

DOI: <https://doi.org/10.48195/sepe2025.29592>

ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL DE TOXICIDADE DE UM NANOCOMPÓSITO POLIMÉRICO PARA POTENCIAL APLICAÇÃO EM REGENERAÇÃO ÓSSEA

Daniel Moro Druzian^{1*}, Alencar Kolinski Machado², Giovani Pavoski³, Jorge Alberto Soares Tenório³, Denise Croce Romano Espinosa³, William Leonardo da Silva⁴

RESUMO

O aumento de expectativa de vida da população vem ocasionando aumento nos problemas degenerativos inflamatórios nos ossos. Neste sentido, os biomateriais nanoestruturados surgem como um potencial alternativo para substituição parcial ou completa das estruturas ósseas, em especial os nanocompósitos poliméricos, em virtude das excelentes propriedades de osteocondução/reabsorção e mecânica. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo desenvolver e caracterizar um nanocompósito polimérico à base de hidroxietilcelulose com nanoreforços de nanobiovidro dopado com nanopartículas de óxido de magnésio e montmorilonita nanoestruturada para avaliação teórica e experimental da toxicidade, por meio de testes *in silico* utilizando modelos de predição de toxicidade online (como o pKCSM e o ProTox II) e ensaios experimentais de ecotoxicidade com *Artemia salina*, respectivamente. Os resultados de predição *in silico* consideraram o nanocompósito polimérico seguro com predições em ratos de relacionado a toxicidade aguda de LD₅₀ de 2,52 (log mol.kg⁻¹) e toxicidade crônica de 2,92 (log kg.kg⁻¹.dia⁻¹). Enquanto, os ensaios experimentais de ecotoxicidade do nanocompósito polimérico demonstraram baixa mortalidade em *Artemia salina* com concentração elevada do IC₅₀ de 1630 µg.mL⁻¹ e, destacaram por integrar as propriedades dos constituintes, sugerindo potencial aplicação como condicionador de solo e fonte multifuncional de nutrientes. Vale destacar, que a nanotecnologia, ao desenvolver materiais em escala nanométrica, é um ponto de partida para essa cadeia de avaliação, ressaltando, a compreensão de como as propriedades nanométricas afetam a toxicidade e a ecotoxicidade é fundamental para o desenvolvimento de nanomateriais mais seguros e sustentáveis. Por conseguinte, foi possível desenvolver, investigar e analisar o nanocompósito polimérico para uso na área de regeneração óssea, com resultados promissores em termos de segurança de toxicidade e ecotoxicidade.

Palavras-chave: Análises *in silico*, *A. salina*, Ecotoxicidade, Nanomateriais.

¹MSc. Daniel Moro Druzian, Doutorando, Universidade Franciscana, Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Santa Maria-RS, Brasil. E-mail: daniel.druzian@ufn.edu.br, ORCID: 0009-0005-0198-1482

²Professor. Dr. Alencar Kolinski Machado, Doutor, Universidade Franciscana, Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Santa Maria-RS, Brasil. E-mail: alencar.machado@ufn.edu.br, ORCID: 0000-0002-8202-3382

³Giovani Pavoski, Jorge Alberto Soares Tenório, Denise Croce Romano Espinosa, Doutores, Universidade de São Paulo, Laboratório de Reciclagem, Tratamento de Resíduos e Extração, São Paulo-SP, Brasil. E-mail: giovanipavoski@gmail.com; jtenorio@usp.br; espinosa@usp.br; ORCID: 0000-0002-2610-6669; 0000-0002-7849-7470; 0000-0003-2359-9485

⁴Professor. Dr. William Leonardo da Silva, Doutor, Universidade Franciscana, Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Santa Maria-RS, Brasil. E-mail: w.silva@ufn.edu.br, ORCID: 0000-0002-7804-9678

1. INTRODUÇÃO

Problemas degenerativos, inflamatórios e fraturas nos tecidos ósseos afetam milhões de pessoas, ocasionando à substituição desses tecidos ósseos por biomateriais (Cope *et al.*, 2019; Polo-Corrales, 2014). Vale destacar que a utilização da nanotecnologia para a produção de nanobiomateriais tem se desenvolvido rapidamente, buscando aumentar as propriedades únicas e tornando-os atrativos para aplicações em diversos processos que envolvem a regeneração óssea. como a montmorilonita nanoestruturada (nM), o nanobiovidro dopado com nanopartículas de óxido de magnésio (nBV), o nanoreforço de montmorilonita e nanobiovidro dopado com nanopartículas de óxido de magnésio (nM/nBV) e o nanocompósito polimérico contendo hidroxietilcelulose e o nanoreforço (P/nM/nBV) (Druzian *et al.*, 2024).

Deste modo, os nanobiovidros contendo nanopartículas metálicas surgem como uma alternativa relevante para aumentar a cinética de formação da camada de fósforo e cálcio, promovendo uma maior velocidade no processo de osteocondutividade, proporcionando um aumento de adesão com o substrato ósseo (Zhao *et al.*, 2023). Paralelamente, o nMT é um composto de sílica, alumínio e magnésio, que apresenta uma estrutura de folhas tetraédricas e octaédricas, apresentando diferentes propriedades, como a elevada área superficial ($> 50 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$), estabilidade química e considerável alta carga de lamelas (Wu *et al.*, 2019). Adicionalmente, a hidroxietilcelulose (P) é uma matriz polimérica derivada da celulose que apresenta bom espessamento, suspensão, dispersão, emulsificação e a possibilidade de formação de filmes semelhantes ao da celulose, sendo biodegradável ou bioabsorvível (Luo *et al.*, 2015). Além disso, destaca-se que nanocompósitos são materiais multifásicos, onde pelo menos uma das fases constituintes tem uma dimensão na faixa de 1-100 nm, sendo constituídos de uma fase contínua (denominada matriz, geralmente polímeros) e uma fase dispersa (denominado reforço).

Para analisar processos biológicos e químicos, um dos métodos consiste na utilização de testes *in silico* que se baseia em simulações computacionais para modelar e analisar os componentes, sendo uma ferramenta essencial na pesquisa científica moderna, oferecendo vantagens, como a redução de custos, capacidade de análise em larga escala, exploração de hipóteses complexas e, principalmente, a redução de experimentos *in vivo* (Sutcliffe *et al.*, 2024). Além disso, as análises *in silico* para materiais na regeneração óssea modelam o comportamento mecânico, mimetizando o ambiente ósseo, bem como, preveem a taxa de osteointegração e o crescimento ósseo ao redor do implante (Alves *et al.*, 2018).

Em relação aos testes de ecotoxicidade, são utilizados para quantificar e analisar os efeitos tóxicos de substâncias químicas no ambiente, especialmente em organismos de ecossistemas aquáticos e terrestres, avaliando os efeitos imediatos (como agudos) ou prolongados (como crônicos), a bioacumulação e a biodegradabilidade de nanomateriais (Ale *et al.*, 2024). Vale destacar que a relação entre biomateriais e ecotoxicidade é um aspecto fundamental ao se considerar a sustentabilidade ao longo do ciclo de vida das nanoestruturas, como na segurança dos produtos de degradação de biomateriais que deve ser garantida quando descartados ou incinerados, sem afetar os organismos ambientais ou apresentar um risco ecológico significativo (Ragavendran *et al.*, 2024).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a toxicidade *in silico* e a ecotoxicidade experimental de um nanocompósito polimérico à base de hidroxietilcelulose e nanobiovidro e montmorilonita nanoestruturada, para seu potencial aplicação em regeneração óssea. Vale destacar que visa contribuir para o desenvolvimento sustentável e a qualidade de vida, atendendo aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU), com destaque para o Objetivo 3 (Saúde e Bem-Estar - Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades) e o Objetivo 9 (Inovação Infraestrutura - Construir infraestrutura resiliente, promover a industrialização inclusiva e sustentável, e fomentar a inovação).

2. METODOLOGIA

2.1. DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO P/nM/nBV

Inicialmente para produção dos nanomateriais foram extraídos a sílica (SiO₂) e a alumina (Al₂O₃) da casca de arroz de uma indústria de beneficiamento de grãos e do lodo residual de uma estação de tratamento de água, respectivamente. Nesse sentido, a casca de arroz foi pré-peneirada ($\phi = 12$ cm), moída (30 min), tratada quimicamente com HCl (0,1 mol.L⁻¹ / 250 rpm / 120 min) e calcinada (700 °C / 120 min / 10 °C.min⁻¹). Enquanto, o lodo residual foi tratado termicamente a 400 °C / 120 min / 10 °C.min⁻¹, conforme a literatura (Fernandes *et al.*, 2014). Para o desenvolvimento do nM, nBV, nM/nBV e P/nM/nBV foram utilizados os métodos hidrotérmicos, sol-gel assistido por ultrassom, impregnação e polimerização *in situ* seguido de liofilização, respectivamente (Druzian *et al.*, 2024). Para a caracterização dos nanomateriais, foram utilizadas as técnicas de difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), porosimetria de N₂ (método BET/BJH) e Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia por Energia Dispersiva (MEV-EDX). Vale mencionar que as equações de Bragg (Eq. 1), e Debye-Scherrer (Eq. 2) foram usadas para determinar a distância interplanar (d) e o tamanho médio do cristalito (d_c), respectivamente (Thommes *et al.*, 2015).

$$d = \frac{\lambda_{\text{Cu-}\alpha}}{2 * \sin(\theta)} \quad (1)$$

$$d_c = \frac{0,94 * \lambda_{\text{Cu-}\alpha}}{\beta * \cos(\theta)} \quad (2)$$

onde o $\lambda_{\text{Cu-}\alpha}$ é a radiação do tubo de cobre de 0,154 nm, θ é o ângulo de difração de Bragg (°) e β é a largura total na metade do máximo do pico

2.2. TESTES *IN SILICO* PARA PREDIÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA, EFEITOS COLATERAIS E ECOTOXICIDADE

Os estudos de predição de toxicidade e efeitos colaterais *in silico* foram realizados para estimar os possíveis efeitos toxicológicos dos principais compostos presentes nos componentes, em relação à similaridade molecular, propensões a fragmentos e características de aprendizado de máquina mais frequentes, com base em modelos reais pré-determinados (*in vitro* e *in vivo*), como os softwares pkCSM e o ProTox-II (Lagunin *et al.*, 2011).

Para prever a mutagenicidade e a carcinogenicidade *in silico* dos componentes foram utilizados os softwares online pkCSM e ProTox-II. Nesse sentido, o teste de Ames foi realizado para prever a mutagenicidade, permitindo a detecção de mutações no material genético envolvido na síntese do aminoácido histidina, geralmente utilizando cepas bacterianas. Enquanto, a predição do potencial carcinogênico de nanobiomateriais em roedores foi realizada utilizando dados do Programa Nacional de Toxicologia (NTP).

A toxicidade aguda *in silico* em ratos dos componentes foi realizada utilizando os *softwares* ProTox-II e pkCSM, avaliando a hepatotoxicidade, imunotoxicidade, citotoxicidade e dose máxima tolerada em humanos. Além disso, a classe de toxicidade aguda em ratos foi definida de acordo com o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos. A previsão da toxicidade aguda e bioacumulação *in silico* dos componentes em microrganismos aquáticos foram realizados utilizando os *softwares* GUSAR e pkCSM, utilizando como bioindicadores em ecotoxicologia os microcrustáceos *Daphnia magna*, peixe-cabeça-gordo (*Fathead minnow*) e o organismo modelo como bioindicador ambiental *Tetrahymena pyriformis*. Dessa forma, as informações utilizadas foram obtidas do PubChem e no Materialsproject, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Características estruturais e moleculares dos componentes utilizados para os ensaios *in silico*.

Amostras	Composição Smiles	Fórmula Molecular
P	CC1C(C(C(C(O1)CO)OC2C(C(C(C(O2)COC3C(C(C(C(O3)CO)OC)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)OC)O)OCCO)O)O)O	C ₂₉ H ₅₂ O ₂₁
nM	O.[O-2].[O-2].[O-2].O=[Si]=O.O=[Si]=O.O=[Si]=O.O=[Si]=O.[Al+3].[Al+3]	Al ₂ H ₂ O ₁₂ Si ₄
nBV	[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[Na+].[Na+].[Si].P.P.[Ca+2].O=[Mg]	CaH ₆ Mg ₂ Na ₂ O ₁₁ P ₂ Si ₁₄
nM/nBV	O.[O-2].[O-2].[O-2].O=[Si]=O.O=[Si]=O.O=[Si]=O.O=[Si]=O.[Al+3].[Al+3].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[Na+].[Na+].[Si].P.P.[Ca+2].O=[Mg]	Na ₂ Al ₂ Si ₅ P ₂ C aMgO ₁₉
P/nM/nBV	CC1C(C(C(C(O1)CO)OC2C(C(C(C(O2)COC3C(C(C(C(O3)CO)OC)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)OC)O)OCCO)O)O)O.O.[O2].O=[Si]=O.O=[Si]=O.O=[Si]=O.O=[Si]=O.[Al+3].[Al+3].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[O-2].[Na+].[Na+].[Si].P.P.[Ca+2].O=[Mg]	C ₄₂ H ₇₂ O ₃₆ Na ₂ Al ₂ Si ₅ P ₂ CaM gO ₁₉

Fonte: Construção do autor (2025).

2.3. ENSAIOS EXPERIMENTAIS DE ECOTOXICIDADE

Os ensaios experimentais de ecotoxicidade aguda foram realizados em *Artemia salina* baseando-os NBR16530 (2021), onde os cistos de *Artemia salina* foram cultivados em água do mar reconstituída (salinidade de 35 g.L⁻¹ / pH de 8,0 ± 0,5 / 25 ± 2 °C / 24 horas sob aeração). Posteriormente, os cistos eclodidos foram expostos a 4 concentrações de nanomateriais (0,1 a 300 µg.mL⁻¹), onde foram denotados sobre mobilidade e mortalidade após 24 horas, por exemplo, concentração da amostra que causa letalidade em 50% de *Artemia salina* nos organismos de teste (CL₅₀). Além disso, a água do mar reconstituída foi usada como controle negativo (NC), enquanto uma solução de CuSO₄ (6 mg.mL⁻¹) foi utilizada como controle positivo (PC).

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações estatísticas e a análise de variância (ANOVA unidirecional) foram utilizadas, seguidas de avaliações post hoc de Dunnet com o software GraphPad Prism 7.0[®]. Os resultados com (*) p < 0,033, (**) p < 0,002 e (***) p < 0,001 foram considerados significativos. Para os testes *in silico* de predição de toxicidade e ecotoxicidade, foi utilizado os softwares online: pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>); ProTox-II (https://tox.charite.de/protox3/index.php?site=compound_input) e GUSAR (<https://www.way2drug.com/gusar/acutoxpredict.html>).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CARACTERIZAÇÃO DO NANOCOMPÓSITO POLIMÉRICO

A Figura 1(a) apresenta os difratogramas para o P/nM/nBV, onde o nanocompósito polimérico consistiu em três fases cristalinas como: (i) Muscovita 2M1 (Al₃H₂KO₁₂Si₃, ICDD n°. 00-046-1409 com d_c de 44,4 nm) em 27,92° (001, d = 3,19 Å); (ii) Quartzo Baixo (SiO₂, ICDD n°. 00-046-1045 com d_c de 43,24 nm) em 26,18° (111, d = 3,39 Å); e (iii) Pentóxido de fósforo (P₂O₅, ICDD: n°. 23-1301 com d_c de 5,22 nm) em 22,07° (002, d = 4,04 Å). Vale destacar que a ausência de fases cristalinas do nM no P/nM/nBV indica um elevado grau de esfoliação da lamela de nM, possivelmente devido à excelente dispersão das nanofolhas de nM na matriz de P.

O espectro de FTIR (Figura 1b) do P/nM/nBV indicou a presença dos seguintes estiramentos relacionados ao P em: (i) 3620 a 3090 cm⁻¹: vibrações de estiramento O-H; (ii) 2990 a 2800 cm⁻¹: vibrações de estiramento -CH; (iii) 1690 a 1590 cm⁻¹: estiramento C=O da amida I; (iv) 1530 a 1420 cm⁻¹: flexão -NH da amida II; (v) 1280 a 1190 cm⁻¹: estiramento CN e NH da amida III; e (vi) 1140 a 910 cm⁻¹: estiramento C-O-C. Além disso, o estiramento em 720 cm⁻¹ denota vibrações de estiramento Si-O-Al da rede cristalina relacionado ao nM (Zhao

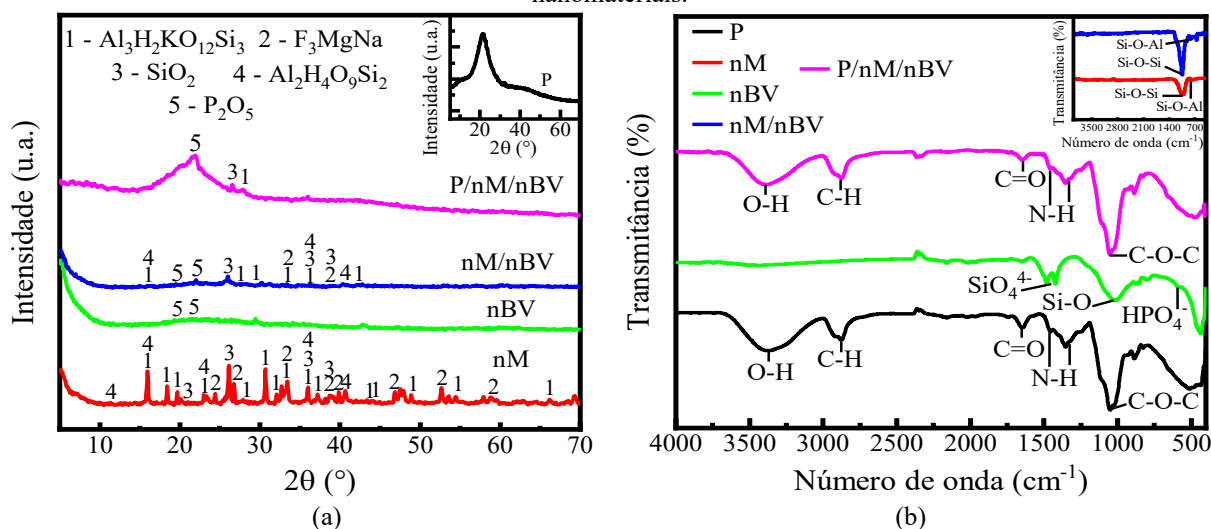
et al., 2018). Vale destacar, a ausência de bandas típicas do nM e do nBV, como Si-O-Si em 1080 a 1030 cm^{-1} , Si-O-Al em 860 a 765 cm^{-1} e HPO_4^- em 610 a 575 cm^{-1} , não foram observadas no P/nM/nBV devido à sobreposição com bandas do P.

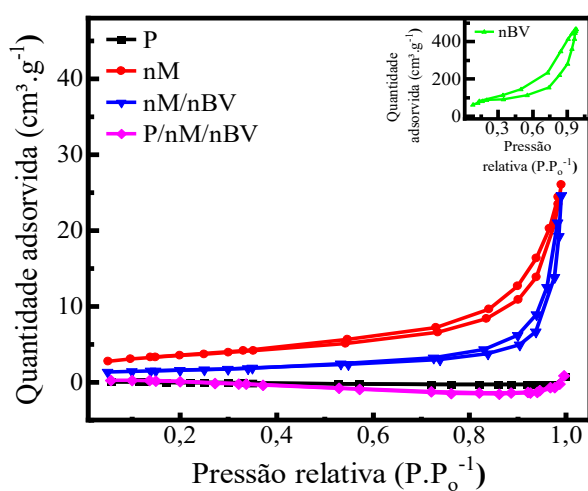
Figura 1(c) apresenta as isotermas de adsorção/dessorção de N_2 , onde o P/nM/nBV demonstrou uma isoterma do tipo IV(a) com histerese H4 e propriedades texturais como o S_{BET} de $0,4 \pm 0,1\text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, D_p de $33,1 \pm 0,9\text{ nm}$ e V_p de $0,004 \pm 0,0002\text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$, indicando um aumento na adsorção de N_2 em baixas pressões contendo poros em fendas, classificando-o como um nanomaterial mesoporoso de 2 a 50 nm de D_p . Vale destacar que a área de superfície do P/nM/nBV diminui em comparação com P e do nM/nBV separados em virtude da incorporação de íons que intervêm na energia de superfície da estrutura do P, obstruindo as redes covalentes contendo os óxidos.

Figura 1(d) apresenta uma micrografia MEV do P/nM/nBV, onde evidência na região central uma morfologia granular e mais densa inserida ao P de matriz porosa. Além disso, os grãos particulados indicam controle de tamanho e dispersão do P/nM/nBV, sendo importante para evitar aglomeração e permitir interações celulares eficientes. Enquanto a aderência e a integração do P/nM/nBV com o P ao redor é um indicativo de compatibilidade biológica e potencial para ossointegração. Vale ressaltar que a presença de poros é essencial para a vascularização e migração celular, processos cruciais na regeneração óssea (Zhao *et al.*, 2019).

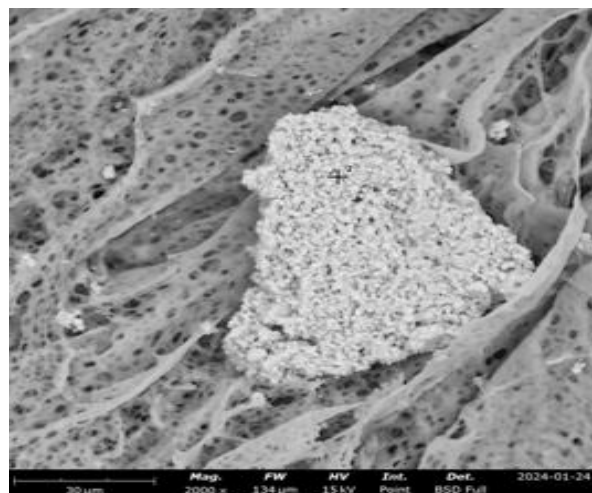
A análise de ponto elementar EDX foi realizada para investigar os elementos presentes no P/nM/nBV (Figura 1e), onde os componentes majoritários foram C ($49,1\%$ em massa) e O ($44,2\%$ em massa), derivados da matriz polimérica, bem como Na ($0,7\%$ em peso), Ca ($0,5\%$ em peso), P ($0,4\%$ em peso) e Al ($0,1\%$ em peso) originados do nM/nBV. Além disso, a razão Si/Al encontrada foi elevada, indicando uma rede altamente interconectada de óxidos, fornecendo espaço vital suficiente para as células aderirem e promoverem a mineralização óssea. Por conseguinte, foi possível desenvolver o P/nM/nBV sugerindo propriedades adequadas para a regeneração óssea.

Figura 1 - (a) Difratogramas de DRX, (b) Espectros de FTIR, (c) Isotermas de adsorção/dessorção de N_2 , (d) micrografia eletrônica de varredura com 2000x magnificação e (e) composição elementar pelo EDX dos nanomateriais.

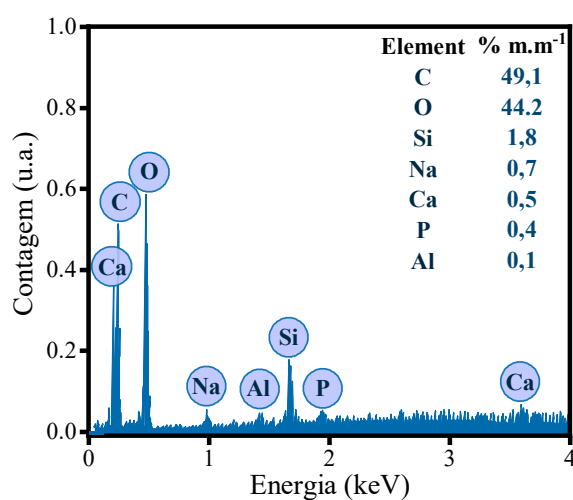




(c)



(d)



(e)

Fonte: Construção do Autor (2025).

3.2. ESTUDOS *IN SILICO*

3.2.1. Estudos de predição *in silico* da toxicidade aguda e efeitos adversos de componentes usando o modelo pKCSM

As Tabelas 2 ao 6 apresentam os resultados da predição *in silico* para absorção, distribuição, excreção, metabolismo e toxicidade, utilizando o modelo pKCSM. Os resultados de absorção (Tabela 2) indicaram: (i) Permeabilidade a Caco-2: as amostras apresentaram baixa permeabilidade ($\log P_{app} 10^{-6} \text{ cm.s}^{-1} < 0,90$), ou seja, baixa absorção intestinal oral; (ii) Baixa solubilidade em água (em 25 °C) de -2,61 a -4,45 ($\log \text{ mol.L}^{-1}$), mostrando uma dificuldade de atravessar as células; e (iii) Permeabilidade cutânea: as amostras demonstraram permeabilidade cutânea moderada ($\log K_p (\text{cm.h}^{-1}) < -2,5$). Sobre os resultados de distribuição (Tabela 3): (i) Distribuição de VDss: as amostras apresentaram valores de -0,25 a -1,64 ($\log \text{ L.kg}^{-1}$), sendo considerados baixos indicando uma distribuição uniforme no plasma sanguíneo; (ii) Fração não ligada: as amostras apresentaram valores elevados ($> 0,3 F_u$), sugerindo uma ligação com proteínas séricas, diminuindo a eficácia de atravessar membranas celulares; e (iii) Permeabilidade BBB e SNC: as amostras são consideradas incapazes de penetrar no SNC ($\log PS < -3$) e demonstraram permeabilidade da barreira hematoencefálica de moderada a baixa ($\log BB$ de -2 a -6).

Sobre os resultados de excreção (Tabela 4): (i) Substrato renal OCT2 e a depuração total: depuração moderada ($\log 1$ a $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$), sugerindo depuração hepática ou depuração renal e não indicaram um substrato de OCT2. Enquanto o metabolismo (Tabela 5), todos os materiais não inibiram os substratos sCYP2D6 e sCYP3A4 e não houve redução ou bloqueio da atividade de redução do CYP450, relacionada ao metabolismo de certos compostos que promovem reações de oxidação, redução e hidrólise na fase I do metabolismo. Para as previsões de toxicidade (Tabela 6): (i) Toxicidade AMES: testes negativos indicando que os compostos não são mutagênicos; (ii) Dose máxima tolerada: o P/nM/nBV foi considerado em doses baixas ($< 0,477 \log \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$); (iii) Inibidores de hERG I e II: o P/nM/nBV demonstrou inibição prevista do gene hERG II; (iv) Toxicidade aguda oral em ratos (LD_{50}): apresentaram valores de concentrações elevadas de 1,99 a 3,35 ($\log \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$), indicando que os compostos são considerados seguros; (v) Toxicidade crônica oral em ratos: o P/nM/nBV apresentou uma dose alta de 2,92 ($\log \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$), sugerindo ser potencialmente segura; (vi) Hepatotoxicidade: nenhuma das amostras apresentou predição de lesão hepática; e (vii) Sensibilização cutânea: as amostras não induziram sensibilização cutânea.

Desse modo, os resultados *in silico* são possivelmente justificados devido à estrutura cristalina dos materiais, dificultando a difusão através das membranas celulares intestinais afetando diretamente à biodegradabilidade dos componentes e aos processos de troca iônica, ao mesmo tempo, modificando a biodisponibilidade de compostos que interagem com os canais celulares.

Tabela 2 - Estudos de predição de toxicidade *in silico* da absorção usando o modelo pKCSM.

Amostr as	Permeabilid ade Caco-2 ($\log \text{ Papp } 10^{-6} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$)	Solubilida de na água($\log$ $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Absorç ão intestin al (%)	Permeabilid ade na pele ($\log \text{ Kp}$ $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$)	Substrato P- glicoproteí na (Sim/Não)	Inibição P- glicoproteí na I (Sim/Não)	P- glycoprot ein II inhibition (Yes/No)
P	0,34	-2,61	16,36	-2,73	Sim	Não	Não
nM	-0,36	-3,79	40,61	-2,72	Não	Não	Não
nBV	0,08	-4,45	14,27	-2,73	Sim	Não	Não
nM/nBV	-0,40	-2,92	---	-2,73	Sim	Não	Não
P/nM/nB V	0,21	-2,89	---	-2,73	Sim	Não	Não

Fonte: Construção do autor (2025).

Tabela 3 - Estudos de predição de toxicidade *in silico* da absorção usando o modelo pKCSM.

Amostras	VDss ($\log$ $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Fração não ligada (Fu)	Permeabilidade BBB ($\log$ BB)	Permeabilidade CNS ($\log$ PS)
P	-0,25	0,50	-2,10	-4,72
nM	-1,64	0,73	-2,79	-3,64
nBV	-1,14	0,74	-2,31	-3,63
nM/nBV	-1,40	0,46	-5,70	-4,46
P/nM/nBV	-0,25	0,39	-4,64	-6,20

Fonte: Construção do autor (2025).

Tabela 4 - Estudos de predição de toxicidade *in silico* da excreção usando o modelo pKCSM.

Amostras	Total clearance ($\log \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Substrato renal OCT2 (Sim/Não)
P	1,98	Não
nM	3,54	
nBV	-3,14	
nM/nBV	-3,98	
P/nM/nBV	-0,91	

Fonte: Construção do autor (2025).

Tabela 5 - Estudos de predição de toxicidade *in silico* do metabolismo usando o modelo pKCSM.

Amostras	CYP2D6 (Sim/Não)	CYP3A4 (Sim/Não)	CYP1A2 (Sim/Não)	CYP2C19 (Sim/Não)	CYP2C9 (Sim/Não)	sCYP2D6 (Sim/Não)	sCYP3A4 (Sim/Não)
P		Não					
nM		Não					
nBV	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não
nM/nBV		Sim					
P/nM/nBV		Sim					

Fonte: Construção do autor (2025).

Tabela 6 - Estudos de predição de toxicidade *in silico* da toxicidade usando o modelo pKCSM.

Amostr as	AMES (Sim/Nã o)	Máx. dose tolera da (log mg.kg ⁻¹ .day ⁻¹)	Inibição hERG I (Sim/Nã o)	Inibição hERG II (Sim/Nã o)	Toxicida de oral aguda em rato (LD ₅₀) (log mol.kg ⁻¹)	Toxicida de oral crônica em rato (log kg.bw ⁻¹ .day ⁻¹)	Hepatotoxicid ade (Sim/Não)	Sensitizaç ão da pele (Sim/Não)
P		0,54		Sim	2,75	2,72		
nM		0,31		Não	3,35	0,28		
nBV		0,50		Não	2,63	0,81		
nM/nBV	Não	0,51	Não	Não	1,99	0,59	Não	Não
P/nM/n BV		0,43		Sim	2,52	2,92		

Fonte: Construção do autor (2025).

3.2.2. Estudo de predição *in silico* da toxicidade aguda em ratos usando o modelo ProTox-II

A Tabela 7 apresenta as previsões de toxicidade aguda em ratos para os componentes utilizando o modelo ProTox-II, onde as amostras foram consideradas de toxicidade de classe IV (como nocivo se ingerido) e V (pode ser nocivo se ingerido). No entanto, os valores previstos para a LD₅₀, em comparação com os modelos Pro-Tox II e pkCSM, foram diferentes devido ao método de aprendizado de máquina. Vale ressaltar que altas predições (> 70%) foram observadas para o P e P/nM/nBV, indicando modelos confiáveis. Estudos demonstraram, em testes *in vivo*, que os mecanismos envolvendo nanocompósitos poliméricos com reforços inorgânicos resultam da liberação lenta de Ca²⁺, Mg²⁺ e Na⁺ podendo modular a osteogênese, por meio da regulação positiva do gene Runx-2, envolvido na regulação da adesão celular e na promoção da síntese de collagenase tipo I (Dubey *et al.*, 2022).

Tabela 7 - Estudos de predição de toxicidade *in silico* usando o ProTox-II para toxicidade aguda em ratos.

Amostras	LD ₅₀ predito (mg.kg ⁻¹)	Média de similaridade (%)	Precisão (%)
P	2000	98,02	72,95
nM	5000	44,07	54,28
nBV	660	18,32	5,12
nM/nBV	5000	22,23	12,87
P/nM/nBV	2000	81,64	71,02

Fonte: Construção do autor (2025).

3.2.3. Estudo de predição *in silico* da toxicidade aguda e bioacumulação para ecotoxicidade

As Tabelas 8 e 9 apresentam os resultados da previsão *in silico* de toxicidade aguda e bioacumulação em *Fathead Minnow*, *Daphnia magna* e *T. pyriformis* dos componentes usando modelos GUSAR e ProTox-II. Neste sentido, os resultados encontrados para as previsões de ecotoxicidade *in silico* foram: (i) *Fathead Minnow*: as amostras apresentaram CLf₅₀ de 0,48 a

2,11 (log mmol.L⁻¹) para o modelo GUSAR e de 1,28 a 19,22 (log mmol) para o modelo ProTox-II, onde o P/nM/nBV não foi considerado tóxico (CLf₅₀ < 0,5 log mmol.L⁻¹); (ii) *Daphnia magna*: todas as amostras não demonstraram alta toxicidade (CLC₅₀ < 1 log mol.L⁻¹); e (iii) *T. pyriformis*: todas as amostras não apresentaram IGC₅₀ relevante (> 0,8 log µg.L⁻¹). Vale ressaltar que a diferença encontrada para os modelos se deve às equações dos modelos de predição, como QSAR e aprendizado de máquina.

Tabela 8 - Predição *in silico* de toxicidade aguda e bioacumulação em *Fathead minnow*, *Daphnia magna* e *Tetrahymena pyriformis* utilizando o modelo GUSAR.

Amostras	<i>Fathead minnow</i> LCf ₅₀ (log mmol.L ⁻¹)	<i>Daphnia magna</i> LCC ₅₀ (log mol.L ⁻¹)	<i>T. pyriformis</i> IGC ₅₀ (log mol.L ⁻¹)	Fator de bioacumulação (BCF)
P	0,43	3,04	1,61	0,22
nM	2,11	4,07	1,05	1,65
nBV	0,48	3,11	0,53	0,78
nM/nBV	0,74	4,47	0,99	1,35
P/nM/nBV	0,90	2,66	1,75	1,66

Fonte: Construção do autor (2025).

Tabela 9 - Predição *in silico* de toxicidade aguda em *Fathead minnow* e *Tetrahymena pyriformis* utilizando o modelo ProTox-II.

Amostras	<i>Fathead minnow</i> LCf ₅₀ (log mmol)	<i>T. pyriformis</i> IGC ₅₀ (log µg L ⁻¹)
P	19,22	0,29
nM	2,49	0,27
nBV	1,52	0,31
nM/nBV	1,28	0,29
P/nM/nBV	17,54	0,28

Fonte: Construção do autor (2025).

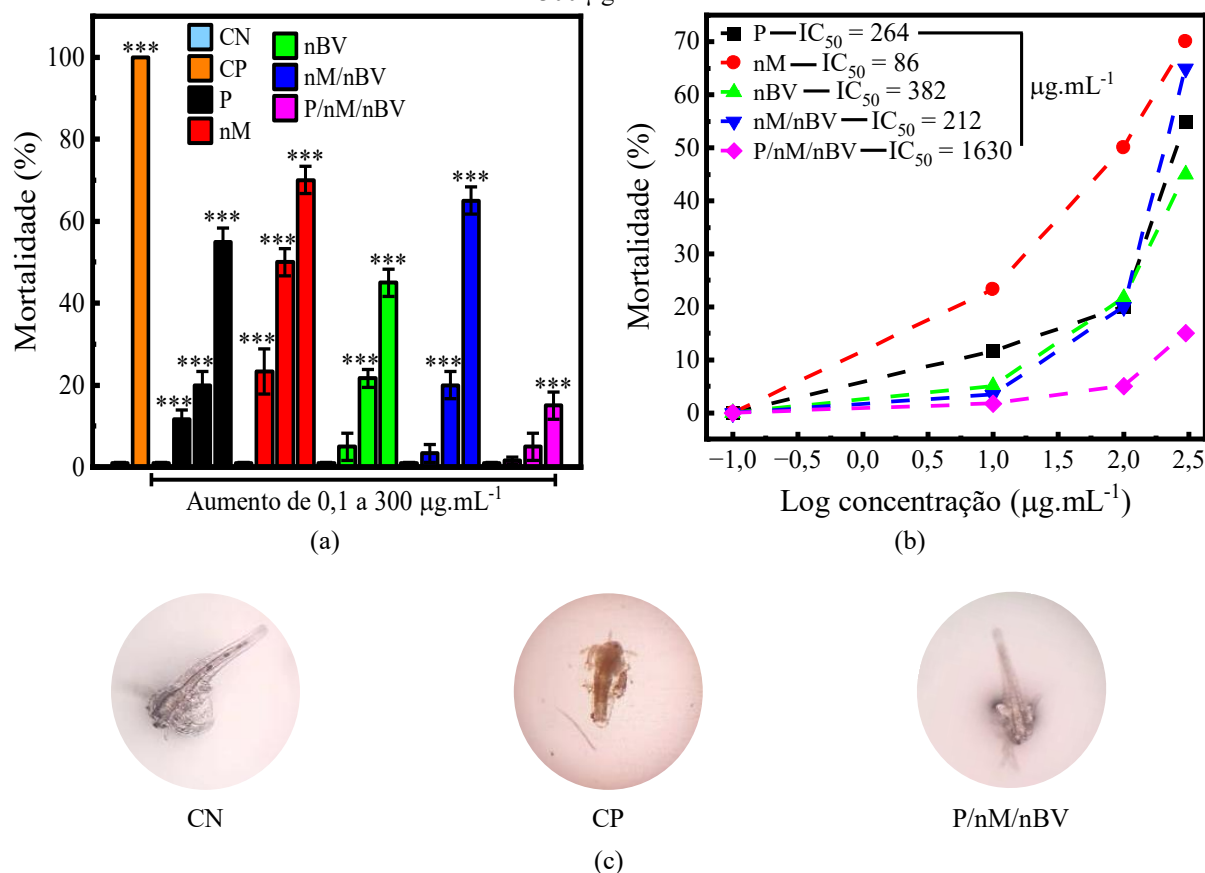
3.3. ESTUDOS EXPERIMENTAIS DE ECOTOXICIDADE

3.3.1. Toxicidade Aguda em Microcrustáceos de água salina

As Figuras 2(a) e 2(b) demonstram a toxicidade aguda utilizando *A. salina* ao longo de 24 horas na faixa de 0,1 - 300 µg mL⁻¹. Nesse sentido, o nM apresentou alta mortalidade em baixa concentração, indicando maior toxicidade com um IC₅₀ de 86 µg.mL⁻¹. Além disso, todas as amostras apresentaram toxicidade na concentração de 300 µg.mL⁻¹, sugerindo um acúmulo de particulados que dificultou a troca de nutrientes para a *A. salina*. No entanto, em baixas concentrações, as amostras não apresentaram toxicidade, enquanto o P/nM/nBV apresentou menor mortalidade com uma IC₅₀ de 1630 µg.mL⁻¹ sugerindo que a combinação da matriz polimérica reduziu a toxicidade. Com relação a literatura, é denotado que a mortalidade de náuplios está relacionada ao aumento da concentração de nanopartículas, resultando em um efeito dependente do tamanho das partículas. Além disso, a mortalidade de náuplios pode estar associada à geração de ROS, que induz dano oxidativo, levando à inibição de microcrustáceos (Unal *et al.*, 2024).

A Figura 2(c) apresenta as micrografias ópticas da *A. salina* em contato com o P/nM/nBV, onde foi possível observar que na concentração de 300 µg.mL⁻¹, há uma alta absorção dos nanomateriais localizados no exoesqueleto da *A. salina* resultando em aumento do tempo de retenção no intestino do microcrustáceo, sendo capaz de translocar para células epiteliais atravessando a barreira intestinal e resultando na mortalidade de *A. salina* (Rex; Mukherjee, 2025).

Figura 2 - (a) Teste de toxicidade aguda em *Artemia salina* em 24 horas; (b) Determinação do IC₅₀ das *Artemia salina* exposta aos componentes; (c) Registro fotográfico das *Artemia salina* exposta ao CN, CP e do P/nM/nBV 300 µg.mL⁻¹.



Fonte: Construção do autor (2025).

3.4. INTER-RELAÇÃO ENTRE ENSAIOS *IN SILICO*, PROPRIEDADES DO MATERIAL, ECOTOXICIDADE E NANOTECNOLOGIA

Os ensaios *in silico* atuaram como uma ferramenta preditiva valiosa, permitindo uma triagem inicial e a identificação de potenciais riscos toxicológicos e ecotoxicológicos de nanomateriais antes mesmo da síntese ou de testes experimentais caros e demorados, sendo capazes de modelar a interação de nanomateriais com sistemas biológicos com base em suas propriedades moleculares e estruturais. Adicionalmente, os resultados de ecotoxicidade, obtidos por meio de testes experimentais, validam e complementam as previsões *in silico*. Embora, os modelos *in silico* possam prever a toxicidade com base em propriedades moleculares, os testes experimentais em organismos vivos fornecem dados reais sobre a interação complexa do nanomaterial com o ambiente biológico. As diferenças observadas entre as previsões *in silico* e os resultados experimentais de ecotoxicidade podem ser atribuídas à complexidade das interações biológicas e às propriedades específicas dos nanomateriais, como a massa molecular, área superficial e carga superficial, que influenciam a interação com o organismo aquático.

CONCLUSÃO

Com o presente estudo foi possível desenvolver e caracterizar um nanocompósito polimérico à base de hidroxietilcelulose com nanobiovidro e nanomontmorilonita, avaliando sua toxicidade *in silico* e ecotoxicidade. Assim, confirmou-se a produção do P/nM/nBV, onde evidenciou ser seguro, com baixa toxicidade e potencial para aplicações em regeneração óssea. Os ensaios *in silico* forneceram uma primeira avaliação de segurança, onde as propriedades do

material determinam o comportamento do nanomaterial, e os testes experimentais de ecotoxicidade avaliaram o impacto ambiental. A nanotecnologia, ao integrar esses conhecimentos e busca desenvolver materiais inovadores que sejam eficazes em suas aplicações e, ao mesmo tempo, seguros para a saúde humana e o meio ambiente. Vale destacar que a estrutura altamente esfoliada e a composição favorável favorecem uma possível adesão celular e mineralização óssea. Futuras etapas incluem exploração como condicionador de solo sustentável.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e PDSE-CAPES – Processo nº: 88881.982712/2024-01).

REFERÊNCIAS

- ALE, A. *et al.* Metal-based nanomaterials in aquatic environments: What do we know so far about their ecotoxicity? **Aquatic Toxicology**, v. 275, p. 107069-107085, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.107069>
- ALVES, M.M. *et al.* *In silico*, *in vitro* and antifungal activity of the surface layers formed on zinc during this biomaterial degradation. **Applied Surface Science**, v. 447, p. 401-407, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.03.164>
- AMARAL, E. *et al.* Cytotoxic and genotoxic effects of clopyralid herbicide on *Allium cepa* roots. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 48450-48458, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13994-4>
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR16530: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Artemia sp* (Crustacea, Brachiopoda)**. Rio de Janeiro, 2021.
- COPE, P.J. *et al.* Models of osteoarthritis: the good, the bad and the promising. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 27, p. 230-239, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.09.016>
- DRUZIAN, D.M. *et al.* Fabrication and Properties of the Montmorillonite/Nanobioglass Hybrid Reinforcement from Agroindustrial Waste for Bone Regeneration. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 16, p. 19391-19410, 2024. <https://doi.org/10.1021/acsami.4c02160>
- DUBEY, A. *et al.* Assessment of protein adhesion behaviour and biocompatibility of magnesium/Co-substituted HA-based composites for orthopaedic application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 208, p. 707-719, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.166>
- FERNANDES, L. *et al.* Método de extração de sílica da casca do arroz. **Cerâmica**, v. 60, p. 160-163, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0366-69132014000100022>
- LAGUNIN, A. *et al.* QSAR Modelling of Rat Acute Toxicity on the Basis of PASS Prediction. **Molecular Informatics**, v. 30, p. 241-250, 2011. <https://doi.org/10.1002/minf.201000151>

LUO, L. *et al.* Construction of Nerve Guide Conduits from Cellulose/Soy Protein Composite Membranes Combined with Schwann Cells and Pyrroloquinoline Quinone for the Repair of Peripheral Nerve Defect. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 457, p. 507-513, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.12.121>

POLO-CORRALES, L. *et al.* Scaffold Design for Bone Regeneration. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, p. 15-56, 2014. <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.9127>

RAGAVENDRAN, C. *et al.* Green-route synthesis of ZnO nanoparticles via Solanum surattense leaf extract: Characterization, biomedical applications and their ecotoxicity assessment of zebrafish embryo model. **South African Journal of Botany**, v. 167, p. 643-662 2024. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.02.049>

REX M,C.; MUKHERJEE, A. Impact of UVA and visible light conditions in modulating the toxicity of binary mixture of polystyrene micro plastics and TiO₂ nanoparticles in brine shrimp (*Artemia salina*). **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 19, p. 100848-100863, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100848>

SUTCLIFFE, R. *et al.* Strategies for the design of biomimetic cell-penetrating peptides using AI-driven *in silico* tools for drug delivery. **Biomaterials Advances**, v. 169, p. 214153-214162, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2024.214153>

THOMMES, M. *et al.* Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, p. 1051-1069, 2015. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>

UNAL, I. *et al.* Assessment of toxicity and oxidative stress induced by rare earth oxide nanoparticles in brine shrimp (*Artemia salina*). **Chemosphere**, v. 367, p. 143683-143694, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143683>

WU, L. *et al.* Preparation and Characterization of High-Viscosity Montmorillonite. **Clays and Clay Minerals**, v. 67, p. 306-314, 2019. <https://doi.org/10.1007/s42860-019-00024-1>

ZHAO, F. *et al.* A bioactive glass functional hydrogel enhances bone augmentation via synergistic angiogenesis, self-swelling and osteogenesis. **Bioactive Materials**, v. 22, p. 201-210, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.09.007>

ZHAO, Y. *et al.* Accelerated skin wound healing by soy protein isolate–modified hydroxypropyl chitosan composite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1293-1302, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.195>

ZHAO, Y. *et al.* Shape memory histocompatible and biodegradable sponges for subcutaneous defect filling and repair: greatly reducing surgical incision. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 38, p. 5848-5860, 2019. <https://doi.org/10.1039/c9tb00902g>

Este trabalho de acesso aberto está licenciado sob Creative Commons - Atribuição (CC BY 4.0).