proporciona uma visão detalhada da estrutura e morfologia em escala nanométrica. Utiliza feixes de elétrons de alta energia, possibilitando a observação de detalhes finos, como a forma, tamanho e distribuição dos nanomateriais. Fornece informações sobre a orientação dos cristais e a presença de defeitos estruturais (JIANG, 2023).

Na pesquisa utilizou-se um microscópio eletrônico de transmissão (JEM-1011, JEOL®) do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina. A preparação das amostras consistiu na diluição de uma pequena quantidade de hidroxiapatita em pó em aproximadamente 5 mL de álcool isopropílico, mantido em banho ultrassônico por 10 min. O sobrenadante foi gotejado utilizando pipeta de precisão em grades de cobre recobertas com filme de carbono amorfo (GRIDS) apropriadas para análise de MET, acondicionadas em um dessecador pelo menos por dois dias antes do procedimento. A técnica

possibilitou a obtenção de um valor médio do diâmetro do material e permitiu a observação da morfologia e das aglomerações do material.

3.7 APLICAÇÃO

3.7.1 Detecção de artemisinina

Esta seção apresenta a metodologia de detecção da artemisinina nos dois processos realizados na aplicação: o carregamento do fármaco em hidroxiapatita por adsorção e liberação em um meio PBS a pH 7,4.

O espectrofotômetro UV-Vis da marca KASVI[®] foi utilizado para medir a quantidade de artemisinina. Duas curvas padrão foram construídas como referência na determinação. A primeira curva, para o processo de carregamento, foi elaborada na faixa de 19,94 mg/L a 99,7 mg/L em solução de artemisinina/etanol. Já a segunda curva, para o processo de liberação, foi construída na faixa de 0,05 mg/L a 40 mg/L em solução de artemisinina/etanol com adição de PBS e NaOH para manter as condições utilizadas na liberação do fármaco (com composição de 2 mL artemisinina/etanol, 1 mL de PBS e 5 mL de NaOH 0,05 N).

Tomou-se 1 mL do sobrenadante no processo de adsorção, filtrou-se com filtros de seringa de acetato de celulose com poros de 0,20 μm e misturou-se com 9 mL de solução de NaOH 0,05 N. No processo de liberação, 1 mL foi tomado, filtrado com o mesmo tipo de filtro e misturado com 2 mL de etanol e 5 mL de NaOH 0,05 N. Cada solução foi colocada em banho-maria a 50 °C durante 15 min, seguido de resfriamento com água corrente até a temperatura ambiente. Por fim, a solução foi mantida em água à temperatura ambiente durante 15 min para a obtenção do derivado de artemisinina (reação artemisinina-alcalina), a ser medido no pico de absorção a 291 nm (BHARATI; SABAT, 2010; BONADIES et al., 2017) (veja a Figura 14).

Figura 14 - Quantificação de artemisinina nos processos de adsorção e liberação



Fonte: elaborado pela autora (2024)

3.7.2 Carregamento da artemisinina na hidroxiapatita

A adsorção é o processo pelo qual o fármaco, a artemisinina, é adicionado ao material sintetizado, ou seja, hidroxiapatita e *Euclea natalensis*/hidroxiapatita. O sistema continha artemisinina, hidroxiapatita e (25 ± 0,1) mL de etanol (BONADIES et al., 2017; QIN et al., 2019; ZHU et al., 2022b). O sistema de adsorção foi operado em duas condições diferentes, em busca da otimização do carregamento. A primeira condição consistiu em proporção molar de 1:2 artemisinina/hidroxiapatita (HUO et al., 2021), enquanto a segunda condição baseou-se em uma proporção mássica 1:10 artemisinina/hidroxiapatita (SALAHUDDIN; IBRAHIM; EL-KEMARY, 2022). Em ambas as situações, o sistema foi agitado continuamente durante 24 h e centrifugado durante 15 min. Na sequência, o sobrenadante foi filtrado com filtros de seringa de celulose regenerada de 0,20 µm e, finalmente, realizou-se uma medição UV-VIS da concentração de artemisinina no sobrenadante (procedimento descrito na Seção 3.7.1).

3.7.3 Liberação da artemisinina em PBS 1X

Foram adicionados 20 mL de PBS 1x pH 7,4 em um tubo de ensaio plástico com uma quantidade predeterminada de hidroxiapatita, mantida em agitação em um banho maria a 37 °C por 26 h (BAO et al., 2023; BONADIES et al., 2017). Em momentos pré-determinados, obteve-se uma amostra de 1 mL e aplicou-se o protocolo descrito na Seção 3.7.1. Cada mililitro extraído foi repostado com a mesma quantidade de PBS puro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, inicialmente serão apresentados os resultados preliminares que embasaram a escolha das variáveis de análise. Além disso, serão apresentados os resultados da caracterização do material, de modo a identificar a fase de acordo com o planejamento experimental. Adicionalmente, será discutido aqui o impacto das variáveis de processo avaliadas no carregamento e na liberação do fármaco (artemisinina). Convém destacar que a nomenclatura da Tabela 4 da Seção 3.4 será adotada em todo o capítulo para uma melhor compreensão da pesquisa conduzida.

4.1 ENSAIOS PRELIMINARES

Foram realizados sete ensaios para identificar a fase da hidroxiapatita sintetizada, através das técnicas de DRX e FTIR. A Tabela 5 contém um resumo de cada ensaio, as modificações no processo de síntese, os principais desafios encontrados e algumas conclusões segundo a fase identificada em cada corrida.

4.1.1 Comportamento térmico

A partir dos ensaios descritos na Seção 4.1, verificou-se a obtenção de β -fosfato tricálcico com uma temperatura de calcinação de 800 °C. De fato, a literatura reporta a transformação de fosfato tricálcico de apatita em β -fosfato tricálcico por aquecimento acima de 750 °C (DESTAINVILLE et al., 2003). Porém, esta pesquisa visa a obtenção de hidroxiapatita. Assim, o DSC foi realizado em uma amostra inicial não calcinada onde foram observados cinco eventos de perda de massa exotérmica nas seguintes temperaturas: 35 °C, 135 °C, 187 °C, 435 °C e 750 °C, com 12.86% de perda total de massa (Figura 15), sendo os três primeiros picos uma perda de umidade (água) e os dois últimos onde acontece a mudança de fase, hidroxiapatita e diferentes fosfatos de cálcio. Considerando o estudo de Zampieron et al. (2023), no qual os autores obtiveram hidroxiapatita com baixa cristalinidade em temperaturas mais baixas (25 °C a 400 °C) (ZAMPIERON et al., 2023), avaliou-se que a faixa de 435 °C a 750 °C é ótima para a síntese de hidroxiapatita, pois obteve-se acima de

750 °C fosfato tricálcico de apatita. Portanto, a temperatura escolhida para calcinação nesta pesquisa foi de 600 °C.

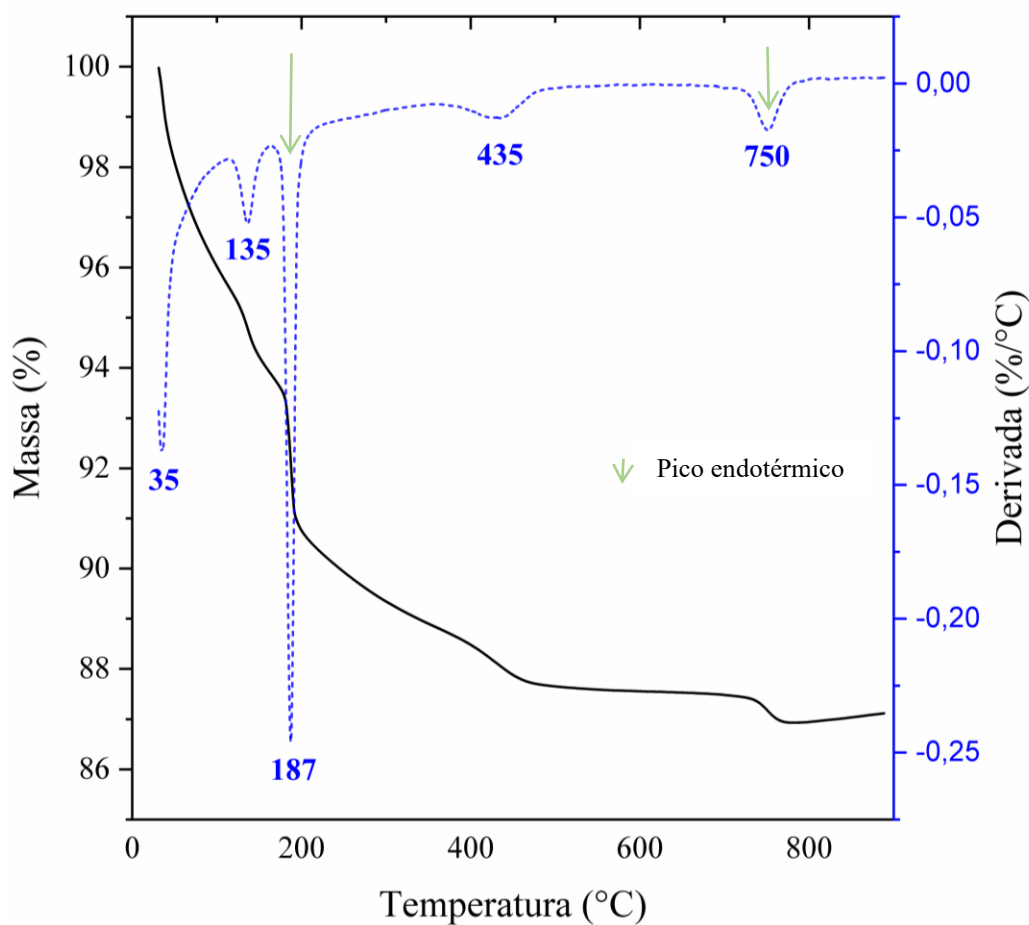
Tabela 5 - Resumo dos ensaios preliminares de síntese de hidroxiapatita

Corrida	Precursores	Observações	DRX e FTIR	1) Foi identificada hidroxiapatita? 2) Foi identificada outra fase?
1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $(\text{NH}_4)_2$ HPO_4	1) Sem agitação de 24 h pela solução de Ca. 2) Agitação depois da reação. 3) Secagem a 60 °C. 4) Calcinação: 600 °C, 800 °C e 1000 °C. Erro: Sem acerto estequiométrico.	Sim / Não	1) Não. 2) β -fosfatotricálcico em calcinação = 1000 °C.
2	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $(\text{NH}_4)_2$ HPO_4	1) Agitação por 24h da solução de Ca. 2) Repouso de 24h depois da reação. 3) Secagem a 60 °C. 4) Calcinação a 600 °C. Erro: Sem acerto estequiométrico.	Sim / Não	1) Não. 2) Não.
3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $(\text{NH}_4)_2$ HPO_4	1) Lavagem antes da secagem com pelo menos 5 vezes o volume em água. 2) Secagem a 100 °C. 3) Calcinação a 600 °C e 800 °C. Erro: Sem acerto estequiométrico.	Sim / Não	1) Não. 2) Não.
4	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $(\text{NH}_4)_2$	1) Calcinação a 800 °C.	Sim / Sim	1) Não. 2) β -fosfato tricálcico.

	HPO_4 . Realizado também com $Ca(OH)_2$ e H_3PO_4	2) Acerto estequiométrico (ajuste com pureza dos precursores). Erro: Sem relação molar 1,67 Ca:P.		
5	$Ca(NO_3)_2$ e $(NH_4)_2$ HPO_4 . Realizado também com $Ca(OH)_2$ e H_3PO_4	1) Comparação do processo com a etapa lavagem e sem lavagem antes da etapa de secagem. 2) Comparação entre calcinação a 600 °C e 800 °C. Erro: Sem relação molar 1,67 Ca:P.	Sim / Sim	1) Não. 2) β -fosfato tricálcico com calcinação a 800 °C. 3) Nenhuma diferença significativa entre os ensaios com lavagem e sem lavagem. 4) Maior intensidade nos picos do DRX com precursores $Ca(OH)_2$ e H_3PO_4 .
6	$Ca(OH)_2$ e H_3PO_4	1) Lavagem antes da secagem. 2) Secagem a 80 °C. 3) Calcinação a 600 °C e 700 °C. Erro: Sem relação molar 1,67 Ca:P.	Sim / Sim	1) Não. 2) β -fosfato tricálcico com calcinação a 700 °C.
7	$Ca(OH)_2$ e H_3PO_4	1) Relação molar 1,67 Ca:P. 2) Secagem a 100 °C. 3) Calcinação a 600 °C. Erro: Sem relação molar 1,67 Ca:P. Ajuste com reagentes em excesso.	Sim / Sim	1) Sim. 2) Hidroxiapatita com referência ao cartão P-46056 da base de dados de estruturas cristalinas inorgânicas da página de bases de estruturas cristalinas.

Fonte: elaborado pela autora (2024)

Figura 15 - DSC de uma amostra inicial de hidroxiapatita não calcinada sem presença de *Euclea natalensis* com síntese a 50 °C e 1,0 mL/min.



Fonte: elaborado pela autora (2024)

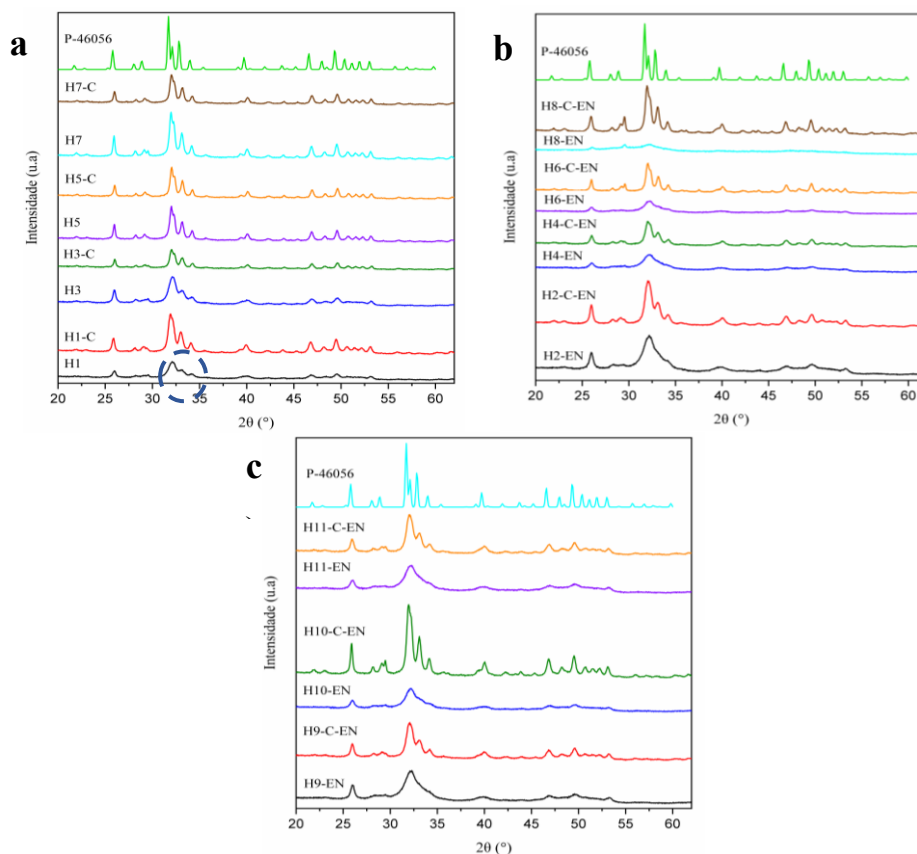
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA

4.2.1 Difração de raios X

Usando o cartão de referência, foram analisadas 22 amostras segundo o planejamento experimental que contêm seus pares sem calcinar. Assim, é notório que todas as amostras sintetizadas contêm os picos que permitem identificar que os materiais sintetizados correspondem à fase da hidroxiapatita, sendo os picos mais importantes aqueles que se localizam no intervalo de 30° a 35°, pois se apresenta um desface da região e característico de outra fase de apatita como acontece com o β -fosfato tricálcico que apresenta os picos

característicos na região 26° a 35° (SANTOS TAVARES et al., 2013). Apesar disso, as amostras não calcinadas de materiais que contêm *Euclea natalensis* não apresentam os três picos marcantes na zona de 30° a 35° , por possível interferência entre o extrato e a água que está contida no material, porém apresenta uma montanha na região de 30° a 35° . Assim mesmo, quando essas amostras são calcinadas é possível observar os picos característicos, o que permite confirmar que a fase de interesse foi sintetizada. É importante notar que a cristalinidade aumenta com o aumento do estreitamento da linha de difração segundo Merejoo e colaboradores (MEEJOO; MANEEPRAKORN; WINOTAI, 2006). Portanto, é possível concluir que as amostras que apresentam maior cristalinidade são H7-C, H8-C-EN e H10-C-EN. A representação gráfica das 22 amostras é apresentada na Figura 16, que contém também o difratograma do cartão de referência.

Figura 16 - DRX com referência do cartão P-46056 da ICSD (a) H1, H1-C, H3, H3-C, H5, H5-C, H7, H7-C. (b) H2-EN, H2-C-EN, H4-EN, H4-C-N, H6-EN, H6-C-EN, H8-EN, H8-C-EM. (c) H9-EN, H9-C-EN, H10-EN, H10-C-EN, H11-EN, H11-C-EN



Fonte: elaborado pela autora (2024)

4.2.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Semelhantemente ao DRX, as 22 amostras foram avaliadas por FTIR. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 17 e 18. Além disso, a Tabela 6 apresenta as bandas observadas nas figuras, acompanhadas do grupo funcional ao qual pertencem e de uma breve discussão.

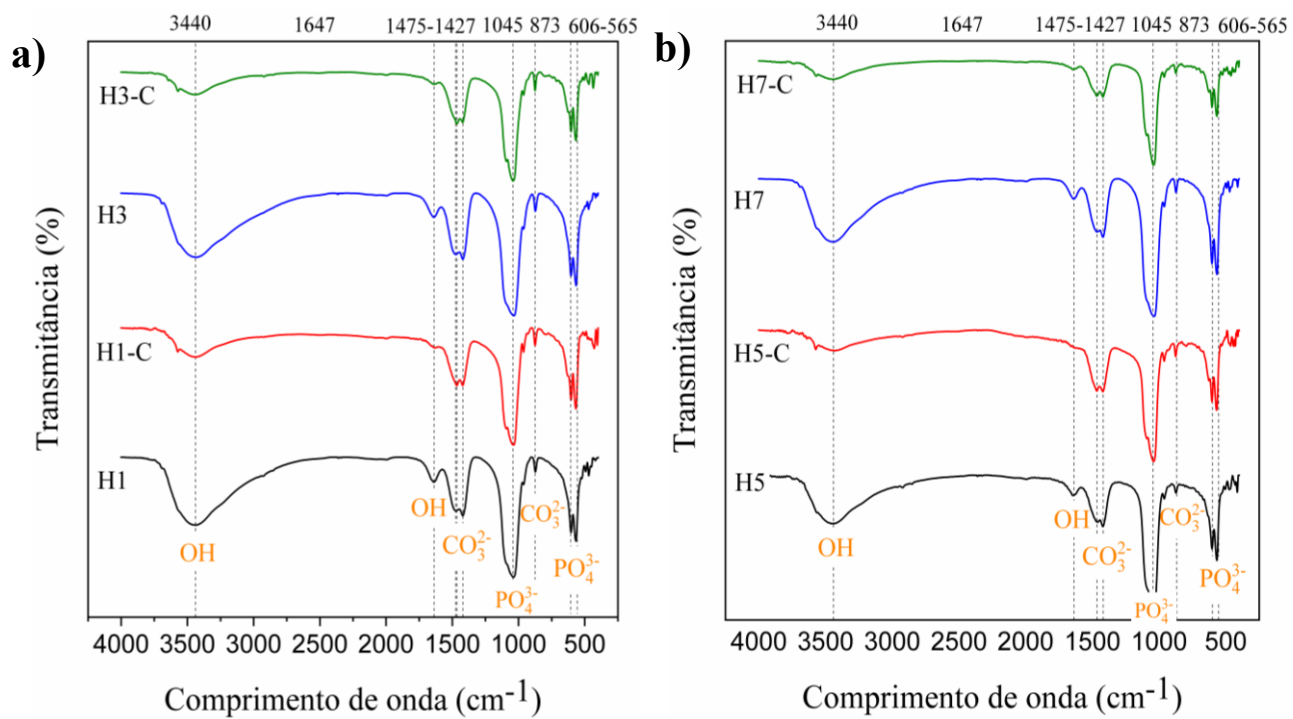
Tabela 6 - Bandas características das amostras de hidroxiapatita sintetizadas

Bandas (cm ⁻¹)	Descrição (Grupo ou molécula)	Referência(s)	Discussão
560-606	Grupo PO_4^{3-} com modo de flexão ν_4	(BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, [s.d.]; SALAHUDDIN; IBRAHIM; EL-KEMARY, 2022; VEERLA et al., 2019)	Maior comprimento para as amostras não calcinadas e com maior clareza de formação de picos para as amostras calcinadas Forma não claramente definida para as amostras não calcinadas que contêm a substância modificadora
1045	Grupo PO_4^{3-} com modo de flexão ν_3		
1427-1475	Grupo CO_3^{-2} com modo de estiramento assimétrico ν_3	(SATHISKUMAR et al., 2019)	
873	Grupo CO_3^{-2} por frequência vibracional dos íons carbonato	(BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, [s.d.]; MEEJOO;	Confirma a formação da apatita do tipo B

	substituídos no local do fosfato	MANEEPRAKORN; WINOTAI, 2006)	
1647	Íons OH^-	(BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, [s.d.]	Pico maior pela hidroxiapatita não calcinada com <i>Euclea natalensis</i> do que hidroxiapatita não calcinada sem <i>Euclea natalensis</i>
3440	Água adsorvida	(BERZINA-CIMDINA; BORODAJENKO, [s.d.]; RAYNAUD et al., [s.d.]; SATHISKUMAR et al., 2019)	Diminui a intensidade quando as amostras são calcinadas em menor temperatura para H5-C, H6-C-EN, H9-C-EN e H10-C-EN
570-717	Estiramento simétrico das vibrações internas primárias T-O (Si, Al)	(TAUFIQURRAHMI; MOHAMED; BHATIA, 2011)	
460	Estiramento simétrico da ligação O-Si-O	(HUO et al., 2013)	

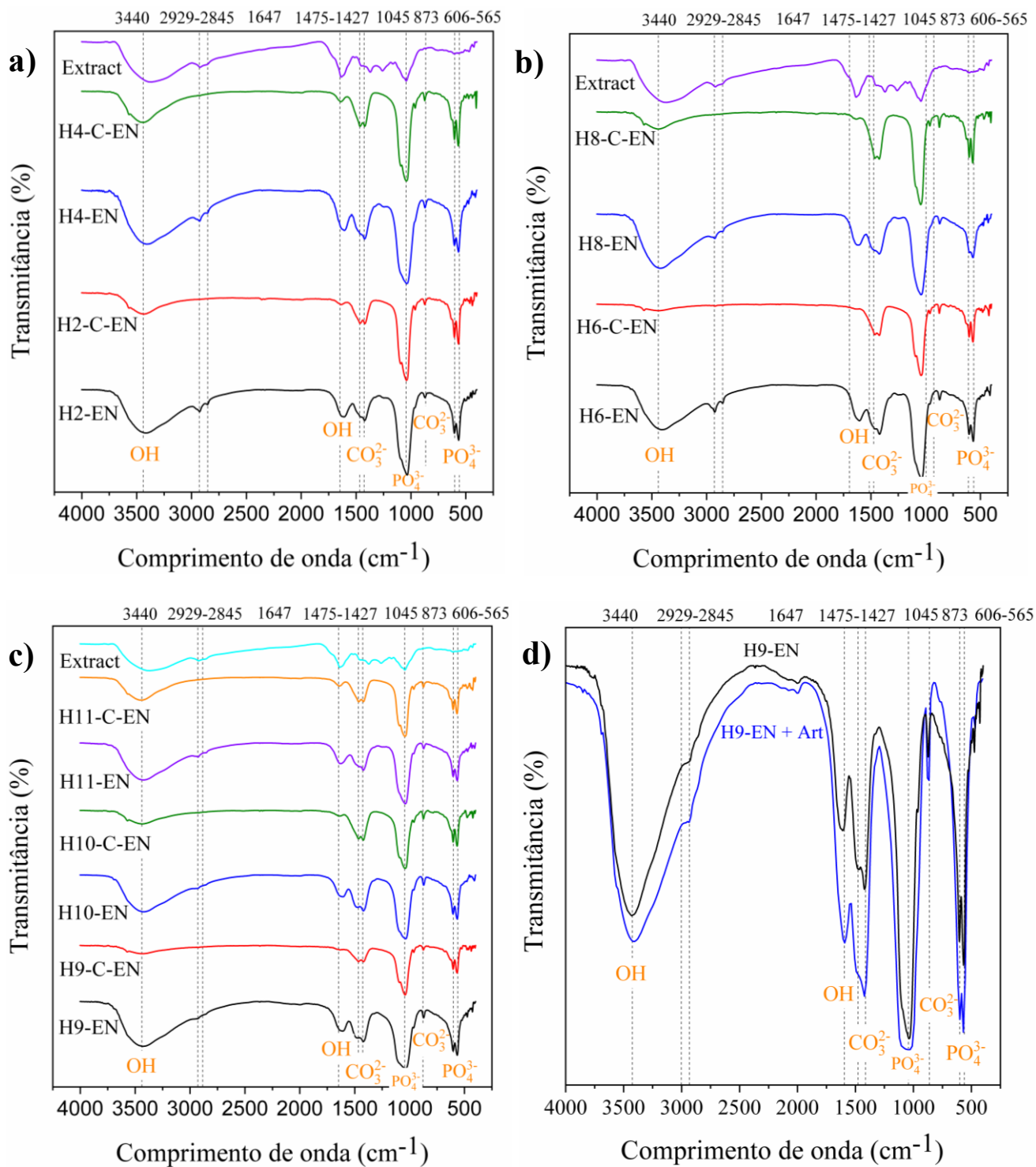
Fonte: elaborado pela autora (2024)

Figura 17 - FTIR da hidroxiapatita sem *Euclea natalensis*: (a) H1, H1-C, H3 e H3-C; (b) H5, H5-C, H7 e H7-C



Fonte: elaborado pela autora (2024)

Figura 18 - FTIR da hidroxiapatita com *Euclea natalensis*: (a) H2-EN, H2-C-EN, H4-EN e extrato; (b) H6-EN, H6-C-EN, H8-EN, H8-C-EN e extrato; (c) H9-EN, H9-C-EN, H10-C-EN, H11-EN, H11-C-EN e extrato; (d) H9-EN e H9-EN + Artemisinina



Fonte: elaborado pela autora (2024)

Nas Figuras 17 e 18 não há presença nas bandas 820 cm^{-1} e 1380 cm^{-1} . Tais bandas estão presentes quando a amostra contém impurezas de NO_3^- , que são eliminadas a $600\text{ }^\circ\text{C}$ segundo Raynaud e colaboradores (RAYNAUD et al., [s.d.]). Além disso, é possível confirmar que não há presença de $\beta\text{-TCP}$ (fosfato beta-tricálcico), pois não são percebidos picos em 548 cm^{-1} e 592 cm^{-1} , e nem a mesma intensidade nos picos em 565 cm^{-1} e 606 cm^{-1} , que são visíveis geralmente na substância.

4.2.2.1 Ligação entre hidroxiapatita e artemisinina

A artemisinina possui uma região polar que se encontra na região com átomos de hidrogênio, enquanto a hidroxiapatita é aceita como uma molécula não polar pois possui um centro de simetria. Entretanto, pesquisas recentes indicaram a presença de duas fases polares com possibilidade de ser piezoelétricas e piroelétricas com os nomes p21 e p63 (TOFAIL et al., 2015). Na Figura 18 (d) é possível observar mudanças leves no espectro da amostra H9-EN depois do carregamento da artemisinina, a amostra escolhida pela análise foi a amostra que apresentou melhores resultados na parte da aplicação, que será apresentada posteriormente. A banda que pertence ao grupo PO_4^{3-} no valor 1045 cm^{-1} apresenta uma ampliação que confirma uma diminuição na cristalinidade. Além disso, há variação na intensidade que é proporcional à força de atração das interações, principalmente na região $1427\text{ cm}^{-1} - 1475\text{ cm}^{-1}$ e em 1647 cm^{-1} . Assim, sem a presença de bandas novas, assumindo-se uma molécula com uma região polar (ou que pode ser considerada como não polar) e outra molécula não polar e sabendo que a ligação é débil, a possibilidade de que a ligação se dê por forças de van der Waals (dipolo – dipolo induzido ou forças de dispersão) é alta.

4.2.3 Tamanho de cristalito através da equação de Scherrer

Para analisar posteriormente nesta investigação a relação entre o tamanho do material sintetizado e o seu potencial de carga e liberação de artemisinina em condições estabelecidas, utilizou-se o tamanho de cristalito a partir da equação de Scherrer para escolher as amostras que seriam caracterizadas via MET. Deste modo, pode-se obter o tamanho de

partícula e escolher as mais adequadas de acordo com a informação previamente consultada para realizar a aplicação.

Assim, foram escolhidas as seguintes amostras: H2-EN, H2-C-EN, H5, H5-C, H8-EN, H8-C-EN, H8-C-EN, H9-EN, H9-C-EN. Nessa seleção, considerou-se pelo menos uma das amostras e o seu par calcinado sem *Euclea natalensis* e a distribuição de tamanho de cristalitos (o menor tamanho, dois pontos centrais e o maior tamanho). O tamanho do cristalito foi determinado através do *software* Origin[®] Pro e verificou-se que os resultados apresentavam menor erro nas amostras calcinadas. Assim, escolheram-se as quatro amostras calcinadas e seus pares sem calcinar.

Além, encontrasse uma relação entre a temperatura de reação e o tamanho do cristalito aumentando o tamanho com o aumento da temperatura nos valores de 50°C para 75°C e obtendo tamanho parecido nas temperaturas 25°C e 50°C (SIBTE; ABIDI; MURTAZA, 2013)

4.2.4 Análise estatística dos parâmetros

A Tabela 7 apresenta os valores obtidos para a variável resposta a partir do planejamento experimental.

Tabela 7 - Variáveis de resposta do planejamento experimental

Ensaio	Quantidade de extrato de <i>Euclea natalensis</i> (g)	Taxa de gotejamento da reação (mL/min)	Temperatura da reação (°C)	Tamanho de cristalito (nm)
H1-C	0	0,5	25	14,48
H2-C-EN	2,40	0,5	25	11,64
H3-C	0	2,5	25	18,57
H4-C-EN	2,40	2,5	25	12,27
H5-C	0	0,5	75	21,18
H6-C-EN	2,40	0,5	75	21,49

H7-C	0	2,5	75	19,67
H8-C-EN	2,40	2,5	75	17,21
H9-C-EN	1,20	1,5	50	14,34
H10-C-EN	1,20	1,5	50	18,40
H11-C-EN	1,20	1,5	50	11,78

Fonte: elaborado pela autora (2024)

Tabela 8 - Análise de variância (ANOVA): modelo linear e quadrático

Parâmetros	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	F	p
Modelo	7	111,437	16,491	2,21	0,276
Linear	3	79,852	26,617	3,57	0,162
Quantidade de extrato (g)	1	15,915	15,914	2,14	0,240
Taxa de gotejamento (mL/min)	1	0,146	0,146	0,02	0,898
Temperatura (°C)	1	63,791	63,791	8,57	0,061
Quadrático	1	10,775	10,775	1,45	0,315
Quantidade de extrato ´ Taxa de gotejamento	1	10,775	10,775	1,45	0,315
Interação de 2 fatores	3	24,811	8,270	1,11	0,467
Quantidade de extrato ´ Taxa de gotejamento	1	4,874	4,874	0,65	0,478
Quantidade de extrato ´ Temperatura	1	6,109	6,109	0,82	0,432
Taxa de gotejamento ´ Temperatura	1	13,828	13,828	1,86	0,266
Erro	3	22,341	7,447		
Falta de ajuste	1	0,061	0,061	0,01	0,948

Fonte: elaborado pela autora (2024)

Tabela 9 - Resumo do modelo da Tabela 8

S	R-quadrado	R-quadrado (Ajustado)	R-quadrado (predeterminado)
2,72893	83,78%	45,95%	60,80%

Fonte: elaborado pela autora (2024)

$$T.C. (nm) = 9,66 - 5,36 \cdot (A) + 3,27 \cdot (B) + 0,1569 \cdot (C) + 1,54 \cdot (A)^2 + 0,650 \cdot (A) \cdot (B) + 0,0291 \cdot (A) \cdot (C) + 0,0526 \cdot (B) \cdot (C) \quad (5)$$

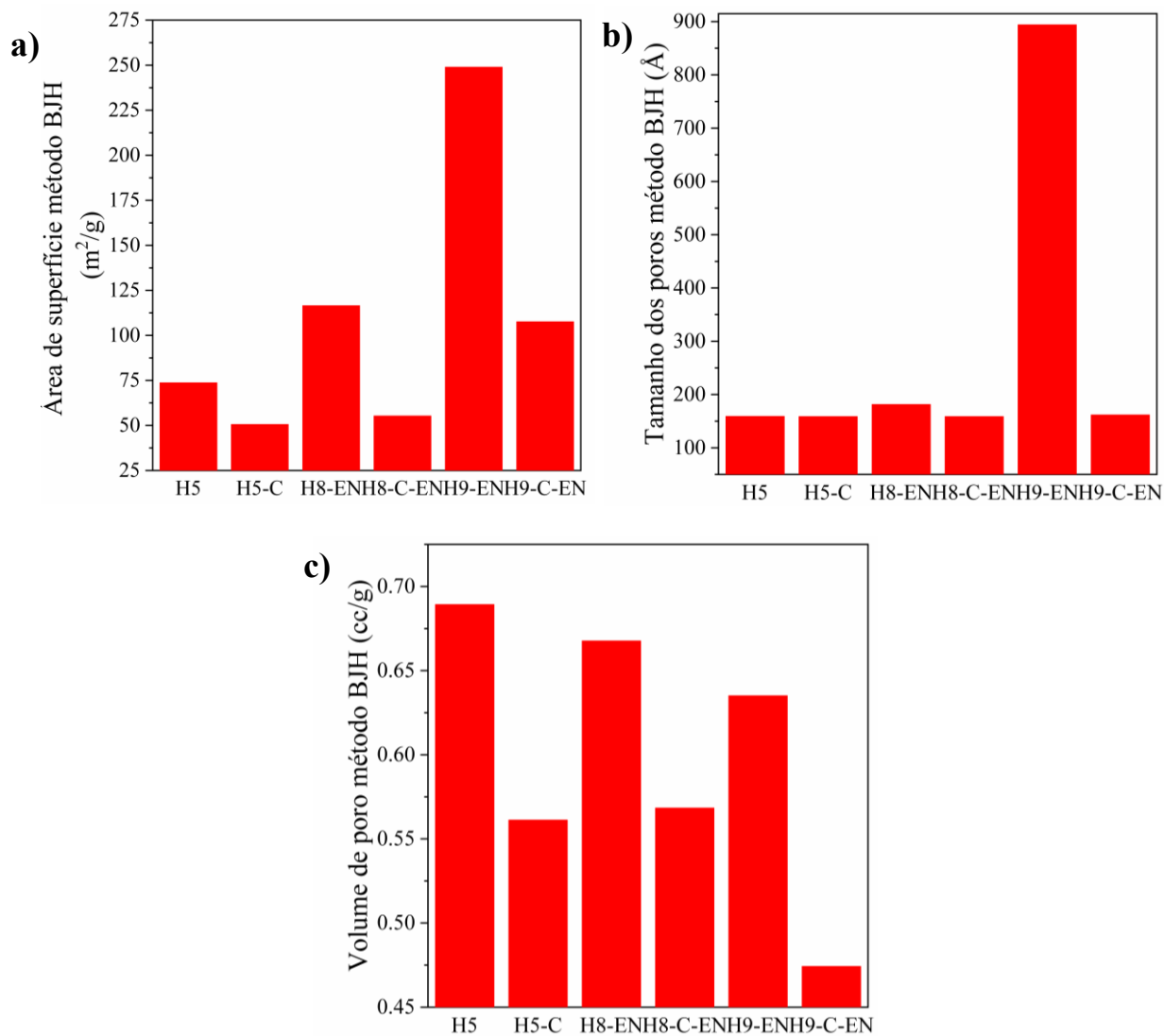
onde A = quantidade do extrato (g), B = taxa de gotejamento (mL/min) e C = temperatura (°C) e T.C. = Tamanho do cristalito.

As Tabelas 8 e 9 apresentam os dados da análise de variância para o modelo linear e o modelo quadrático com um R² de 83,78% e ajustado de 45,95%. É possível confirmar que uma variável é significativa em relação à variável resposta se $p < 0,05$. Assim, nenhuma das três variáveis é significativa com base nos valores máximos e mínimos dos parâmetros, sendo uma possibilidade o teste de outros parâmetros máximos e mínimos. Como consequência, os resultados do diagrama Pareto e uma superfície resposta não teriam confiabilidade e não são apresentados neste documento.

4.2.5 Área superficial, diâmetro médio de poro e volume dos poros

A área de superfície, o tamanho dos poros e o volume dos poros mantêm o comportamento, com uma diminuição no valor das amostras calcinadas em relação às respectivas amostras não calcinadas, devido à perda de material orgânico nas amostras calcinadas (CASTILLO-PAZ et al., 2022). A amostra com a maior área de superfície e o maior tamanho de poro é a H9-EN, enquanto a amostra com a menor área de superfície é a H5-C. No entanto, a H9-EN tem um volume de poro menor do que a H5, o que pode ser gerado pelas condições do processo, em que a H5 teve uma taxa de gotejamento menor, com mais tempo para a formação de suas estruturas.

Figura 19 - Método BJH para H5, H5-C, H8-EN, H8-C-EN, H9-EN, H9-C-EN: (a) área de superfície, (b) tamanho dos poros, (c) volume de poro



Fonte: elaborado pela autora (2024)

4.2.6 Microscopia eletrônica de transmissão – MET

Para esta caracterização, foram escolhidas 4 amostras pelo tamanho de cristalito de acordo com a Seção 4.2.4. Escolheu-se o maior tamanho, o menor tamanho e dois tamanhos intermediários, considerando se a amostra continha ou não o *Euclea natalensis*. Além disso, a caracterização também foi efetuada nos pares não calcinados. As imagens obtidas são

apresentadas na Figura 19, que permitiu obter o comprimento médio registado na Tabela 6 e na Figura 20 - indicando as aglomerações encontradas em cada uma das amostras -.

Tabela 10 - Comprimento médio (nm) por contagem no *software* Image J

Amostra	Partículas contadas	Comprimento médio (nm)
H2-EN	100	17,09
H2-C-EN	100	18,19
H5	86	23,41
H5-C	53	27,67
H8-EN	40	23,77
H8-C-EN	70	22,12
H9-EN	74	17,07
H9-C-EN	100	19,60

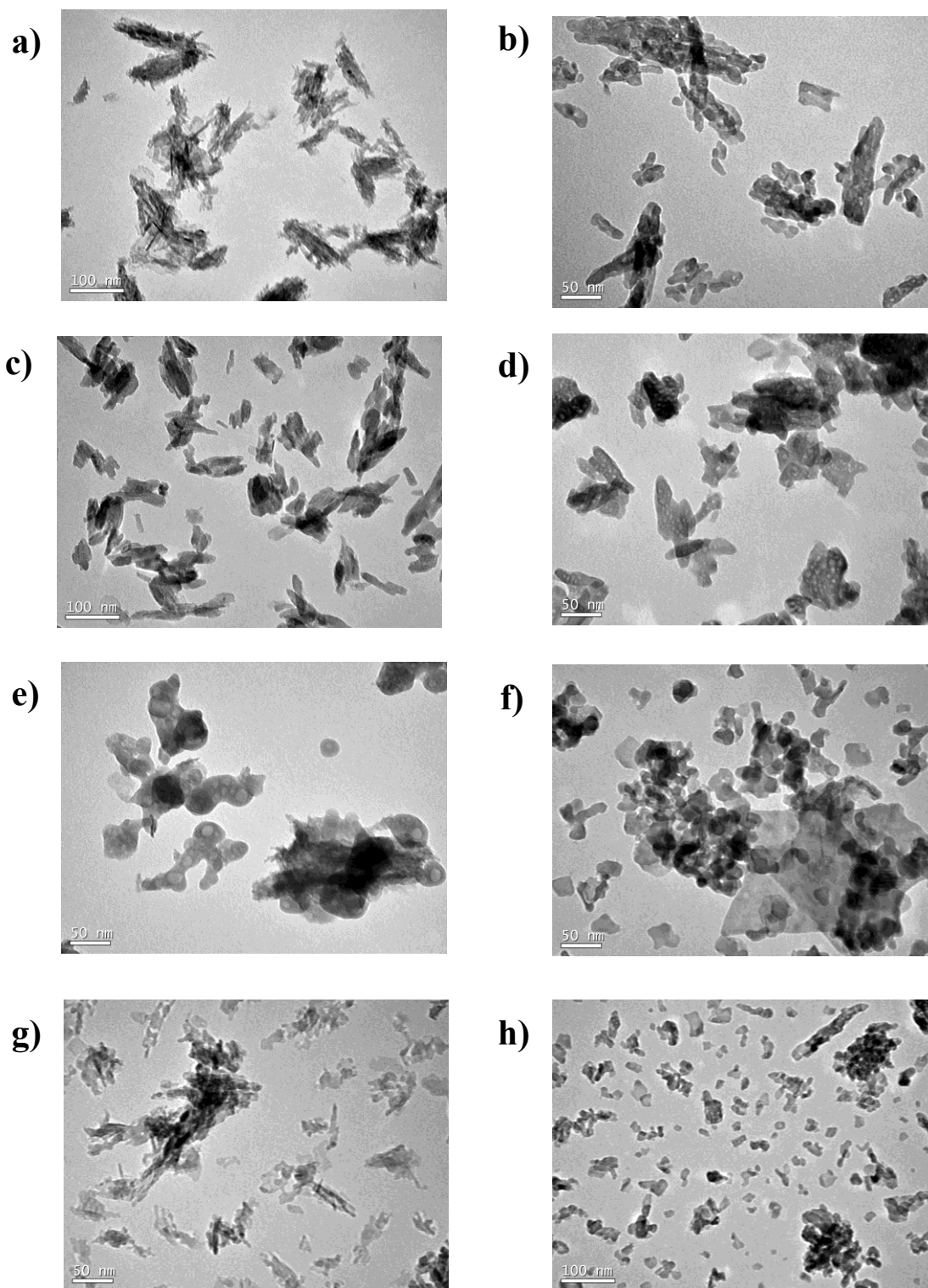
Fonte: elaborado pela autora (2024)

Todas as quatro amostras - com a amostra H5-C sendo a maior e a amostra H2-C-EN sendo a menor entre as amostras calcinadas - apresentaram o mesmo comportamento em relação ao tamanho de partícula e em relação ao tamanho do cristalito, com comprimento médio entre 17,09 nm e 27,67 nm. Tal resultado permite classificar o material como um nanomaterial, pois apresenta tamanho menor a 100 nm. Uma vantagem frente aos materiais micrométricos é a indução de resposta imunológica com mais efetividade (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al., 2022).

O uso da *Euclea natalensis* tinha como objetivo modificar a morfologia do nanomaterial. Observou-se que as amostras que a contêm apresentam morfologias com maior esfericidade, confirmando o resultado de Melgar et al. (MELGAR AGUILAR et al., 2021). Como já foi mencionado anteriormente o extrato contém naftoquinonas e terpenos que facilitam a redução na reação, resultando, assim, em uma morfologia com preferência esférica em relação ao formato bastão. A amostra H9-C-EN possui a morfologia mais esférica e foi sintetizada com velocidade de gotejamento da fonte de fósforo de 1,5 mL/min. Além disso, a temperatura de 50 °C permitiu a formação de tamanhos maiores (SIBTE; ABIDI;

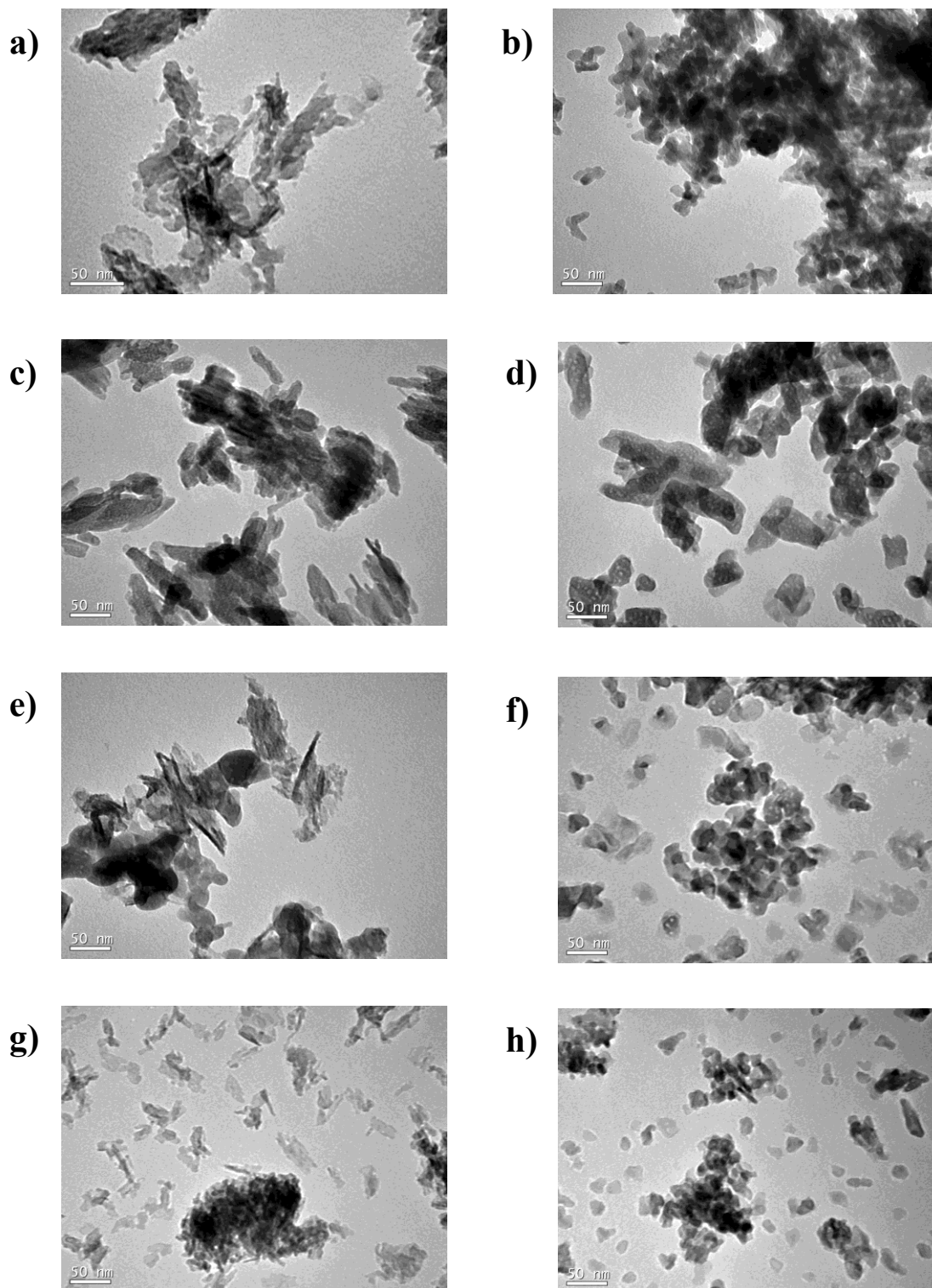
MURTAZA, 2013), em comparação com a amostra H2-C, e diminuiu a tendência de formação da morfologia bastão (SWAIN; SARKAR, 2011).

Figura 20 - Imagens de MET da hidroxiapatita com e sem *Euclea natalensis*: (a) H2-EN, (b) H2-C-EN, (c) H5, (d) H5-C, (e) H8-EN, (f) H8-C-EN, (g) H9-EN, (h) H9-C-EN



Fonte: elaborado pela autora (2024)

Figura 21 - Imagens de MET (material aglomerado) da hidroxiapatita com e sem *Euclea natalensis*: (a) H2-EN, (b) H2-C-EN, (c) H5, (d) H5-C, (e) H8-EN, (f) H8-C-EN, (g) H9-EN, (h) H9-C-EN



Fonte: elaborado pela autora (2024)

Segundo Xiujie Ji et al., é possível obter amostras cobertas por nano-ranhuras labirínticas (JI et al., 2020). Este fenômeno é observado em algumas amostras sintetizadas, possivelmente pelo uso da *Euclea natalensis*.

É importante ressaltar que a amostra H2-C-EN apresenta a menor morfologia esférica dentre aquelas caracterizadas por MET. Assim, essa não foi usada na aplicação pois tem a menor possibilidade de se obter o melhor resultado. Além disso, as caracterizações BET e BJH também não foram realizadas nessa amostra.

4.3 APLICAÇÃO

Nesta seção serão reportadas duas aplicações. A primeira corresponde ao carregamento do fármaco (artemisinina) nas amostras de hidroxiapatita. O processo se deu por adsorção nas condições apresentadas na Seção 3.7.2. A segunda aplicação consistiu na liberação do fármaco carregado em um tempo específico e nas condições da Seção 3.7.3.

4.3.1 Carregamento da artemisinina nas amostras de hidroxiapatita

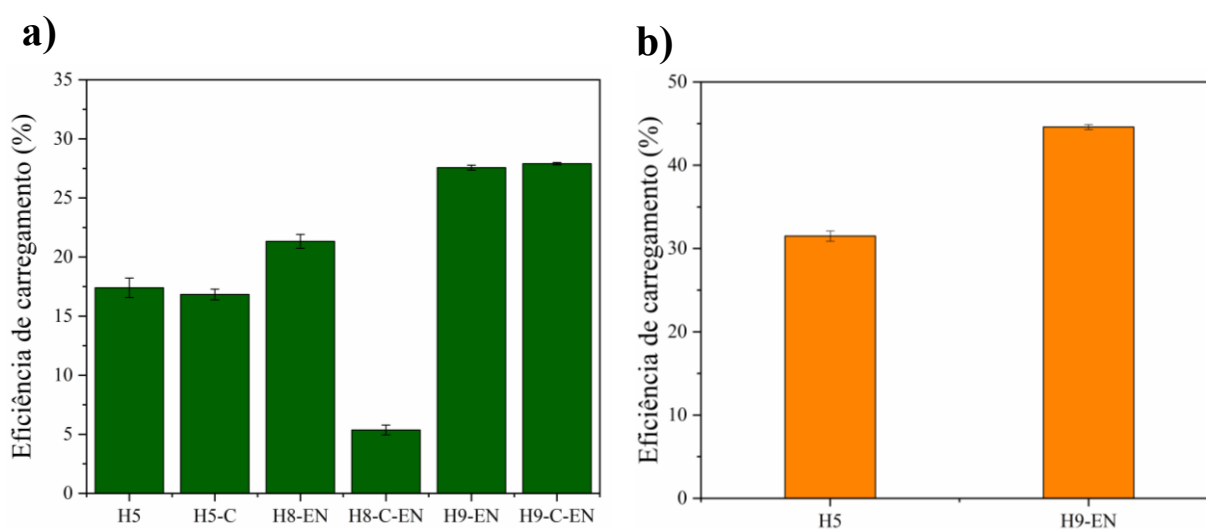
O carregamento da artemisinina foi conduzido por 24 h. Posteriormente, a eficiência de carregamento foi determinada a partir da Equação (6), utilizando-se medições em espectrofotômetro UV-Vis.

$$Ef = \frac{\text{concentração inicial } \left(\frac{mg}{L}\right) - \text{concentração do sobrenadante } (mg/L)}{\text{concentração inicial}} \cdot 100 \quad (6)$$

onde Ef é a eficiência de carregamento. Três amostras com seus pares sem calcinar foram estudadas: H5, H8-EN e H9-EN. Dos três pares de amostras, duas mostraram maior eficiência de carregamento na versão não calcinada, como é mostrado na Figura 22(a). Isso se deve ao maior tamanho de poro, volume de poro e área superficial observados na Figura 19. As amostras não calcinadas apresentam menor cristalinidade, favorecendo os três parâmetros anteriormente nomeados. H5 e H9-EN apresentaram a maior eficiência entre as amostras

usadas na aplicação e foram estudadas usando as condições ótimas de Salahuddin e colaboradores (SALAHUDDIN; IBRAHIM; EL-KEMARY, 2022) em um sistema de adsorção semelhante. Assim, obteve-se um aumento de 60,59% para H5, um aumento de 79,14% para H9-EN com uma eficiência de 44,9% para H9-EN e 31,5% para H5, que pode ser observado na Figura 22b.

Figura 22 - Eficiência de carregamento: (a) relação molar 1:2 artemisinina/hidroxiapatita em 24 h, (b) relação mássica 1:10 artemisinina/hidroxiapatita em 24 h



Fonte: elaborado pela autora (2024)

No desenvolvimento da pesquisa tomaram-se três artigos como referência. Um deles avaliou hidroxiapatita sintetizada com morfologia esférica para a liberação de flomoxef sódico (HASEGAWA et al., 2004). Outro artigo investigou a liberação de artemisinina do material hidropil- β -ciclodextrina (ZHU et al., 2022a). Por fim, o terceiro artigo avaliou o carregamento/liberação de artesunate em hidroxiapatita funcionalizada com citrato (SALAHUDDIN; IBRAHIM; EL-KEMARY, 2022).

Tabela 11. Comparação do resultado de adsorcao com os artigos de referência.

Referência do artigo	Comparação	Valor obtido
(HASEGAWA et al., 2004)	o material sintetizado na pesquisa apresentou	44,9%

	eficiência 0,9% superior na adsorção.	
	o material sintetizado apresentou uma eficiência 22,36% menor. Porém, tal estudo teve foco na liberação em um meio gastrointestinal ao invés de um meio PBS 7,4	44,9%
(ZHU et al., 2022a)		
	o material sintetizado apresentou eficiência 40,1% superior.	44,9%
(SALAHUDDIN; IBRAHIM; EL-KEMARY, 2022)		

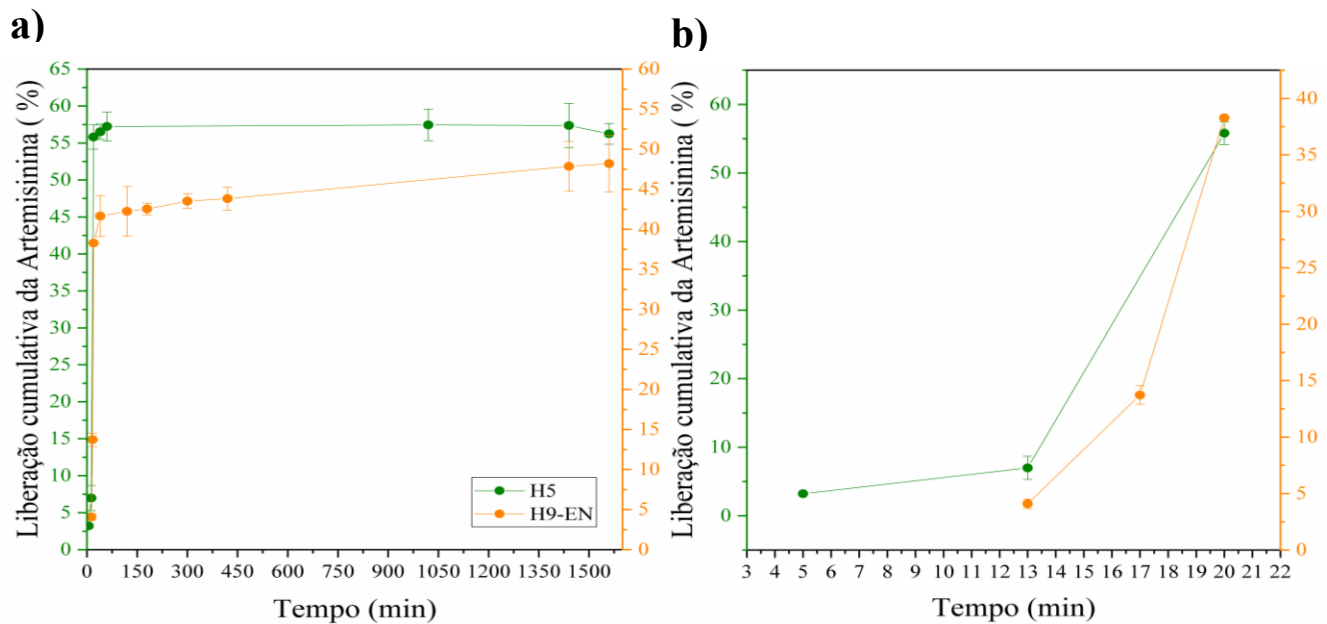
Fonte: elaborado pela autora (2024)

Cabe ressaltar que o material desse estudo foi preparado com processo hidrotermal e precipitação, assim o gasto energético é significativamente superior (JOKICÁ et al., [s.d.]) em reação ao consumo energético para a preparação do material desta pesquisa.

4.3.2 Estudo de liberação da artemisinina em PBS 1X

Dois comportamentos diferentes foram observados na liberação do fármaco em ambas as amostras. Inicialmente há uma liberação acelerada, que assume valores de 38,28% e 55,81% para H9-EN e H5, respectivamente, o que pode ser observado na Figura 23 (b). Mais adiante, na Figura 22 (a), a amostra H5 atinge rapidamente a liberação de 57,22% em uma hora e é mantida até o minuto 1440. Com a amostra H9-EN, após a liberação rápida, ocorre um comportamento controlado com um percentual de liberação final de 48,19% no minuto 1560. A diferença de comportamento pode ter sido provocada pela alteração do tamanho e volume dos poros graças à incorporação de *Euclea natalensis*.

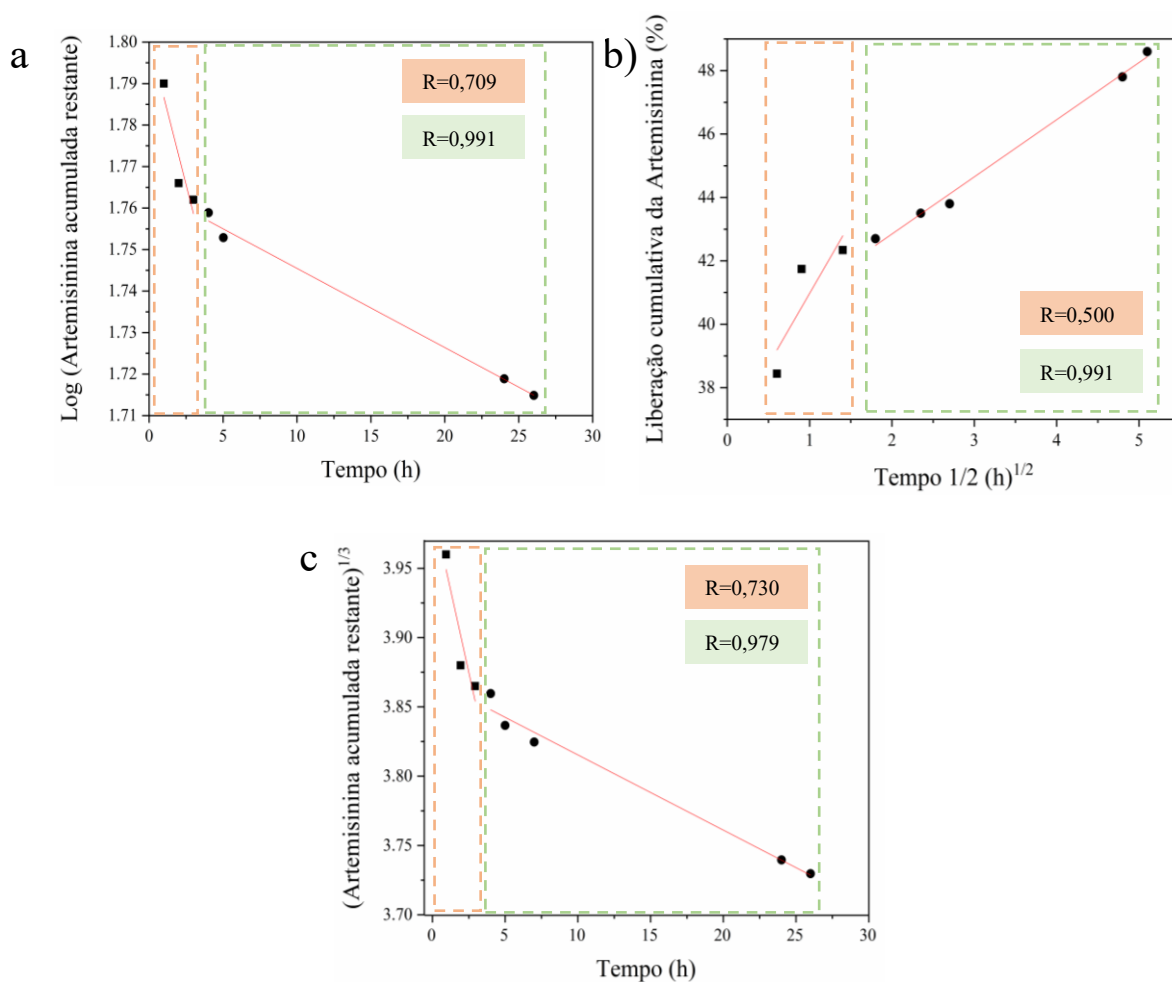
Figura 23 - Liberação cumulativa da artemisinina em H5 e H9-EN: (a) Tempo desde 0 min até 1560 min, (b) Tempo desde 0 min até 20 min.



Fonte: elaborado pela autora (2024)

Os modelos cinéticos de primeira ordem, Higuchi e Hixson-Crowell foram utilizados para ajustar o comportamento de liberação de 0,33 h a 26 h para H9-EN. A Figura 24 mostra graficamente o ajuste da amostra H9-EN com cada modelo (R^2). Cada um destes modelos permite identificar qual o fenômeno que predomina na liberação. Assim, para ambas as amostras o fenômeno predominante é a difusão na segunda parte de liberação, que corresponde ao modelo cinético de Higuchi com valores de 0,991 para H9-EN, confirmando que existe uma liberação mais controlada com a amostra que contém *Euclea natalensis*. Na primeira parte da liberação o fenômeno predominante está determinado pela solubilidade que está mediada pelo tamanho da partícula e a cristalinidade em concordância com o modelo cinético de Hixson-Crowell.

Figura 24 - Modelo cinético para liberação de artemisinina: (a) Primeira ordem H9-EN, (b) Higuchi H9-EN, (c) Hixson-Crowell H9-EN



Fonte: elaborado pela autora (2024)

Da mesma forma, este resultado é consistente com aquele obtido em um sistema de liberação semelhante que contém artesunato em NRs Cit-Hap (SALAHUDDIN; IBRAHIM; EL-)

5. CONCLUSÕES

A partir da síntese, caracterização e aplicação de nano-hidroxiapatita com e sem *Euclea natalenses* no carregamento e liberação de Artemisinina em PBS 1X 7,4 pH via precipitação, pôde-se constatar que:

- A rota precipitação com parâmetros: quantidade de extrato (0 g, 1,20 g e 2,40 g), taxa de gotejamento (0,5 mL/min, 1,5 mL/min e 2,5 mL/min) e temperatura (25 °C, 50 °C e 75 °C) foi efetiva. A presença de hidroxiapatita foi confirmada com as análises DRX e FTIR.
- Com os parâmetros definidos há variação no tamanho de cristalito e no comprimento médio da partícula, porém nenhuma das três variáveis é significativo com base nos valores máximos e mínimos dos parâmetros segundo a análise estatística.
- A área de superfície, o tamanho dos poros e o volume dos poros apresentam diminuição no valor das amostras calcinadas em relação às respectivas amostras não calcinadas.
- Obteve-se materiais nanométricos com comprimento médio entre 17,09 e 27,67 nm.
- As amostras que contêm *Euclea natalensis* apresentam morfologia mais esférica em comparação com aquelas que não contem a substância modificadora, conforme a análise TEM, com maior esfericidade para 1,20 g, 1,5 ml/min, 50 °C e calcinação.
- Dois dos três pares de amostras carregadas com artemisinina por adsorção num período de 24 h obtiveram melhor eficiência na sua versão não calcinada do que na sua versão calcinada, devido à influência do tamanho de poro, do volume de poro e da área superficial.
- Obteve-se um aumento de eficiência de carregamento de 60,59 % para H5 e 79,14 % para H9-EM com a modificação do parâmetro relação artemisinina/hidroxiapatita.

- H5 e H9-EN nas condições preestabelecidas apresentam uma liberação acelerada até o minuto 20 e, posteriormente, H9-EN tem um comportamento de liberação controlada.
- H5 e H9-EN têm como fenômeno predominante a difusão, confirmado pelo maior ajuste do modelo cinético de Higuchi.

Desta forma, a nano-hidroxiapatita foi sintetizada com sucesso com e sem *Euclea natalensis*, tendo-se verificado vantagens na utilização da *Euclea natalensis* que geraram consequências na aplicação com uma abordagem a futuro de aplicação sanguínea e com menor gasto energético devido ao tipo de via utilizada (precipitação). Convém salientar que os resultados obtidos são preliminares, pois não houve um planejamento experimental na secção de aplicação que permitisse otimizar e obter resultados viáveis para aplicação industrial.

REFERÊNCIAS

ADEBISI Y.A. Increasing challenges of malaria control in sub-Saharan Africa: Priorities for public health research and policymakers. 2022.

ADERIBIGBE, B. A.; MUKAYA, H. E. Nanobiomaterials Architected for Improved Delivery of Antimalaria Drugs. Em: **Nanoarchitectonics for Smart Delivery and Drug Targeting**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. p. 169–200.

ADITYA, N. P. et al. Advances in nanomedicines for malaria treatment. 2013.

AFRIANI, F. et al. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science Hydroxyapatite from natural sources: methods and its characteristics Hydroxyapatite from natural sources: methods and its characteristics. [s.d.].

AGBEBOH, N. I. et al. Environmentally sustainable processes for the synthesis of hydroxyapatite. 2020.

AKBARI, M.; MORAD, R.; MAAZA, M. Effect of silver nanoparticle size on interaction with artemisinin: First principle study. **Results in Surfaces and Interfaces**, v. 11, p. 100104, 2023.

BAI, L. et al. Renoprotective effects of artemisinin and hydroxychloroquine combination therapy on IgA nephropathy via suppressing NF- κ B signaling and NLRP3 inflammasome activation by exosomes in rats. **Biochemical Pharmacology**, v. 169, 1 nov. 2019.

BAO, Y. et al. Artemisinin-loaded silk fibroin/gelatin composite hydrogel for wound healing and tumor therapy. 2023.

BATH, D. et al. Articles Effectiveness and cost-effectiveness of reactive, targeted indoor residual spraying for malaria control in low-transmission settings: a cluster-randomised, non-inferiority trial in South Africa. **www.thelancet.com**, v. 397, 2021.

BERZINA-CIMDINA, L.; BORODAJENKO, N. **6 Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.intechopen.com>.

BHARATI, A.; SABAT, S. C. A spectrophotometric assay for quantification of artemisinin. **Talanta**, v. 82, p. 1033–1037, 2010.

BONADIES, I. et al. Electrospun core/shell nanofibers as designed devices for efficient Artemisinin delivery. **European Polymer Journal**, v. 89, p. 211–220, 1 abr. 2017.

CASTILLO-PAZ, A. M. et al. Fabrication and characterization of bioinspired nanohydroxyapatite scaffolds with different porosities. **Ceramics International**, v. 48, n. 21, p. 32173–32184, 1 nov. 2022.

CHANDANSHIVE, B. B. et al. Synthesis of hydroxyapatite nanotubes for biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 5, p. 2981–2986, 1 jul. 2013.

CHANDRA, P. et al. Green synthesis of graphene-hydroxyapatite nanocomposites with improved mechanical properties for bone implant materials. **Materials Chemistry and Physics**, v. 296, p. 127331, 2023.

CHOI, G. et al. A review: Recent advances in sol-gel-derived hydroxyapatite nanocoatings for clinical applications. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 103, n. 10, p. 5442–5453, 1 set. 2020.

DA, M. et al. **ESTUDO TEÓRICO DA INTERAÇÃO EXISTENTE ENTRE A ARTEMISININA E O HEME** *Quim. Nova*. [s.l: s.n.].

D’ALESSANDRO, S. et al. **The use of antimalarial drugs against viral infection**. *Microorganisms* MDPI AG, , 1 jan. 2020.

DAS, S. ARTEMISIA ANNUA (QINGHAO): A PHARMACOLOGICAL REVIEW. v. 3, n. 12, p. 4573–4577, 2012.

DESTAINVILLE, A. et al. **Synthesis, characterization and thermal behavior of apatitic tricalcium phosphate** *Materials Chemistry and Physics*. [s.l: s.n.].

DU, M. et al. **Recent advances in biomedical engineering of nano-hydroxyapatite including dentistry, cancer treatment and bone repair**. *Composites Part B: Engineering* Elsevier Ltd, , 15 jun. 2021.

DWIVEDI, P. et al. Pharmacokinetics study of arteether loaded solid lipid nanoparticles: An improved oral bioavailability in rats. 2014.

EFFIONG F.B, M. V. C. B. E. E. U. O. Commentary Prospects of malaria vaccination in Nigeria: Anticipated challenges and lessons from previous vaccination campaigns. **Annals of medicine and surgery**, 2022.

EKIERT, H. et al. **Artemisia annua-Importance in Traditional Medicine and Current State of Knowledge on the Chemistry, Biological Activity and Possible Applications. Planta Medica** Georg Thieme Verlag, , 1 jul. 2021.

FARKAS, N.-I. et al. The effect of chemical composition and morphology on the drug delivery properties of hydroxyapatite-based biomaterials. **Ceramics International**, v. 49, p. 25156–25169, 2023.

FATHI, M. H.; HANIFI, A. Evaluation and characterization of nanostructure hydroxyapatite powder prepared by simple sol-gel method. **Materials Letters**, v. 61, n. 18, p. 3978–3983, jul. 2007.

FENG, X. et al. Traditional application and modern pharmacological research of *Artemisia annua* L. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 216, 1 dez. 2020.

FOX, K.; TRAN, P. A.; TRAN, N. Recent advances in research applications of nanophase hydroxyapatite. **ChemPhysChem**, v. 13, n. 10, p. 2495–2506, 16 jul. 2012.

GARG, A. et al. Nanomedicine: Emerging Trends in Treatment of Malaria. Em: **Antimicrobial Nanoarchitectonics: From Synthesis to Applications**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. p. 475–509.

GARG, A. et al. Development and investigation of Artemether loaded binary solid lipid nanoparticles: Physicochemical characterization and in-situ single-pass intestinal permeability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, p. 1773–2247, 2020.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, D. A. et al. Hydroxyapatite Nanoparticles as a Potential Long-Term Treatment of Cancer of Epithelial Origin. **Cite This: ACS Appl. Nano Mater**, v. 2022, p. 6170, 2022.

GUJJARI, L. et al. Current challenges and nanotechnology-based pharmaceutical strategies for the treatment and control of malaria. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 17, p. 244, 2022.

GUTAROWSKA, B.; PIOTROWSKA, M. Methods of mycological analysis in buildings. **Building and Environment**, v. 42, n. 4, p. 1843–1850, abr. 2007.

HASAN, M.; BANERJEE, A. N.; LEE, M. Enhanced thermo-optical performance and high BET surface area of graphene@PVC nanocomposite fibers prepared by simple facile deposition technique: N₂ adsorption study. **Journal of Industrial and Engineering**

Chemistry, v. 21, p. 828–834, 25 jan. 2015. HASEGAWA, M. et al. High release of antibiotic from a novel hydroxyapatite with bimodal pore size distribution. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 70, n. 2, p. 332–339, 15 ago. 2004.

HU, Y.; MA, P.; WANG, Y. Construction and properties of an osteogenic-antibacterial functionalised drug delivery system based on hydroxyapatite microspheres. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 140, p. 109419, 2022.

HUH, A. J.; KWON, Y. J. “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. 2011.

HUO, P. et al. Electrospun nanofibers of polycaprolactone/collagen as a sustained-release drug delivery system for artemisinin. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 8, 1 ago. 2021.

IBRAHIM, N. et al. Artemisinin nanoformulation suitable for intravenous injection: Preparation, characterization and antimalarial activities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, n. 2, p. 671–679, 30 nov. 2015.

JI, X. et al. A novel surface patterning nanorod: Hydroxyapatite nano labyrinth, promoted, induced and stabilized by tetrahydrofuran. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 294, 1 mar. 2020.

JIANG, N. **Electron irradiation effects in transmission electron microscopy: Random displacements and collective migrations**. MicronElsevier Ltd, , 1 ago. 2023.

JILLAVENKATESA, A.; SR, R. A. C. **Sol-gel processing of hydroxyapatite**JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE. [s.l: s.n.].

JOKIĆ, B. J. et al. Synthesis and characterization of monetite and hydroxyapatite whiskers obtained by a hydrothermal method. [s.d.].

KOLACZINSKI, K. et al. Extension of indoor residual spraying for malaria control into high transmission settings in Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, p. 852–853, 2007.

KULKARNI, P. R.; YADAV, J. D.; VAIDYA, K. A. **LIPOSOMES: A NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEM**. [s.d.].

LIAN, T.; HO, R. J. Y. **MINIREVIEW Trends and Developments in Liposome Drug Delivery Systems**. [s.l: s.n.].

MAROYI, A. **Review of ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacological properties of euclea natalensis A.DC.** *Molecules* MDPI AG, , 1 dez. 2017.

MARTÍNEZ-VALENCIA, A. B.; ESPARZA-PONCE, H. E.; ORTIZ-LANDEROS, J. **Caracterización estructural y morfológica de hidroxiapatita nanoestructurada: estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis.** [s.l: s.n.].

MATÍĆ, T. M. et al. Sr,Mg co-doping of calcium hydroxyapatite: Hydrothermal synthesis, processing, characterization and possible application as dentin substitutes. *Ceramics International*, v. 48, 2022.

MEEJOO, S.; MANEEPRAKORN, W.; WINOTAI, P. Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating. *Thermochemica Acta*, v. 447, p. 115–120, 2006.

MELGAR, A. E. et al. Green synthesis of hydroxyapatite nanoparticles for biomedical application: a brief review. *International Journal of Advances in Medical Biotechnology - IJAMB*, v. 4, n. 1, p. 54–60, 2 mar. 2021.

MELGAR AGUILAR, A. E. et al. Green Synthesis of Nano Hydroxyapatite: morphology variation and its effect on cytotoxicity against fibroblast. *Materials Letters*, v. 284, 1 fev. 2021.

MOBASHERPOUR, I. et al. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 430, n. 1–2, p. 330–333, 14 mar. 2007.

MOHD PU'AD, N. A. S. et al. Selection and peer-review under responsibility of 4th Advanced Materials Conference. 2018.

MYRICK, J. M.; VENDRA, V. K.; KRISHNAN, S. **Self-assembled polysaccharide nanostructures for controlled-release applications.** *Nanotechnology Reviews* Walter de Gruyter GmbH, , 1 ago. 2014.

NADIA, J.; LU, F. Historical experiences on mass drug administration for malaria control and elimination, its challenges and China's experience: a narrative review. *Acta Tropica*, v. 225, 2022.

NEVES BORGHETI-CARDOSO, L. et al. Promising nanomaterials in the fight against malaria. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 8, n. 41, p. 9428–9448, 7 nov. 2020.

NGONGHALA, C. N. The impact of temperature and decay in insecticide-treated net efficacy on malaria prevalence and control. **Mathematical Biosciences**, v. 355, p. 108936, 2023.

NICOLAO OTIENO, J. et al. **MULTI-PLANT OR SINGLE-PLANT EXTRACTS, WHICH IS THE MOST EFFECTIVE FOR LOCAL HEALING IN TANZANIA?** Afr. J. Trad. CAM. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.africanethnomedicines.net>.

OMWOYO, W. N. et al. Development, characterization and antimalarial efficacy of dihydroartemisinin loaded solid lipid nanoparticles. 2015.

PISOSCHI, A. M. et al. **Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity - A critical view.** **European Journal of Medicinal Chemistry** Elsevier Masson s.r.l., , 5 set. 2018.

PUTTAPPA, N. et al. Nano-facilitated drug delivery strategies in the treatment of plasmodium infection. **Acta Tropica**, v. 195, p. 103–114, 1 jul. 2019.

QIN, X. et al. Fe₃O₄@SiO₂ mesoporous spheres as Fe(ii) donors loaded with artemisinin and a photosensitizer to alleviate tumor hypoxia in PDT for enhanced anticancer therapy. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 22, p. 8761–8773, 2019.

RAGHAVENDRA, K. et al. Insecticide resistance status of malaria vectors in the malaria endemic states of India: implications and way forward for malaria elimination. 2022.

RAYNAUD, S. et al. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. [s.d.].

RUIZ-CASTILLO, P. et al. Insecticide-treated livestock: a potential One Health approach to malaria control in Africa. 2021.

SALAHUDDIN, N.; IBRAHIM, E.; EL-KEMARY, M. Surfactant free-poly(lactic-co-glycolic acid) coated artesunate loaded citrate-functionalized hydroxyapatite nanorods as a nanocapsule for improving artesunate delivery and antitumor efficiency. **Ceramics International**, v. 48, n. 10, p. 13452–13463, 15 maio 2022.

SATHISKUMAR, S. et al. Green synthesis of biocompatible nanostructured hydroxyapatite from *Cirrhinus mrigala* fish scale-A biowaste to biomaterial. 2019.

SHORT R., G. R. , R. M. , H. N. , M.-G. E. J. The use of mosquito nets in fisheries_ A global perspective _ PLOS ONE. **Plos one**, 2018.

SIBTE, S.; ABIDI, A.; MURTAZA, Q. Synthesis and Characterization of Nano-hydroxyapatite Powder Using Wet Chemical Precipitation Reaction. 2013.

SINGHVI, G.; SINGH, M. International Journal of Pharmaceutical Studies and Research REVIEW: IN-VITRO DRUG RELEASE CHARACTERIZATION MODELS. [s.d.].

SODERLUND, D. M. et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v. 171, p. 3–59, 2002.

SWAIN, S. K.; SARKAR, D. A comparative study: Hydroxyapatite spherical nanopowders and elongated nanorods. **Ceramics International**, v. 37, n. 7, p. 2927–2930, set. 2011.

TALMAN, A. M. et al. Artemisinin Bioactivity and Resistance in Malaria Parasites. [s.d.].

TENA, P. **Estudio teórico del mecanismo antimalaria de la artemisinina y sus derivados**. Castellón de la plana: [s.n.].

TOFAIL, S. A. M. et al. **Electrical properties of hydroxyapatite**. Pure and Applied Chemistry. **Anais...**Walter de Gruyter GmbH, 1 mar. 2015.

VEERLA, S. C. et al. Controlled nanoparticle synthesis of Ag/Fe co-doped hydroxyapatite system for cancer cell treatment. **Materials Science and Engineering C**, v. 98, p. 311–323, 1 maio 2019.

VERMA, R. et al. Historical Perspective Hydroxyapatite-based composites: Excellent materials for environmental remediation and biomedical applications. 2023.

WALLNÖFER, B. **The Biology and Systematics of Ebenaceae: a Review**103. Bd. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/41767232?seq=1&cid=pdf->>>.

WISNIEWSKI, J. et al. Systematic review and meta-analysis of the cost and cost-effectiveness of distributing insecticide-treated nets for the prevention of malaria. 2019.

WOERDENBAG, H. J.; LUGT, C. B.; PRAS, N. **Artemisia annua L.: a source of novel antimalarial drugs**. [s.l: s.n.].

YANG, J. et al. Advances in the research on the targets of anti-malaria actions of artemisinin. 2020.

YEETAY, G. A.; OWUSU-AGYEI, S.; ASANTE, K. P. Vaccine: Development and Therapy Kwaku Poku Asante. 2016.

ZAMPIERON, C. I. et al. *Ceramics International* xxx (xxxx) xxx Effect of heat-treatment temperature on the structure of calcium phosphate synthesized by wet precipitation. 2023.

ZHANG, H. K. et al. **A critical assessment of experimental investigation of dynamic recrystallization of metallic materials.** *Materials and Design* Elsevier Ltd, , 1 ago. 2020. ZHAO, X. et al. Artemisinin Improved Neuronal Functions in Alzheimer's Disease Animal Model 3xtg Mice and Neuronal Cells via Stimulating the ERK/CREB Signaling Pathway. 2019.

ZHU, W. et al. Artemisinin hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex loaded with porous starch for enhanced bioavailability. ***International Journal of Biological Macromolecules***, v. 211, p. 207–217, 2022a.

ZHU, W. et al. Artemisinin hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex loaded with porous starch for enhanced bioavailability. ***International Journal of Biological Macromolecules***, v. 211, p. 207–217, 30 jun. 2022b.