

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCAMPÓSITOS DE
BLENDAS TPU/PCL COM HIDROXIAPATITA PARA PRODUÇÃO DE
SCAFFOLDS BIOATIVOS VIA IMPRESSÃO 3D

Leonardo Alves Pinto

São Carlos - SP
2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCMPÓSITOS DE
BLENDAS TPU/PCL COM HIDROXIAPATITA PARA PRODUÇÃO DE
SCAFFOLDS BIOATIVOS VIA IMPRESSÃO 3D

Leonardo Alves Pinto

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia
de Materiais como requisito parcial à obtenção
do título de MESTRE EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

Orientador: Dr. Luiz Antonio Pessan

Coorientador: Dr. Eduardo Henrique Backes

Agência Financiadora: CAPES – Nº Processo: 88887.512147/2020-00

São Carlos-SP
2022

DEDICATÓRIA

A Deus,

Por ter me possibilitado mais essa conquista e saúde,

Aos meus pais, Zenicleide e Luiz,

Aos meus irmãos e irmãs,

A minha esposa Thalia,

Pelo incentivo e apoio durante esse trabalho,

A meu Padre Cícero por interceder nos momentos difíceis.

VITAE

Bacharel em Engenharia de Materiais pela Universidade Federal do Cariri

(2020)



Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Leonardo Alves Pinto, realizada em 02/08/2022.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Luiz Antonio Pessan (UFSCar)

Prof. Dr. Juliano Marini (UFSCar)

Prof. Dr. Fabio Roberto Passador (UNIFESP)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada. Por ter me dado saúde e força para superar todas as dificuldades ao longo da vida.

Aos meus orientadores prof. Dr. Luiz Antonio Pessan e prof. Dr. Eduardo Henrique Backes pela amizade, orientação, dedicação e apoio no decorrer deste trabalho.

À minha esposa Thalia Delmondes, por estar junto a mim nos momentos mais difíceis dessa longa jornada, pela paciência nos momentos de estresse e por nunca ter desistido de mim.

À minha família que sempre acreditou em mim e não mediu esforços para me ajudar nos momentos difíceis, e me incentivar a seguir adiante.

À Eduardo e Cesar pelo apoio, treinamento e discussões.

À BASF e Ingevity pela disponibilidade do material.

Ao Prof. Dr. Ricardo Jorge Espanhol Andrade e à Universidade Presbiteriana Mackenzie pelos ensaios de reologia realizados.

Ao Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais (CCDM) pelas análises de MEV e ao Daniel Cunha por realizá-las.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro para realização desse trabalho com bolsa de estudos, processo nº 88887.512147/2020-00.

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

RESUMO

A necessidade crescente de tecidos para tratar defeitos causados por doenças ou lesões, tem demandado novas soluções para fornecer substitutos funcionais que supram a falta de tecidos e se adequem as necessidades de cada paciente. Nessa perspectiva, a presente dissertação buscou desenvolver blendas de poliuretano termoplástico/poli(ϵ -caprolactona) (TPU/PCL) e biocompósitos a partir destas com hidroxiapatita (HA) para produzir *scaffolds* via impressão 3D destinados a engenharia de tecidos, e que estes possuíssem além de biocompatibilidade e bioatividade com o tecido, a capacidade de ajuste relativamente simples da forma e tamanho com estímulo térmico. Para tanto, foram produzidos diferentes biocompósitos com o TPU, PCL e blendas TPU/PCL (com razão de blenda de 75/25, 50/50 e 75/25), com teor da carga de HA incorporada em até 20% em massa. As blendas e biocompósitos foram processados em um reômetro de torque e investigadas as características térmicas, reológicas, morfológicas, mecânicas, printabilidade e biocompatibilidade em linhagem celular. Os *scaffolds* foram produzidos com o material granulado do reômetro e utilizando-se uma impressora 3D com extrusor de seringa. Os resultados das caracterizações térmicas, reológicas e mecânicas mostraram que as blendas e os biocompósitos apresentaram comportamento intermediário entre as matrizes de TPU e PCL. A adição de HA intensificou as reações de degradação, principalmente da matriz de TPU. Em testes com linhagem celular em placas a partir do TPU, da blenda de 75/25 e dos biocompósitos com até 10% em massa de HA, possibilitaram a proliferação celular. O *scaffolds* produzidos com a blenda de 75/25 e biocompósitos com até 10% da carga, apresentaram altos valores de fixação ($\geq 71\%$) e recuperação ($\geq 90\%$) de forma em temperatura de 55 °C por 20 s. As propriedades mecânicas dos *scaffolds* impressos exibiram valores próximos do limiar necessário para enxerto ósseo esponjoso humano.

Palavras-chave: TPU; PCL; Hidroxiapatita; Impressão 3D; Memória de forma.

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF BIOCOMPOSITES TPU/PCL BLENDS WITH HYDROXYAPATITE FOR THE PRODUCTION OF BIOACTIVE SCAFFOLDS VIA 3D PRINTING

The increasing need for biological tissues to treat defects caused by disease or injury has demanded new solutions to provide functional substitutes that supply tissue shortages and suit the needs of each patient. In this perspective, the present dissertation sought to develop biocomposites based on polyurethane/poly(ϵ -caprolactone) (TPU/PCL) polymer blends with hydroxyapatite (HA) to produce scaffolds via 3D printing aiming tissue engineering combining biocompatibility and bioactivity with the tissue and with its ability to a relatively simple adjustment of shape and size with thermal stimulation. For this purpose, different biocomposites were produced with the matrix of TPU, PCL, and TPU/PCL blends (in proportions of 75/25, 50/50 and 75/25), with HA filler content varying up to 20% wt. These were processed in a torque rheometer. The thermal, rheological, morphological, mechanical, printability and cell line biocompatibility characteristics were investigated. The scaffolds were produced with the crushed material of the rheometer and using a 3D printer with a syringe extruder. The results of the thermal, rheological and mechanical characterizations showed that the blends and the biocomposites from them showed intermediate behavior between the TPU and PCL matrices and their respective biocomposites with HA. The addition of HA intensified degradation reactions, mainly of the TPU matrix. In test with cell line in plates from TPU, blends of 75/25 and biocomposites with up to 10% wt of HA in these matrices, the results showed that such formulations allow cell proliferation. The scaffolds produced with the blend of 75/25 and biocomposites with up to 10% wt, showed high values of fixation ($\geq 71\%$) and shape recovery ($\geq 90\%$) at a temperature of 55 °C for 20 s. The mechanical properties of the printed scaffolds exhibited values close to the threshold required for human cancellous bone grafting.

Keywords: TPU; PCL; Hydroxyapatite; 3D printing; Shape memory polymer.

ÍNDICE DE ASSUNTOS

	Pág.
FOLHA DE APROVAÇÃO.....	i
AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE DE ASSUNTOS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	5
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1 Engenharia de tecidos	7
3.2 Biomateriais e características dos <i>scaffolds</i> para engenharia de tecidos	10
3.3 Impressão 3D baseada em extrusão	14
3.4 Poliuretano Termoplástico - TPU	17
3.5 Poli (ϵ -caprolactona) - PCL.....	23
3.6 Blendas de TPU/PCL.....	25
3.7 Hidroxiapatita – HA	34
3.8 <i>Scaffolds</i> TPU/HA e PCL/HA	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1 Materiais	41
4.2 Métodos	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1 Caracterização do TPU.....	55
5.2 Caracterização dos biocompósitos produzidos via misturador interno e prensagem uniaxial	60
5.3 Caracterização dos materiais utilizados, desenvolvimento e caracterização dos <i>scaffolds</i> produzidos via impressão 3D por extrusor de seringa.....	84
6 CONCLUSÕES.....	103
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	105

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107
APÊNDICE A.....	119
APÊNDICE B.....	121
APÊNDICE C	123
APÊNDICE D	125
APÊNDICE E.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Composições das blendas e compósitos desenvolvidos.	42
Tabela 5.1 – Resultados do TGA para o TPU, PCL, Blendas TPU/PCL e os respectivos compósitos destes com HA.	70
Tabela 5.2 – Resultados de DSC para as formulações durante a primeira varredura de aquecimento.	73
Tabela 5.3 – Resultados de DSC obtidos para as formulações a partir das varreduras de resfriamento e segundo aquecimento.	76
Tabela 5.4 – Resultados do módulo elástico obtido a partir do ensaio de compressão para as formulações e análise estatística destes valores.	77
Tabela 5.5 – Resultados de DSC obtidos para as formulações a partir das varreduras do primeiro e segundo aquecimento, e de resfriamento.	86
Tabela 5.6 – Resultados obtidos das análises de reologia em regime permanente e oscilatório.	89
Tabela 5.7 - Medidas das características morfológicas dos <i>scaffolds</i> de TPU, 75T25P e biocompósitos de TPU/HA e 75T25P/HA.	98

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 3.1 - Organização estrutural hierárquica do osso. Adaptado de [40]....	10
Figura 3.2 - Ilustração esquemática dos três extrusores utilizados nos métodos de impressão 3D baseados em extrusão, em a) extrusor alimentado por filamento, b) extrusor de rosca e c) extrusor de seringa com êmbolo acionado mecanicamente ou êmbolo de pressão pneumática. Adaptado de [53].	16
Figura 3.3 - Ilustração esquemática das rotas de síntese do TPU e sua estrutura	18
Figura 3.4 - Ilustrações das estruturas de fase do TPU em (a) estrutura com segmentos rígidos formando domínios globulares separados e dispersos em uma matriz flexível. Adaptado de [59]. Em (b) morfologia semelhante a uma rede co-contínua, quando a proporção de segmentos rígidos é cerca de 50% em massa. Adaptado de [56].	20
Figura 3.5 - Número de artigos publicados desde 2008 envolvendo PU e TPU na produção de <i>scaffolds</i> . *Dado contabilizado de janeiro até 04 de julho de 2022.	21
Figura 3.6 - Mapa de palavras-chave cuja ocorrência foi de no mínimo em 8 artigos dos 127 analisados. Os dados foram extraídos da base de dados <i>Web of Science</i> e tratados com o <i>software</i> VOSviewer.	22
Figura 3.7 - Rotas de síntese do PCL e sua unidade de repetição. Adaptado de [18].	24
Figura 3.8 - Requisitos estruturais para SMPs: (a) Os possíveis pontos de rede e (b) possíveis unidades de comutação onde há mudança molecular reversível. * Cristal líquido (LC). Adaptado de [73].	26
Figura 3.9 – Ciclo de memória de forma 3D de SMP ativado termicamente. A rota segue primeiro o aquecimento do material até uma temperatura específica, deformado nesta temperatura, resfriado ainda com a tensão aplicada, após resfriado a tensão é removida e por fim o material é novamente aquecido para retornar a sua forma original. Adaptado de [74].	28
Figura 3.10 – Mecanismo de memória de forma de blendas TPU/PCL termicamente ativado. Adaptado de [78].	30

Figura 3.11 – Demonstração do comportamento da memória de forma para a blenda com 30% de PCL, em (a) o formato inicial, (b) formato temporário obtido pela deformação da amostra aquecida a 90 °C, seguido de resfriamento à temperatura ambiente e (c) recuperação da forma original alcançada pelo reaquecimento da amostra a 90 °C. Adaptado de [22].	31
Figura 3.12 - Morfologia de cluster de apatita recém-formado nos <i>scaffolds</i> de TPU/HA com tamanho de partícula nanométrico em um teste de mineralização após (a) 3 semanas e (b) 4 semanas. Adaptado de [19].	36
Figura 3.13 – (a) Esquema das estruturas com geometria ortogonal e geometria ortogonal deslocada - GOD, (b) Valores do módulo de compressão dos <i>scaffolds</i> PCL, PCL/HA e PCL/HA/GOD. Adaptado de [25].	37
Figura 4.1 – Amostras de 8 mm de diâmetro e 3 mm de altura utilizadas no ensaio de compressão.	44
Figura 4.2 – Estrutura do <i>scaffold</i> de 10 mm x 3 mm projetado e fatiado no Prusaslicer.	47
Figura 4.3 - Impressora 3DBS utilizada nesse trabalho (a), detalhes dos componentes essenciais da impressora (b) e exemplos de <i>scaffolds</i> de PCL impressos com esta (c).	48
Figura 4.4 – Material utilizado para impressão 3D dos <i>scaffolds</i> .	51
Figura 5.1 – Curvas da primeira varredura de aquecimento do DSC das amostras de TPU-R, TPU-RP, TPU-H e TPU-HP.	55
Figura 5.2 – Dissociação e reassociação das ligações uretanos em temperaturas acima da estabilidade (a), como resultado deste processo tem-se um sistema monodisperso se transformando em polidisperso (b).	58
Figura 5.3 – Curvas da varredura de resfriamento e do segundo aquecimento da análise de DSC para as amostras de TPU-R, TPU-RP, TPU-H e TPU-HP.	59
Figura 5.4 – Variação do torque em função do tempo de mistura para (a) TPU, PCL e suas blendas, e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de (b) TPU, (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.	61
Figura 5.5 – Curvas de viscosidade <i>versus</i> taxa de cisalhamento para (a) TPU, PCL e suas blendas, e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de (b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.	64

- Figura 5.6** – Curvas de TGA para o (a) TPU, PCL e suas blendas e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL. 68
- Figura 5.7** – Curvas da primeira varredura de aquecimento do ensaio de DSC das amostras estudadas, em (a) TPU PCL e suas blendas, e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL. 72
- Figura 5.8** – Curvas de resfriamento e do segundo aquecimento do ensaio de DSC para: (a) TPU, PCL e suas blendas e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL. 75
- Figura 5.9** – Micrografias de MEV da superfície de fratura do a) TPU, b) PCL, c) 75T25P, d) 75T25P (remoção do PCL), e) 50T50P, f) 50T50P (remoção do PCL) e g) 25T75P. 80
- Figura 5.10** – Em (a) imagens de *scaffolds* impressos em 3D de 10 camadas com geometria de 0-90° das formulações estudadas e em (b) valores do diâmetro e altura destes *scaffolds*. O modelo para impressão foi de 10 mm de diâmetro e 3 mm de altura. 81
- Figura 5.11** - Resultado do ensaio de *alamar blue* após 1, 3 e 7 dias de cultura de osteoblasto (MC3T3-E1) para as amostras de TPU, TPU/HA, 75T25P e 75T25P/HA com HA até 10%. * $p < 0.05$ e *** $p < 0.0001$ 83
- Figura 5.12** – Imagens do citoesqueleto das células cultivadas em 7 dias nas amostras em forma de placas do TPU e da blenda 75T25P. 84
- Figura 5.13** – Curvas da primeira varredura de aquecimento do ensaio de DSC nas amostras (a) TPU, (c) 75T25P e seus respectivos biocompósitos, e as curvas de resfriamento e do segundo aquecimento para (b) TPU, (c) 75T25P e seus respectivos biocompósitos. 85
- Figura 5.14** – Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento para (a) TPU, (b) 75T25P e seus respectivos biocompósitos, e curvas de G'' e G' versus frequência angular para (c) TPU, (d) 75T25P e seus respectivos biocompósitos. 88

Figura 5.15 – Resultados do ensaio de memória de forma dos <i>scaffolds</i> de 75T25P e 75T25P/HA, em a) resultados da taxa de fixação e recuperação da forma e b) demonstração da forma dos <i>scaffolds</i> durante o ensaio.....	92
Figura 5.16 – Resultados do ensaio de memória de forma na blenda 75T25P em fios com aproximadamente 1,4 mm de diâmetro, em a) resultados da média da taxa de fixação e recuperação da forma em temperaturas de 40 e 50 °C e b) demonstração do processo de fechamento de nó em um fio.....	94
Figura 5.17 - Micrografias dos <i>scaffolds</i> (vista superior) obtidas por meio do MEV, em a) TPU, b) 75T25P, c) TPU5HA d) 75T25P5HA e) TPU10HA e f) 75T25P10HA.....	96
Figura 5.18 - Micrografias da secção transversal dos <i>scaffolds</i> obtidas por meio de MEV, em a) TPU, b) 75T25P, c) TPU5HA d) 75T25P5HA e) TPU10HA e f) 75T25P10HA.....	97
Figura 5.19 - Mapeamento de EDS na superfície de fratura do filamento dos <i>scaffolds</i> de TPU, 75T25P, e biocompósitos TPU/HA e 75T25P/HA.	99
Figura 5.20 – Resultados do módulo de elasticidade dos <i>scaffolds</i> obtidos nos ensaios de compressão. **p<0,01, ***p<0,001.....	100
Figura A.1 - Derivada das curvas de TGA para todas as formulações estudadas.	119
Figura B.1 - Curvas de tensão <i>versus</i> deformação do TPU, PCL, blendas e seus respectivos biocompósitos, processados via misturador interno e prensados a 210 °C.	121
Figura C.1 - Morfologia da superfície de fratura do TPU, são destacadas regiões lisas e com estrias.....	123
Figura D.1 - Curvas de tensão <i>versus</i> deformação do <i>scaffolds</i> no ensaio de compressão e os valores de módulos específicos calculados.	125
Figura E.1 – Curvas de G'' e G' <i>versus</i> frequência angular para (a) TPU, (b) 75T25P e seus respectivos biocompósitos.	127

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CAD: *Computer aided design*

CEM: Minutos equivalentes cumulativos

DNA: *Deoxyribonucleic acid*

DSC: Calorimetria exploratória diferencial

FDA: *Food and Drug Administration*

FDM: Fusão e Deposição de Material

FFF: *Fused Filament Fabrication*

FTIR: Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

HA: Hidroxiapatita

hMSCs: Células-tronco mesenquimais humanas

HUVEC: Células endoteliais da veia umbilical humana

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

PCL: Poli(ϵ - caprolactona)

PGA: Poli(ácido glicólico)

PHB: Poli(hidroxibutirato)

PLA: Poli(ácido láctico)

PLGA: Poli(ácido láctico-co-glicólico)

PLLA: Poli(L- ácido láctico)

PU: Poliuretano

SBF: *Simulated body fluid*

SF: Segmentos Flexíveis

SR: Segmentos Rígidos

TCP: β - fosfato tricálcico

T_g: Temperatura de Transição Vítrea

TGA: Análise termogravimétrica

T_m: Temperatura de fusão

TPU: Poliuretano Termoplástico

X_c: Grau de cristalinidade

1 INTRODUÇÃO

Procedimentos de restauração e transplantes de órgãos e tecidos estão em constante demanda e crescimento, devido a doenças crônicas, congênicas e infecciosas, bem como por lesões causadas por acidentes ou desastres naturais que criam urgência na reparação dos tecidos ou órgãos danificados [1,2]. No entanto, estas demandas não são totalmente supridas pelas cirurgias de reconstrução e transplantes, isso em razão de muitas limitações, dentre elas a disponibilidade limitada de tecidos ou órgãos de doadores e do próprio paciente. Assim, quando o tecido disponível é insuficiente para reparar a lesão, o médico cirurgião necessita recorrer a utilização de materiais sintéticos para fornecer uma solução. Nesse cenário, o desenvolvimento de substitutos funcionais que possam reparar e regenerar de forma bem sucedida as funções do tecido lesado, apresenta-se como uma solução promissora, podendo por meio das terapias cirúrgicas minimizar a demanda por tecidos que é cada dia maior [1–5].

A engenharia de tecidos é um campo multidisciplinar, que aplica os princípios da biologia e da engenharia para o desenvolvimento de estruturas funcionais, que possam reparar os tecidos danificados ou substituir a função de um órgão falho [1,4]. Deseja-se que o novo tecido apresente funcionalidade similar ao tecido que deseja reparar e este é produzido por meio da combinação de células vivas, compostos bioquímicos e um suporte biocompatível denominado de *scaffold*, que guia o desenvolvimento do tecido. Este último é a entidade fundamental para uma reparação eficiente de um tecido, pois a regeneração tanto durante ensaios preliminares *in vitro* e *in vivo* são altamente dependentes da composição química do *scaffold*, das suas características morfológicas, geométricas, físicas e biológicas [1,4,6–8]. Deste modo, a escolha do material para produção de *scaffolds* é fundamental.

Vários biomateriais poliméricos naturais e sintéticos têm sido estudados e empregados como *scaffolds* na engenharia de tecidos, alguns exemplos são os parafusos de poli(L- ácido láctico) (PLLA) e seus biocompósitos com β -fosfato tricálcico (TCP), EUROSCREW®, produzidos pela Teknimed e já em uso por cirurgiões em técnicas de ligamentoplastia em joelhos e ombros [9]. Embora os polímeros naturais apresentem alta biocompatibilidade e baixa toxicidade, suas

propriedades mecânicas nem sempre correspondem ao tecido nativo e sua biodegradabilidade pode ser imprevisível. Já os polímeros sintéticos ganham destaque, pois podem oferecer versatilidade e maior controle de suas propriedades físicas e mecânicas [8,10–12].

Dentre os polímeros sintéticos, a poli(ϵ -caprolactona) (PCL) tem sido extensivamente estudada como material para fabricação de *scaffolds* [13–15]. Isso ocorre por ser um polímero biocompatível, bioabsorvível, solúvel em uma grande variedade de solventes orgânicos e apresentar alta versatilidade quanto a seu processamento [16–18]. Outro polímero da categoria dos sintéticos que tem despertado interesse em aplicações biomédicas é o poliuretano termoplástico (TPU). Este apresenta propriedades químicas, mecânicas e térmicas ajustáveis, além de ser biocompatível e possuir capacidade de ser biodegradável [11,19,20].

As blendas de TPU/PCL buscam combinar a elasticidade do TPU com a baixa temperatura de fusão do PCL para obter materiais que apresentem características de memória de forma, que podem ser responsivos a estímulos térmicos ou quando em compósitos com agentes condutores ou fotoativos tornam-se responsivos a estímulo elétrico ou por luz [21–23]. Com essas características e a ampla faixa de propriedades mecânicas que esta blenda pode apresentar, bem como a biocompatibilidade de ambos os polímeros, pode-se então propor a produção de *scaffolds* para a engenharia de tecidos que possam ter as dimensões facilmente ajustáveis e/ou fabricados sob medida para se adequar a determinado defeito a ser reparado.

Embora esses dois polímeros apresentem propriedades atraentes para tal aplicação, tanto separados como em blendas, as características biológicas devem ser potencializadas em razão da baixa bioatividade e caráter hidrofóbico que ambos apresentam, podendo resultar na baixa interação entre o material e as células [16,24]. Uma maneira de superar essas limitações é pela adição de cargas biocompatíveis, como hidroxiapatita (HA) formando compósitos ou nanocompósitos, que podem melhorar o desempenho mecânico, a hidrofobicidade e a biocompatibilidade, bem como estimular as interações entre as células e os *scaffolds* [25,26]. A produção de *scaffold* a partir de compósitos

poliméricos com biocargas, possui atributos superiores e promissores em comparação com os polímeros isolados em diversos campos de aplicação.

A HA é uma potencial candidata para a produção de *scaffolds* com resposta celular aprimorada para aplicação em tecido ósseo, dado que a mesma é principalmente destinada a reparação óssea por apresentar osteocondutividade, bioatividade e reabsorvibilidade, além de já ser um dos componentes majoritários do osso, o que garante maior biocompatibilidade com a matriz óssea [27,28]. *Scaffolds* de compósitos e nanocompósitos de TPU/HA [19,29] e PCL/HA [25,30,31] já foram desenvolvidos, e os resultados mostraram-se promissores para regeneração tecidual. Contudo, apesar das blendas TPU/PCL apresentarem características de memória de forma muito interessante, até o momento nenhum estudo foi relatado na literatura envolvendo a adição de HA nessas blendas para produção de *scaffolds* via impressão 3D, principalmente utilizando a impressora com extrusor de seringa, onde o material é alimentado na forma de grânulos.

Acredita-se que a versatilidade de processamento dos dois polímeros e suas propriedades mecânicas e memória de forma da blenda, aliadas à bioatividade e osteocondutividade da HA podem resultar em biocompósitos com propriedades aprimoradas. As quais somadas a técnica de impressão 3D baseada em extrusão, possibilitam a confecção de *scaffolds* com características mecânica e de permeabilidade a fluídos corporais/proteínas desenhadas para aplicações na engenharia de tecidos, especialmente em tecido ósseo. Neste contexto, essa dissertação buscou avaliar as propriedades das blendas TPU/PCL e dos biocompósitos TPU/HA e TPU/PCL/HA, bem como a produção de *scaffolds* via impressão 3D por extrusor de seringa e explorar as características mecânicas, bioatividade e biocompatibilidade dos *scaffolds* quando em contato com linhagem celular.

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho de mestrado consistiu no desenvolvimento e caracterização de biocompósitos a partir de matriz de TPU e de blendas TPU/PCL com adição da HA, destinados a impressão 3D de *scaffolds* usando a impressora com extrusor de seringa, buscando obter características para engenharia de tecido ósseo. Ademais, objetivos secundários compreenderam determinar as proporções dos componentes nas blendas e nos biocompósitos com melhor balanço de características mecânica, bioatividade e printabilidade do *scaffolds* produzidos via impressão 3D.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Engenharia de tecidos

Os tecidos e órgãos têm sido acometidos por uma grande variedade de doenças, lesões e defeitos de desenvolvimento, de tal maneira que podem acarretar na falência parcial ou total das suas funções. Sem intervenção médica, a resposta do corpo, por exemplo, a certas condições associadas a lesões agudas ou crônicas, é relativamente limitada, sendo restrita apenas a processos de cura das partes lesadas. Tais processos, conduzem a restauração por meio da síntese da cicatriz, composta essencialmente por tecido cartilaginoso, mas diferente do tecido danificado, e isso pode não promover o restabelecimento da estrutura e funções normais do tecido, mesmo que a cicatrização seja uma resposta eficaz à lesão [2].

As terapias cirúrgicas mais consolidadas na prática para o tratamento de muitas das condições associadas as doenças e lesões, consistem na realização de cirurgias de reconstrução (quando possível) ou no transplante de órgãos e tecidos doados. Muito embora, ambos os procedimentos tenham salvado inúmeras vidas, estes possuem limitações clínicas. As cirurgias de reconstrução são restringidas devido a disponibilidade limitada de tecidos, desconforto, formação de cicatrizes e morbidade [1], além disso os dispositivos biomédicos utilizados não conseguem substituir totalmente as funções biológicas de um dado tecido ou órgão. No caso dos transplantes, um dos maiores problemas é a escassez de tecidos ou órgãos de doadores [1,3]. Em razão disso, do número crescente de pessoas nas listas de espera para transplantes e da expectativa de vida cada vez maior da população, a dependência de tecidos ou órgãos de doadores tornou-se uma abordagem não prática. Ademais, em função da severidade de restrições logísticas, muitos dos órgãos de doadores não podem ser transportados e transplantados com sucesso dentro do tempo limitado disponível [4].

Em meio ao contexto da necessidade de novas soluções para fornecer o tecido necessário as demandas médicas críticas, e buscar solucionar o problema da insuficiência de doadores, bem como atender as necessidades de cada paciente, surgiu o campo da engenharia de tecidos. O qual por meio da

mimetização da natureza, tem emergido com o potencial de desenvolver a reposição tecidual, sendo uma alternativa para tratar a falência ou má função de tecidos ou órgãos [4,6].

O conceito básico da engenharia de tecidos foi originalmente introduzido por Langer e Vacanti, os quais são os pioneiros nesta área [4,32]. Atualmente, a engenharia de tecidos trata-se de um campo multidisciplinar que combina os conhecimentos e tecnologias de diferentes áreas como biologia, química, medicina, ciência e engenharia de materiais. Esse campo se baseia classicamente em três pilares: 1) as células responsáveis pela síntese na nova matriz tecidual; 2) os fatores de sinalização/crescimento necessários para promover a funcionalidade; 3) os *scaffolds* de biomateriais que fornecem o suporte estrutural e sustentação a adesão, proliferação e diferenciação celular. Uma abordagem bem sucedida, implica que a combinação desses três deve ser capaz de reparar ou substituir o tecido danificado, de modo que a função do mesmo seja restaurada [4,7].

A criação de tecidos e órgãos funcionais a partir das células dos próprios pacientes, como objetivo da engenharia de tecidos, não é uma tarefa simples, pois envolve numerosos fatores da fisiologia humana, como cultura de vários tipos de células, vasculatura, inervação nervosa e interações com os tecidos circundantes. Uma abordagem de engenharia de tecidos, inicia-se com a escolha do biomaterial e seguido pela fabricação de *scaffolds*, que podem ser modificados fisicamente e quimicamente durante o processo para atender requisitos específicos. Depois da fabricação dos *scaffolds* com características desejadas, os mesmos podem ser cultivados com células *in vitro* para criar o tecido desejado, usando-se por exemplo placas de cultura ou até mesmo biorreatores, ou ser implantado dentro do corpo onde as células irão aderir, se infiltrar e proliferar. Fatores de crescimento são essenciais tanto *in vitro* como *in vivo*, pois auxiliam na diferenciação celular e a funcionalidade do tecido cultivado [33].

O sucesso da regeneração do tecido vai depender das características do biomaterial que constitui o *scaffold* e tanto da macro quanto da microestrutura

deste, devendo ser capaz de reproduzir o ambiente *in vivo* existente e permitir as interações célula-célula e célula-*scaffold* [34].

Devido à frequência e relevância das situações patológicas envolvendo o osso, a atenção da comunidade científica na regeneração e cicatrização desse tecido é cada vez maior [35]. E a possibilidade de regeneração do tecido ósseo por meio de *scaffolds*, tem levado numerosos pesquisadores de várias áreas a desenvolver e investigar materiais para esta finalidade. Isso porque a utilização de implantes artificiais na reparação pode suprir a disponibilidade limitada que os autoenxertos (enxertos nos quais se utiliza ossos do próprio hospedeiro) possuem [34,36–39].

Os *scaffolds* desenvolvidos para regeneração óssea são bioinspirados na estrutura hierárquica do osso. Em suma, este possui estruturas complexas formadas basicamente por HA e colágeno, e estes estão em constante estado de remodelação para manter a funcionalidade. Com base na arquitetura, o tecido ósseo é formado pelo osso trabecular (ou esponjoso) e o cortical. O primeiro possui elevada porosidade e alta área superficial levando a maior atividade metabólica, sua morfologia permite a troca de nutrientes, biomoléculas e gases. A forte rede porosa que compõe o osso trabecular é chamada de trabéculas, e permite funcionalmente a distribuição de forças, de forma a minimizar o risco de fraturas. O osso cortical é denso e recobre as estruturas internas, como o osso trabecular, fornecendo assim proteção a estas estruturas. A arquitetura do osso cortical é formada por ósteons, dispostos próximos uns dos outros [37,38,40]. A Figura 3.1 apresenta a estrutura hierárquica do osso bem como outros elementos que constituem a estrutura.

Os principais tipos de células presentes no tecido ósseo são: osteoblastos, osteoclastos e osteócitos; essas são complementares e críticas para a sobrevivência e atividade desse tecido. Os osteoblastos formam o tecido ósseo e exibem receptores e proteínas envolvidas na remodelação e mineralização da nova matriz óssea. Já os osteócitos são responsáveis por manter a matriz e pela mecanotransdução (conversão de esforço mecânico em sinais bioquímicos, resultando em respostas celulares). Por fim, os osteoclastos têm a função de reabsorver o osso mineralizado [38].

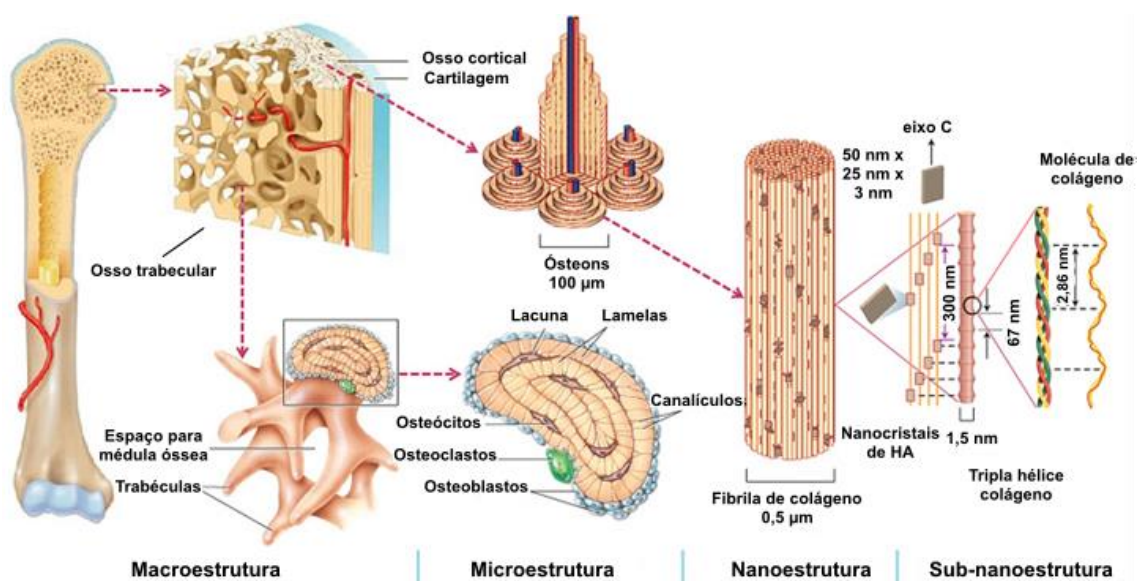


Figura 3.1 - Organização estrutural hierárquica do osso. Adaptado de [40].

3.2 Biomateriais e características dos *scaffolds* para engenharia de tecidos

A definição de biomateriais vem sofrendo alterações ao longo do tempo. Atualmente, segundo a revista *Biomaterials*, um biomaterial é definido como uma substância que é projetada para assumir uma forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para dirigir, por controle de interações com componentes de sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico [41].

Generalizando e tentando situá-los cronologicamente, os biomateriais podem ser categorizados em 3 gerações: A primeira sendo constituída de materiais inertes (início da década 1960), onde o objetivo das pesquisas era a obtenção de materiais biocompatíveis que pudessem substituir e promover o suporte mecânico de um tecido danificado, sem ou com mínima resposta biológica do paciente. A segunda geração é a dos materiais bioativos e reabsorvíveis (por volta de 1980), como por exemplo os fosfatos de cálcio e os biovidros de Larry Hench [42], o foco nesta geração passou a ser a obtenção de novos biomateriais capazes de desencadear alguma função química/física na área substituída e promover a interação do implante com o tecido. Além disso, desenvolver materiais biodegradáveis com capacidade de serem incorporados

ou absorvidos pelo tecido hospedeiro. A terceira geração (últimas duas décadas) tem trabalhado com o conceito de biomimética e os biomateriais induzem a regeneração de tecidos por meio de processos químicos e com estimulação em nível celular, para isso esses possuem estrutura e composição específica [43,44].

Os biomateriais são componentes críticos em muitas das atuais estratégias da engenharia de tecidos. O suporte físico fornecido por esses, por meio dos *scaffolds* para a fixação das células, é de grande importância, uma vez que a maioria são dependentes de ancoragem para viabilidade, e na ausência de um substrato ocorre a morte celular. Além do suporte, também podem fornecer agentes terapêuticos, como drogas, proteínas e fatores de crescimento. A atual e principal restrição do uso dos biomateriais é a sua capacidade de imitar a matriz extracelular, que oferece suporte à viabilidade e funcionalidade das células [33]. No entanto, os recentes avanços na síntese de novos biomateriais que podem melhor responder ao ambiente local e a estímulos, têm proporcionado grandes avanços nesse campo [4].

As características que são requeridas dos biomateriais dependem fundamentalmente de sua aplicação. Embora não seja possível generalizar quais devam ser, algumas propriedades são normalmente avaliadas para que se possa realizar de forma eficiente o projeto do dispositivo, essas são: biocompatibilidade, citotoxicidade, morfologia da superfície do material, energia superficial e ângulo de contato, biodegradabilidade, adaptabilidade no processo de fabricação, resistência mecânica, estabilidade química e resistência a esterilização [33,43].

O *scaffold* ideal baseado nestes biomateriais deve fornecer um ambiente tridimensional, poroso, com extensiva ligação entre os poros interconectados para migração, fixação e proliferação celular no interior da estrutura, canais que permitam a passagem de nutrientes e apresentar propriedades mecânicas adequadas ao tipo de tecido a ser recriado [8,33,34,43].

Os biomateriais destinados a produção de *scaffolds* estão contidos dentro dos quatro tipos principais da classificação de materiais:

- Metais, como magnésio, titânio e ligas de níquel-titânio. No entanto, poucos *scaffolds* metálicos são produzidos, devido à falta de degradabilidade (excetuando-se ligas de magnésio), limitada processabilidade em uma arquitetura porosa, *stress shielding*, impossibilidade de ajuste pelo cirurgião durante o processo de implantação e possível liberação de íons e/ou partículas metálicas tóxicas por corrosão ou possível desgaste, levando a reações inflamatórias que reduzem a biocompatibilidade [45].

- Cerâmicos, como a HA, biovidro e famílias das cerâmicas de fosfato de cálcio e silicato de cálcio. Esses materiais apresentam características promissoras na produção de *scaffolds* para regeneração de tecido ósseo, devido às suas propriedades atrativas de biocompatibilidade, osteocondução e osteoindução, bem como suas semelhanças com a composição óssea. Porém, apesar dessas vantagens, estes apresentam limitações como baixo desempenho mecânico, fratura frágil e baixa usinabilidade [42].

- Polímeros, tanto sintéticos como poli(ácido láctico) (PLA), PCL, TPU, poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli(hidroxi-butilato) (PHB)) e naturais (colágeno, fibrina, alginato, gelatina, e ácido hialurônico). Os polímeros naturais possuem excelente bioatividade e biocompatibilidade, boa adesão celular, alta hidrofiliabilidade e função biológica eficaz, mas apresentam baixas propriedades mecânicas e limitada processabilidade quando comparados com os polímeros sintéticos. Apesar dos requisitos mecânicos e de processabilidade dos sintéticos serem maiores, há limitações como baixa ou ausência de bioatividade, baixa capacidade de fixação de células e hidrofobicidade, dificultando seu uso direto na engenharia de tecidos e sendo necessário modificações químicas e de superfície [8,10–12].

- Compósitos, essencialmente de matriz polimérica (como PLA/TCP [9,46] PCL/TCP [13], PLA/HA [47], TPU/PLA/óxido de grafeno [48] e TPU/HA [19]), apresentam propriedades necessárias de biomateriais poliméricos mencionadas anteriormente e também inclui preparação controlável, fácil processamento em diferentes arquiteturas e propriedades mecânicas ajustáveis para vários tecidos.

Em virtude das características dos biomateriais poliméricos, uma enorme quantidade de estudos foi e ainda continua sendo direcionada a produção de

scaffolds desses materiais, para aplicações na engenharia de tecidos e na medicina regenerativa. As características dos *scaffolds* possuem influência crucial na resposta celular, e a possibilidade de ajuste, relativamente simples, dessas características pela modificação dos materiais poliméricos é uma das maiores vantagens da utilização destes que, somado as suas propriedades intrínsecas, explicam seu uso difundido na produção dessas estruturas.

Os *scaffolds* fornecem a estrutura e o microambiente para adesão, crescimento, proliferação, migração e diferenciação celular que levam à regeneração dos tecidos durante o período de tempo desejado. Para produzir um tecido funcional de maneira satisfatória, o *scaffold* deve mimetizar a matriz extracelular natural do tecido, bem como, não desencadear nenhuma resposta imune durante sua administração *in vivo*. Para tanto, é necessária uma compreensão detalhada das características do *scaffold* e do efeito das suas propriedades interfaciais, de forma a melhor ajustar os biomateriais para se adequarem aos microambientes que se deseja regenerar. E com isso, aprimorar o progresso da engenharia de tecidos em direção às aplicações clínicas [8].

A estrutura do *scaffold* é influenciada pela porosidade, a interconectividade, formato e tamanho dos poros; e esses por sua vez desempenham papéis vitais para o fluxo de nutrientes, crescimento celular, transporte de gases e de excrementos das células dentro da estrutura [8,10,49]. É ideal que o *scaffold* possua elevada porosidade, mas sua extensão vai depender do tipo de biomaterial utilizado e se o aumento da porcentagem de poros pode levar à uma redução significativa das propriedades mecânicas. No caso dos poros, se o tamanho for muito pequeno, a migração celular é prejudicada e há formação de uma cápsula celular ao redor das bordas da estrutura, isso leva a uma difusão limitada de nutrientes para o interior do *scaffold* e difícil remoção de resíduos por meio da população de células, logo ocorrerá a morte celular na região interna. Em caso contrário, se os poros forem muito largos a adesão das células é restrita em razão da reduzida área superficial [8,10].

Os *scaffolds* com poros orientados são considerados mais eficientes para o crescimento celular, troca de nutrientes e resíduos. Essa arquitetura também

proporciona um cenário ideal para a interação célula-célula e célula-*scaffold*. A busca por estruturas porosas orientadas resulta da necessidade de mimetizar tecidos naturais como por exemplo tendões, cartilagens, nervos e tecido ósseo, os quais possuem naturalmente uma estrutura orientada que ajuda a melhorar suas funções biológicas e mecânicas [10,49].

As células recebem *feedback* mecânico do substrato ao qual elas aderem, esse fenômeno é chamado de mecanotransdução, e tanto a rigidez quanto as propriedades de superfície do material afetam o crescimento celular, diferenciação e desenvolvimento do tecido. Assim, é amplamente aceito que o *scaffold* deve também reproduzir as propriedades do tecido-alvo [8,11].

A topografia de superfície do *scaffold* desempenha papel importante no implante e na resposta celular. A macro-rugosidade aumenta a fixação do implante nos tecidos naturais. E a micro-rugosidade pode, por exemplo, estimular o crescimento de osteoblastos para diferenciação e aumentar a mineralização quando comparado com células cultivadas em superfície lisa [8]. Ademais, as células em estruturas com superfície muito lisa são propensas a se aglomerar em torno das bordas, o que pode dificultar a difusão de nutrientes e a remoção de resíduos celulares, conseqüentemente, prejudica o funcionamento de células no interior do *scaffold* [8].

3.3 Impressão 3D baseada em extrusão

Existem várias técnicas utilizadas na produção de *scaffolds* poliméricos e seus (nano)compósitos com biocargas, essas incluem: evaporação de solvente com adição e lixiviação de sal, eletrofiação, separação/inversão de fases induzida termicamente, moldagem por injeção microcelular, tecnologias de impressão 3D e várias outras que estão bem descritas nas revisões de Jammalamadaka e Tappa [33], Madrid *et al.* [34], Mabrouk *et al.* [50] e Koyyada e Orsu [51]. Não faz parte do escopo dessa revisão de literatura definir as características de todas elas, porém a impressão 3D baseada em extrusão é a técnica que foi utilizada neste trabalho, sendo assim, faz-se necessário discriminar resumidamente suas vantagens, tipos e funcionamento de cada um.

A impressão 3D baseada em extrusão tem mostrado um enorme potencial e crescente interesse entre os pesquisadores, em razão do seu baixo custo, ampla disponibilidade, flexibilidade com o design e tipos de polímeros que podem ser usados durante o processo de impressão [33,34,52].

Nessa técnica, um modelo 3D de desenho assistido por computador - *Computer Aided Design* – CAD é projetado, depois “fatiado” digitalmente em pequenas camadas e cria-se um programa com o passo-a-passo com o padrão das camadas que devem ser depositadas, ou seja, uma lista de comandos baseados em texto, incluindo parâmetros de direções de impressão, velocidade de deposição, espessura, largura, velocidade de resfriamento e outros. Em seguida, o programa é carregado na impressora, onde a deposição de finas camadas do material é realizada por uma pequena matriz de extrusão (também denominado de extrusor ou *hot end*), e essa matriz pode possuir diferentes graus de liberdade para se movimentar nas coordenadas espaciais (x,y ou x,y,z) [52–54].

A depender do extrusor (Figura 3.2) a impressão 3D baseada em extrusão pode ser dividida em três métodos principais de fabricação aditiva. O primeiro é chamado de *fused filament fabrication* (FFF) ou fabricação por fusão de filamento, onde o extrusor é alimentado por um filamento polimérico que é fundido por meio de uma câmara de fusão anexada ao bico de impressão. O segundo método é a impressão 3D de extrusão por rosca, semelhante a um processo de extrusão, os grânulos ou o polímero já fundido são alimentados em uma rosca que é cercado por um barril aquecido. Conforme a rosca gira o polímero fundido é forçado a sair por meio do bico no final do cilindro e a taxa de extrusão do material no bico é determinada pela velocidade de rotação da rosca. Por último, a impressão 3D por extrusor de seringa, onde o material no estado sólido é colocado em uma seringa metálica que é aquecida até a fusão do polímero e em seguida, a impressora pressiona um êmbolo a uma taxa controlada para extrudar o material. Existem dois tipos principais de sistemas de extrusão de seringa: os que aplicam pressão pneumática ao êmbolo e os que comprimem por deslocamento mecânico do embolo com um motor elétrico [52,53].

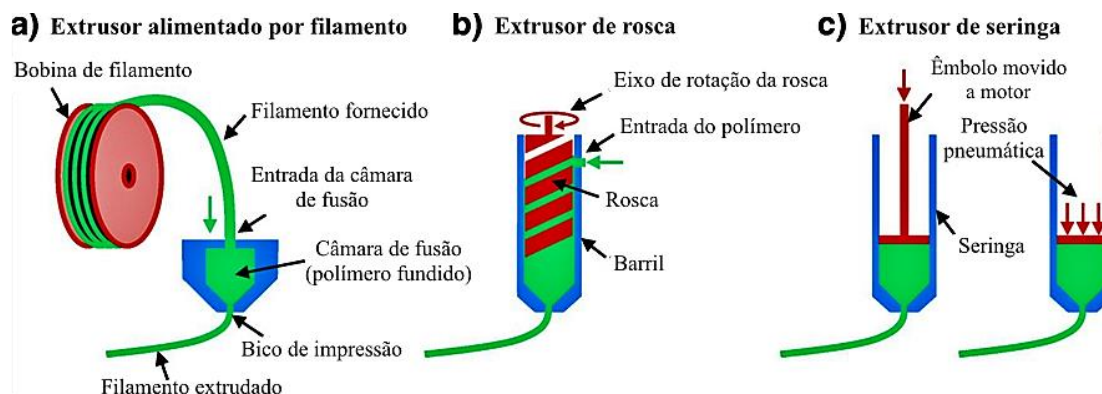


Figura 3.2 - Ilustração esquemática dos três extrusores utilizados nos métodos de impressão 3D baseados em extrusão, em a) extrusor alimentado por filamento, b) extrusor de rosca e c) extrusor de seringa com êmbolo acionado mecanicamente ou êmbolo de pressão pneumática. Adaptado de [53].

O método de impressão 3D por extrusor de seringa, possui algumas vantagens quando comparado com os dois outros métodos, essas incluem: baixa complexidade do *hardware* quando comparado com a impressão de extrusão por rosca, conseqüentemente menor custo e maior precisão (menor conjunto a ser movimentado durante a deposição). Ao contrário da FFF, a pré-fabricação de filamentos não é necessária e a remoção dessa etapa reduz substancialmente o custo de produção, acelera o desenvolvimento de novas formulações e pode reduzir o ciclo térmico que os materiais são submetidos [52,53].

O material que alimenta a impressora 3D por extrusor de seringa pode estar na forma de grânulo ou pó, e para produção de peças por meio desta impressora a partir de blendas ou compósitos é necessária uma mistura prévia dos componentes para garantir boa distribuição e dispersão destes. A mistura pode ser por solução ou fusão. No primeiro, há a solubilização do(s) polímero(s) sob agitação em solvente adequado (e misturados, se for uma blenda), em seguida a carga é adicionada na solução polimérica, dispersa e o solvente é evaporado por alguma rota específica. Seguindo esta forma de mistura, Unagolla *et al.* [15] e Khakbaz *et al.* [55] produziram *scaffolds*, respectivamente, a partir

de PCL/óxido de grafeno e TPU/nitreto de boro, e observaram boa distribuição das cargas após impressão. No processo por fusão os componentes são misturados utilizando algum processo que envolva a fusão do(s) polímero(s), a mistura e distribuição destes ou da carga, o misturador interno por exemplo é uma opção para preparação de blendas e compósitos por fusão. Após a preparação, seja por solução ou fusão, o material é triturado em tamanhos suficientes que entrem na seringa metálica da impressora.

3.4 Poliuretano Termoplástico - TPU

O TPU é um elastômero termoplástico pertencente a classe dos poliuretanos, que alia as propriedades mecânicas de um elastômero a facilidade de processamento de um termoplástico podendo ser realizado por métodos de fusão ou solução [11,48]. Este é um copolímero em bloco composto de segmentos flexíveis (SF) e rígidos (SR), apresenta cadeias lineares e é obtido geralmente a partir da reação de três componentes: Polioli (diol de cadeia longa), diisocianato e um extensor de cadeia (diol de cadeia curta). O processo de polimerização do TPU pode ser por uma etapa, onde todos os componentes são misturados juntos na razão estequiométrica desejada; ou em duas, onde o polioli reage primeiro com o diisocianato formando um pré-polímero com terminação em grupo isocianato, que em etapa seguinte reage com o extensor de cadeia. No processo por duas etapas, com a formação do pré-polímero é possível controlar de forma mais eficiente a polimerização em cadeia para obter as estruturas segmentadas com proporção regular entre os componentes [11,20,56].

A Figura 3.3 ilustra os dois processos de síntese previamente explanados, e a estrutura final do TPU. Os SF na estrutura são formados em geral pelo polioli, porém quando a síntese ocorre em uma única etapa, pode ocorrer a reação de polioli/diisocianato/polioli e portanto, este também é considerado como SF, já a combinação de diisocianato com extensor de cadeia produz o SR [1,11,20,56–58].

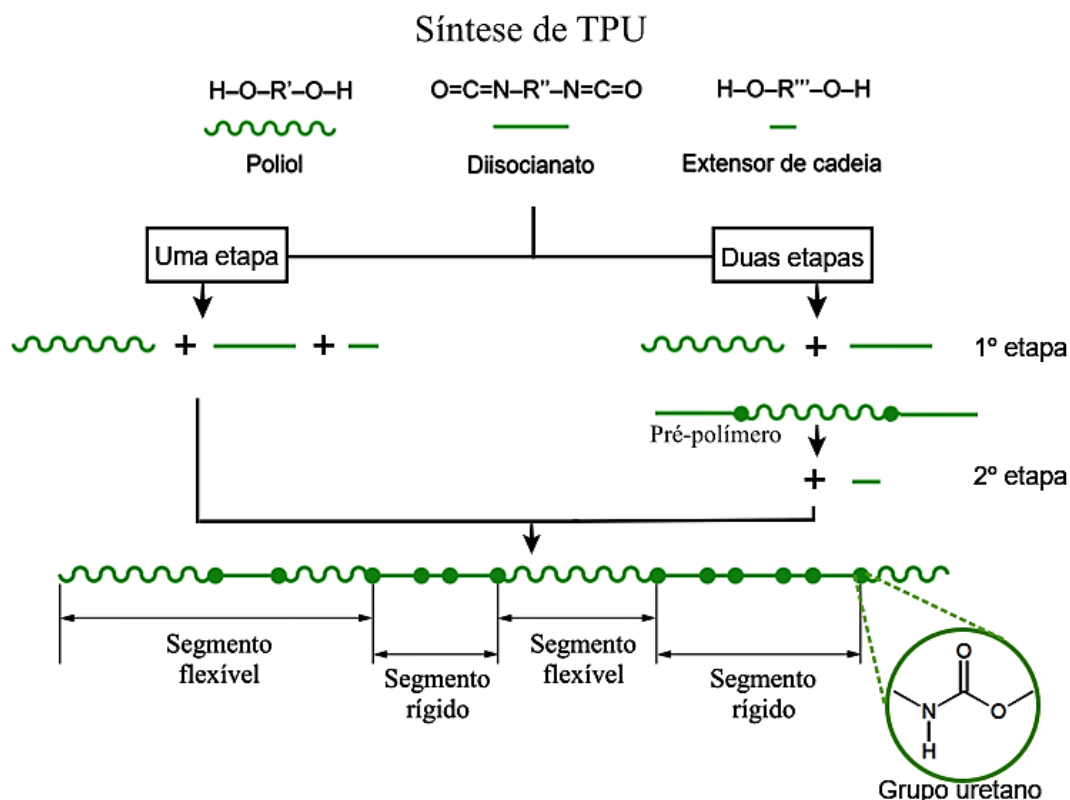


Figura 3.3 - Ilustração esquemática das rotas de síntese do TPU e sua estrutura final.

O polioli utilizado pode ser de base poliéster, poliéter ou de policarbonato, e a sua escolha desempenha um papel crucial nas propriedades físico-químicas. TPU's de poliéster são extremamente compatíveis com outros poliésteres, possuem elevada resistência mecânica, ao calor e a óleos em geral. Já os de poliéter possuem menor densidade, maior flexibilidade em baixas temperaturas, resistem à hidrólise e à degradação microbiológica [20,57]. Usando o dioli de policarbonato, os materiais resultantes apresentam maior resistência mecânica e são relativamente frágeis devido à presença de cristalização do SF [20].

O diisocianato pode ser alifático ou aromático, ambos possuem o grupo característico N=C=O (NCO) em suas moléculas. As reações desse componente durante a produção de TPU ocorrem por meio da adição à dupla ligação C=N , pois o caráter positivo do átomo de carbono que determina a reatividade do diisocianato atrai um centro nucleofílico (contendo um átomo de hidrogênio ativo) que ataca o carbono eletrofílico e o átomo de hidrogênio é adicionado ao

nitrogênio [1]. Os extensores de cadeia comumente utilizados são os glicóis lineares, esses possuem baixa massa molar e alta reatividade como o diisocianato. Estes possuem grande influência nas propriedades dos SR, pois essas são afetadas pela variação na estrutura química, natureza bioquímica, volume molecular e comprimento da cadeia do extensor [1,20].

Na reação do diisocianato com o diol obtendo os SR, os grupos uretanos que são formados nas cadeias poliméricas podem interagir entre si por meio das ligações de hidrogênio, que se formam entre o grupo funcional carboxila e o grupo NH, podendo haver também interações do tipo dipolo-dipolo e se o diisocianato for aromático haverá interação dipolo-dipolo induzido [58]. Essas interações intermoleculares que ocorrem mais fortemente nos SR, possibilitam a origem de domínios rígidos com cadeias poliméricas organizadas, conforme a Figura 3.4(a). Pode haver também domínios flexíveis, porém ocorrem em menor grau e não há um empacotamento com organização das cadeias poliméricas [56,59].

Os domínios rígidos são dispersos nos SF, causando a separação de microfase, isso devido a possibilidade de cristalização dos SR e da diferença de polaridade, estrutura química e comprimento da cadeia entre os segmentos [20,56,58]. No entanto, nem todos os SR se juntam em seus domínios e alguns são isolados nos domínios flexíveis [59], como ilustrado na Figura 3.4(a). A depender da concentração de SR a morfologia pode variar de glóbulos dispersos na matriz de SF quando a quantidade é baixa, para uma morfologia co-contínua (Figura 3.4(b)) quando a concentração dos SR e SF são iguais [56]. Estas duas morfologias diferentes são ilustradas na Figura 3.4.

A fase rígida pode ser cristalina ou amorfa, o que irá depender da estrutura molecular, e apresenta temperatura de transição vítrea (T_g) ou temperatura de fusão cristalina (T_m) acima da temperatura ambiente. Já a microfase flexível possui T_g abaixo da temperatura ambiente e é influenciada pela concentração dos SR na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes segmentos, maior é o valor de T_g da fase flexível quando comparado com TPU's de menor fração de fase rígida [20].

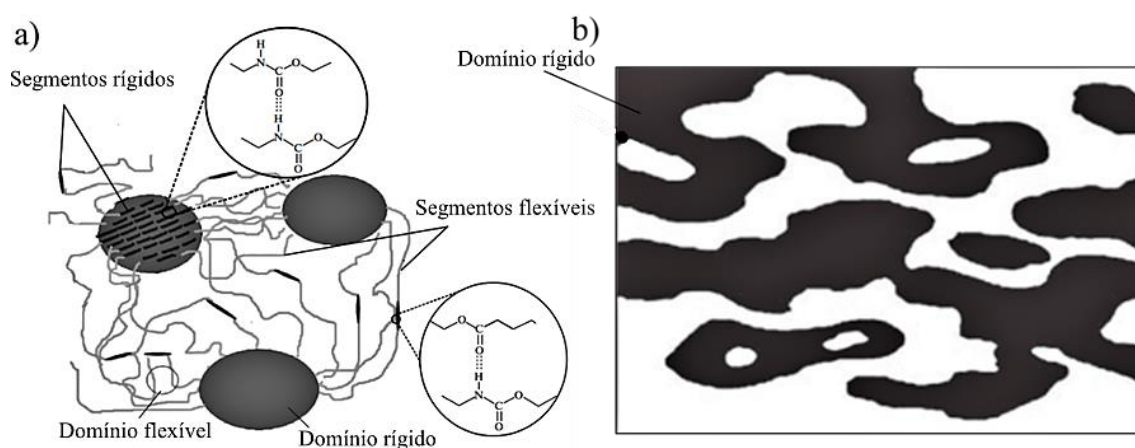


Figura 3.4 - Ilustrações das estruturas de fase do TPU em (a) estrutura com segmentos rígidos formando domínios globulares separados e dispersos em uma matriz flexível. Adaptado de [59]. Em (b) morfologia semelhante a uma rede co-contínua, quando a proporção de segmentos rígidos é cerca de 50% em massa. Adaptado de [56].

As propriedades mecânicas dos TPU's dependem basicamente da forma como as fases estão separadas, da quantidade, massa molar e estrutura química dos SR e SF [20,56,59]. Os domínios rígidos atuam como pontos de ancoragem, sendo responsáveis pela alta resistência mecânica, enquanto os SF conferem alto alongamento e recuperação elástica ao polímero [56].

As diversas combinações de SR e SF, e a variação da composição dos três componentes permite a formulação de TPU's com diferentes características, desde elastômeros macios e flexíveis, até termoplásticos rígidos com alto módulo sob tração. Com isso uma ampla gama de TPU's existe no mercado com propriedades variadas, sendo utilizado nas mais diversas aplicações, dentre estas incluem dispositivos biomédicos (*scaffolds* para regeneração de tecidos, cateter), embalagens de alimentos, solas de sapatos, revestimento de cabos, mangueiras, peças para construção civil, artigos esportivos, em peças de automóveis como para-choques, forros internos, portas e janelas, entre outros [11,20,56,59,60].

Além das propriedades mecânicas, térmicas e químicas ajustáveis, bom processamento, estes apresentam biocompatibilidade e possibilidade de serem

biodegradáveis (quando seus componentes são biodegradáveis) [11,19,20,48,59]. No entanto, poucos estudos sobre a utilização do TPU como material de *scaffold* na engenharia de tecidos têm sido reportados nos últimos anos. Ao passo que os poliuretanos, em geral, já têm sido amplamente utilizados na área médica por cerca de quase meio século e inúmeros trabalhos já foram e estão sendo desenvolvidos sobre a utilização desses como materiais de *scaffolds*, conforme observado na Figura 3.5. Nesta é ilustrado o número de artigos publicados (exceto revisões) por ano envolvendo os termos: poliuretano (PU), TPU e *scaffold*, obtido a partir da base de dados *Web of Science* (Clarivate Analytics) em pesquisa avançada em tópico (TS) com os descritores “*Polyurethane*” AND *Scaffold** e “*Thermoplastic Polyurethane*” AND “*TPU*” AND *Scaffold**. Pesquisa realizada em 04 de julho de 2022.

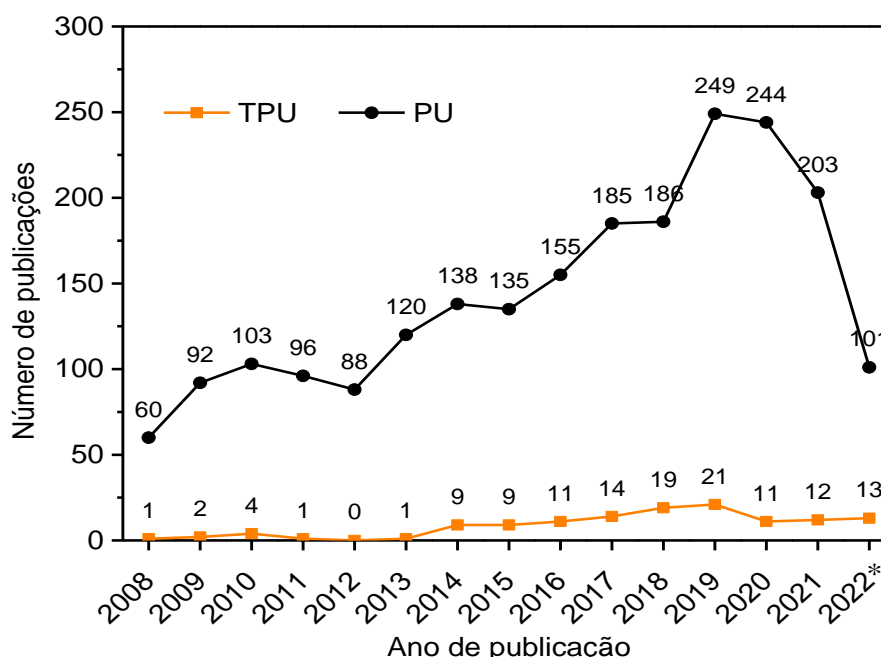


Figura 3.5 - Número de artigos publicados desde 2008 envolvendo PU e TPU na produção de *scaffolds*. *Dado contabilizado de janeiro até 04 de julho de 2022.

O número de trabalhos encontrados na base de dados *Web of Science* envolvendo TPU como material de *scaffold* desde 2008 foi de 127 artigos. A Figura 3.6 apresenta uma análise bibliométrica desses artigos, utilizando a

visualização por similaridade para mapear os termos mais utilizados nas palavras-chave, a partir do software VOSviewer baseada na coocorrência dos itens analisados. Cada termo é representado por um círculo, cujo tamanho é definido pelo número de ocorrência que aparecem nos artigos e a proximidade entre esses revelam seu grau de relação, quanto mais próximos, tanto mais relacionados. As cores representam a escala de ano de publicação, as linhas indicam a conexão entre os termos e a espessura denota a força de ligação entre os termos. Excetuando-se os termos “*Scaffolds*” e “*thermoplastic polyurethane*” utilizados na pesquisa, os termos “*electrospinning*”, “*fabrication*”, “*nanofibers*”, “*mechanical properties*”, “*composites*”, “*biomaterials*”, “*nanocomposites*”, “*in-vitro*”, “*biocompatibility*” são os que apresentam maior ocorrência nos artigos analisados.

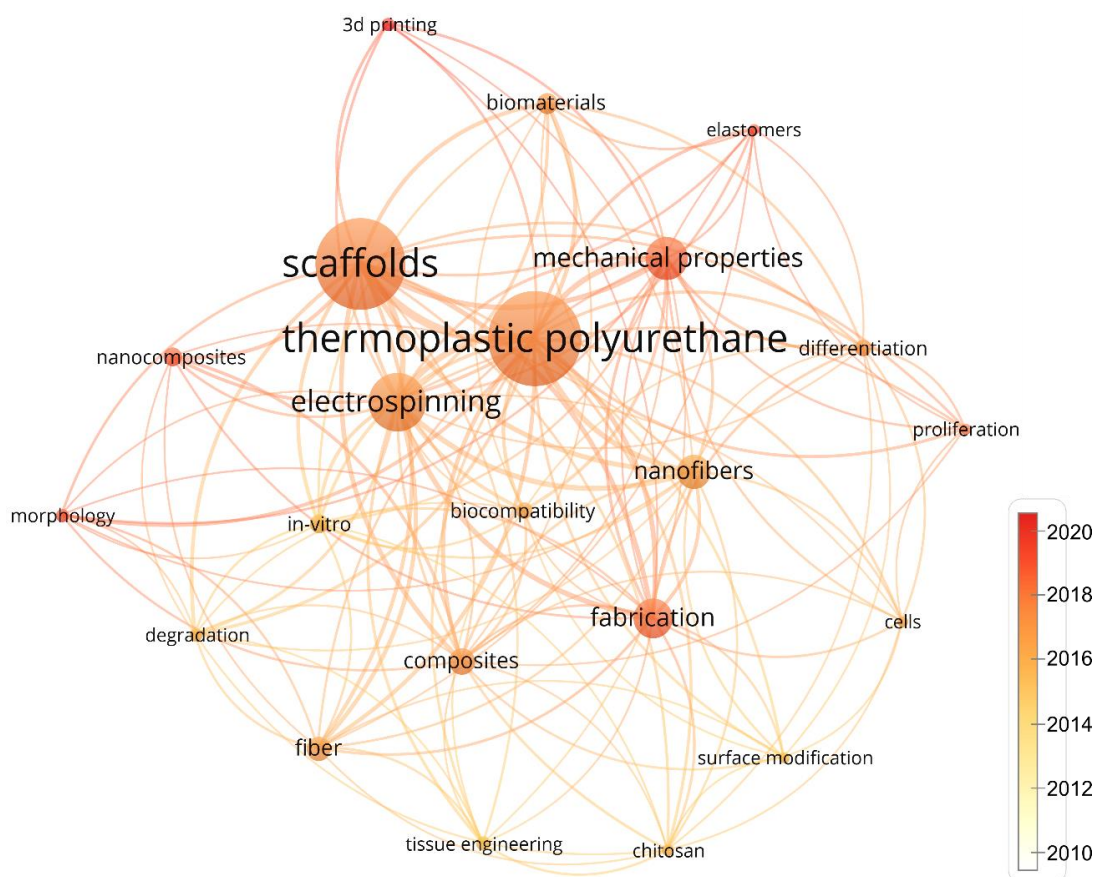


Figura 3.6 - Mapa de palavras-chave cuja ocorrência foi de no mínimo em 8 artigos dos 127 analisados. Os dados foram extraídos da base de dados *Web of Science* e tratados com o *software* VOSviewer.

A eletrofiação (*electrospinning*) é a técnica mais utilizada na produção de *scaffolds* usando o TPU [11,24,29,61,62]. Mas recentemente, conforme observado na Figura 3.6, estudos têm sido voltados à impressão 3D (que é um termo geral utilizado para técnicas de manufatura aditiva) (*3D printing*) [48,63,64]. Além dessas, várias outras técnicas já foram aplicadas, estas incluem: separação/inversão de fases induzida termicamente [26], evaporação de solvente [65,66] e moldagem por injeção microcelular [67].

Os *scaffolds* de TPU apresentam vantagens como desempenho mecânico que pode ser ajustado para atender as características do tecido que se deseja reparar (podendo alcançar propriedades mecânicas para tecidos moles ou rígidos), e a possibilidade de ser um implante degradável ou não [5,11,68]. Apesar disso, suas aplicações podem ser limitadas pelas desvantagens de locais de contato bioativos pobres e baixa hidrofiliabilidade, o que resulta na baixa interação entre os *scaffolds* e as células [24].

De maneira a superar essas deficiências e aprimorar os TPU's, de modo a estarem entre os biomateriais de alto desempenho de grau médico em sistemas de *scaffolds* para engenharia de tecidos, alguns estudos buscaram modificá-los com a utilização de materiais que apresentam excelente bioatividade e biocompatibilidade. Estes incluem: polímeros naturais [61], partículas cerâmicas como HA e nitreto de boro [19,29,63,65] e materiais eletroativos como óxido de grafeno [48], os dois últimos formam compósitos ou mais recentemente nanocompósitos (Figura 3.6). Os resultados dessas modificações se mostraram promissores à adesão, proliferação e diferenciação celular. As aplicações propostas com estes *scaffolds* incluem a regeneração de tecidos ósseos [19], pregas vocais [24], enxerto vascular de pequeno diâmetro [69], curativo para feridas na pele [70] e outros tecidos moles e flexíveis [11].

3.5 Poli (ϵ -caprolactona) - PCL

A poli(ϵ -caprolactona) é um poliéster alifático sintético linear, hidrofóbico, biodegradável e bioabsorvível. O PCL pode ser sintetizado por dois métodos de polimerização: por abertura do anel éster cíclico ϵ -caprolactona utilizando

catalizadores aniônicos e catiônicos, e a partir da condensação do ácido 6-hidroxicapróico. Este último, apresenta limitações como dificuldade de obtenção de alto grau de polimerização e massa molecular, isso faz com que o primeiro método seja majoritariamente preferido para obtenção do PCL [16–18]. A Figura 3.7 ilustra os dois mecanismos de síntese do PCL e sua unidade de repetição.

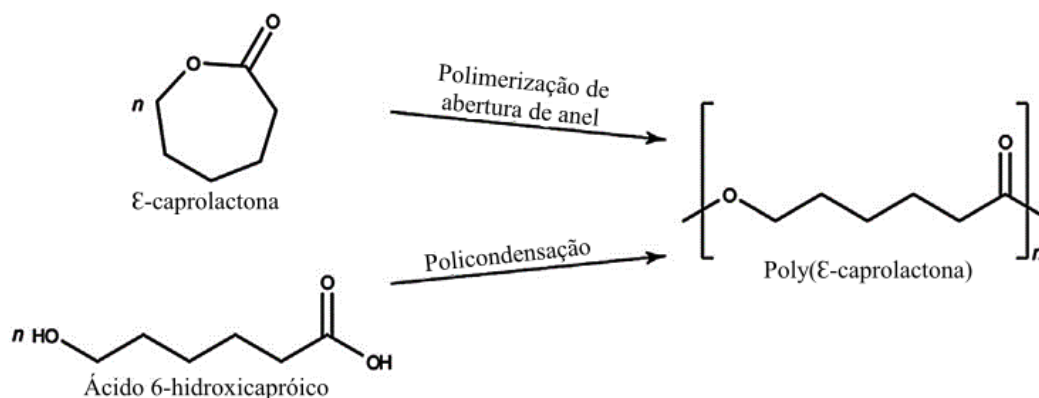


Figura 3.7 - Rotas de síntese do PCL e sua unidade de repetição. Adaptado de [18].

O PCL é um polímero semicristalino, onde o grau de cristalinidade pode atingir até 69% e tende a reduzir com o aumento da massa molecular, e esses dois parâmetros afetam diretamente as propriedades mecânicas [18]. Em termos de propriedades térmicas, o PCL apresenta baixa T_g , em torno de $-60\text{ }^\circ\text{C}$, ponto de fusão variando entre 56 e $65\text{ }^\circ\text{C}$ e uma estabilidade térmica elevada, com temperaturas de decomposição em cerca de $350\text{ }^\circ\text{C}$ [16–18]. O PCL também apresenta boa processabilidade em temperaturas superiores à de fusão sem que haja perda significativa de massa molar e os produtos na área biomédica à base de PCL para engenharia de tecidos e medicina regenerativa, como *scaffolds*, microfibras, filmes ou membranas, podem ser produzidas utilizando técnicas de injeção, extrusão, compressão, eletrofiação, impressão 3D e outras [13,16,18].

A taxa de biodegradação do PCL é determinada por uma combinação de fatores, nomeadamente o ambiente local, a massa molar e a morfologia da amostra [18]. A biodegradação ocorre por organismos vivos ao ar livre, como bactérias e fungos, com tempo de degradação de aproximadamente 60 dias [71].

Quando se trata do PCL no interior do corpo de humanos e animais este é bioabsorvível, em um processo que leva muito mais tempo (2 a 4 anos) do que a biodegradação, propagando-se primeiro pela etapa da degradação hidrolítica não enzimática dos grupos ésteres e, seguidamente pela degradação intracelular [16].

Sob o aspecto da sua biocompatibilidade, o PCL é um material aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), e possui características desejáveis para aplicações biomédicas [13,43]. Com o surgimento e avanço da engenharia de tecidos, e mais recentemente, às aplicações da impressão 3D no campo biomédico, esse polímero vem sendo amplamente estudado como material para confecção de *scaffolds* para regeneração de tecidos [13,14,18,25].

Os estudos apontam o PCL como material aplicável no campo biomédico e com alta versatilidade. Porém seu desempenho tem de ser potencializado, devido à baixa bioatividade e seu caráter hidrofóbico, combinando-o com outros polímeros naturais e materiais cerâmicos, de modo a aumentar a afinidade celular e a taxa de regeneração do tecido. Dessa forma, o PCL é geralmente utilizado para formar blendas poliméricas, copolímeros [11,64] e (nano)compósitos poliméricos [13–15,47].

3.6 Blendas de TPU/PCL

As blendas de TPU/PCL combinam as características ótimas desses dois polímeros, tendo como resultado final um material que pode apresentar uma ampla faixa de propriedades mecânicas e atributos de memória de forma. Antes de iniciar uma revisão sobre os estudos envolvendo as características das blendas TPU/PCL, percebeu-se a necessidade de fundamentar de forma breve o comportamento de memória de forma em polímeros e mais detalhes sobre este tema são encontrados nas várias revisões de literatura [72–74].

O polímero com memória de forma (SMP do inglês *Shape Memory Polymer*) possui a capacidade de recuperação de seu formato inicial, após uma deformação que resultou em formato secundário (temporário), quando exposto a certo estímulo externo. O pré-requisito para um efeito de memória de forma é a posse de pelo menos dois elementos estruturais pelo polímero e estes são os

pontos de rede (*netpoints*) e as unidades de comutação (*switch units*), conforme ilustrado na Figura 3.8 [72–74].

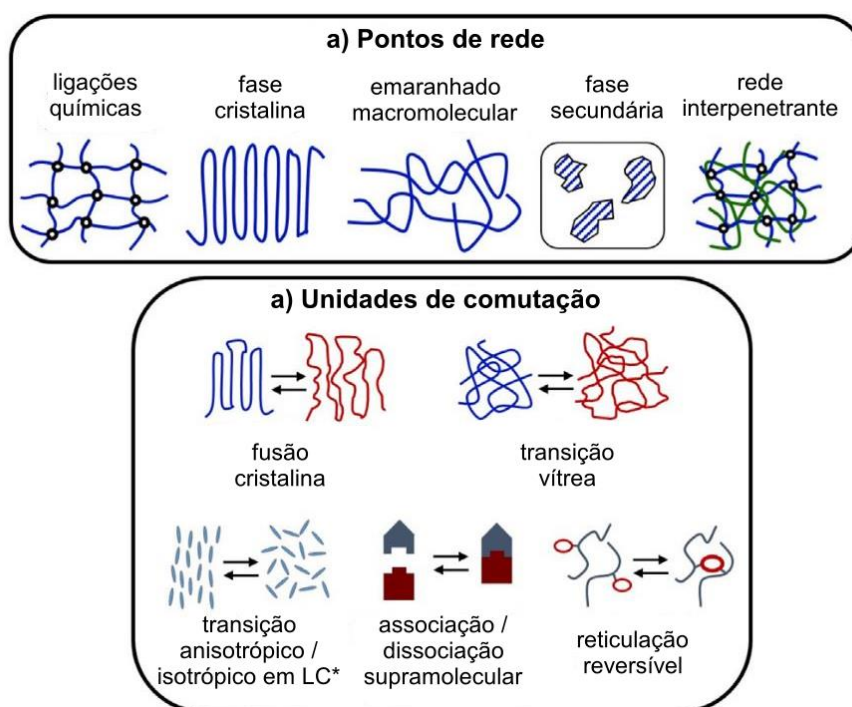


Figura 3.8 - Requisitos estruturais para SMPs: (a) Os possíveis pontos de rede e (b) possíveis unidades de comutação onde há mudança molecular reversível. * Cristal líquido (LC). Adaptado de [73].

Os pontos de rede são responsáveis por criar uma arquitetura de rede tridimensional que permite o armazenamento/memória da forma permanente do polímero, evitando o deslizamento das cadeias após deformação que resulta em mudanças apenas na conformação da cadeia e deslocamento de pontos da rede. Reticulação química, fases cristalinas ou outras fases secundárias, emaranhados macromoleculares ou redes interpenetrantes podem servir como pontos de rede em SMP. Enquanto as unidades de comutação atuam para fixar ou liberar a forma temporária quando acionado por estímulo externo, que agem por meio de mudanças na mobilidade molecular na formação/dissolução de interações reversíveis. Isso pode ser realizado utilizando a T_g , T_m , reticulação molecular reversível ou associação/dissociação supramolecular. Esses dois pré-requisitos para os SMP pode ser obtida, em geral, por copolímeros em blocos,

supramoléculas ou pela formação de uma blenda (onde um componente atuará como pontos de rede e o outro como as unidades de comutação) [72–74].

Os estímulos externos podem ser temperatura, campo elétrico ou magnético, luz, pH, água, solventes, enzima e outros. Contudo, os estímulos térmicos são os mais comuns para a ativação da memória de forma dos SMP, sendo os mais estudados e utilizados [74]. O processo completo de demonstração da capacidade de memória de forma de um polímero é conhecido como ciclo de memória de forma (Figura 3.9) e este engloba três etapas, a programação, armazenamento e recuperação. Na etapa de programação, a energia térmica é aplicada à peça até que a temperatura fique acima da temperatura de transição (T_{trans}), podendo ser a T_g ou a T_m das unidades de comutação. Nesse ponto, o material é facilmente manipulado para a forma desejada por meio da aplicação de força (gerando uma deformação) uma vez que estará no estado borrachoso. A etapa de armazenamento de energia entrópica envolve a manutenção da carga externa, enquanto a peça é configurada em uma forma temporária desejada pela redução da temperatura abaixo da T_{trans} , quando a carga externa é removida e a forma temporária é armazenada. A última etapa do ciclo de memória é a recuperação, onde a energia térmica é aplicada novamente para atingir temperaturas acima da T_{trans} e a energia entrópica armazenada no resfriamento é liberada, assim as cadeias do polímero retornam ao seu estado original [23,59,72,74].

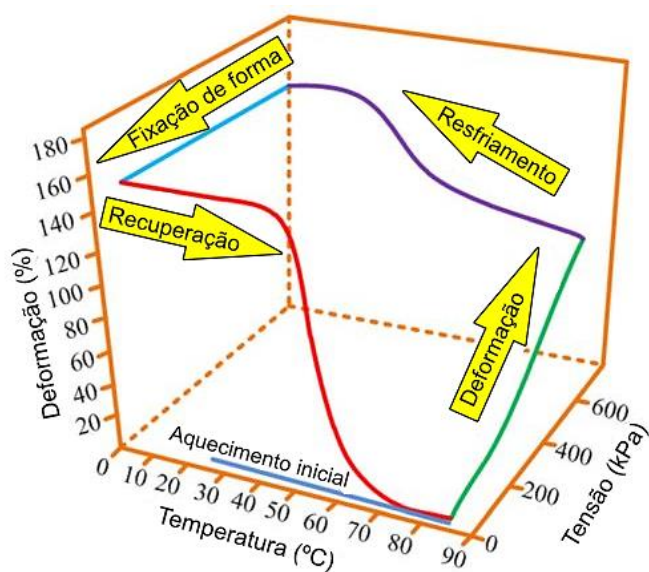


Figura 3.9 – Ciclo de memória de forma 3D de SMP ativado termicamente. A rota segue primeiro o aquecimento do material até uma temperatura específica, deformado nesta temperatura, resfriado ainda com a tensão aplicada, após resfriado a tensão é removida e por fim o material é novamente aquecido para retornar a sua forma original. Adaptado de [74].

Os SMP podem ser projetados com diferentes recursos selecionando componentes específicos, o que confere aos SMP vantagens que incluem alta capacidade de recuperação de forma em diferentes faixas de temperatura, capacidade de processamento por diferentes métodos e a possibilidade de apresentar excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. Estes aspectos incentivaram um grande número de pesquisadores a investigar o potencial do uso de SMP para aplicações biomédicas, e nas revisões recentes de Melly *et al.* [74] e Pisani *et al.* [75] foram levantadas as principais aplicações dos SMP no campo biomédico, estas incluem suturas biodegradáveis de autoaperto, implantes contraceptivos, músculos/tendões artificiais, *stents* e produção de *scaffolds* para engenharia de tecidos, principalmente na regeneração óssea.

Quanto as blendas TPU/PCL, Mostafavi e Golshan Ebrahimi [21] e Ajili e Golshan Ebrahim [76], caracterizaram blendas de TPU (PCL diol)/PCL produzidas, respectivamente, por solução usando como solvente o dimetilacetamida e por um misturador interno à 200 °C com velocidade de

rotação de 50 rpm e tempo de 5 minutos, em ambos o teor de PCL variou de 20 a 50% em massa. Em ambos os trabalhos, na caracterização reológica constataram que o aumento de PCL reduz a viscosidade complexa e os módulos de armazenamento e de perda, e que o TPU reduz a capacidade de cristalização do PCL.

Jing *et al.* [23] estudaram as propriedades térmicas, mecânicas e o comportamento de memória de forma termicamente responsivo de blendas de TPU/PCL moldadas por injeção à 175 °C em proporções 75, 50 e 25% de PCL em massa. As blendas, apresentaram comportamento térmico e mecânico sob ensaios de tração intermediário entre o TPU e PCL. E a blenda TPU/PCL (25/75 de porcentagem em massa) apresentou as melhores propriedades de memória de forma, com taxa de fixação e recuperação de 98% e 90%, respectivamente. Com essa blenda os autores produziram um fio que poderia se auto amarrar quando imerso em um banho de água quente à 60 °C por 2 segundos, indicando possível potencial para aplicações de sutura.

O mecanismo de memória de forma nas blendas TPU/PCL está descrito na Figura 3.10, onde o PCL é usado como unidade de comutação, e o TPU desempenha o papel de componente permanente. Quando a temperatura é maior que a T_m do PCL, a fase cristalina é desfeita e a blenda produzirá uma grande deformação sob força externa aplicada. Neste ponto, quando a temperatura é resfriada para um valor inferior a T_m do PCL, a cristalização deste é formada novamente e a blenda pode manter a forma fixa por um longo tempo, mesmo que a força externa seja removida. Quando a $T > T_m$ as regiões cristalinas do PCL fundem novamente o que leva a recuperação do formato original [23,77,78].

A taxa de recuperação e a taxa de fixação da forma são os dois indicadores mais importantes do desempenho da memória de forma de um polímero. O primeiro denota a capacidade do material de manter a memória de sua forma permanente, enquanto o último avalia a extensão em que as unidades de comutação fixam a forma temporária [74].

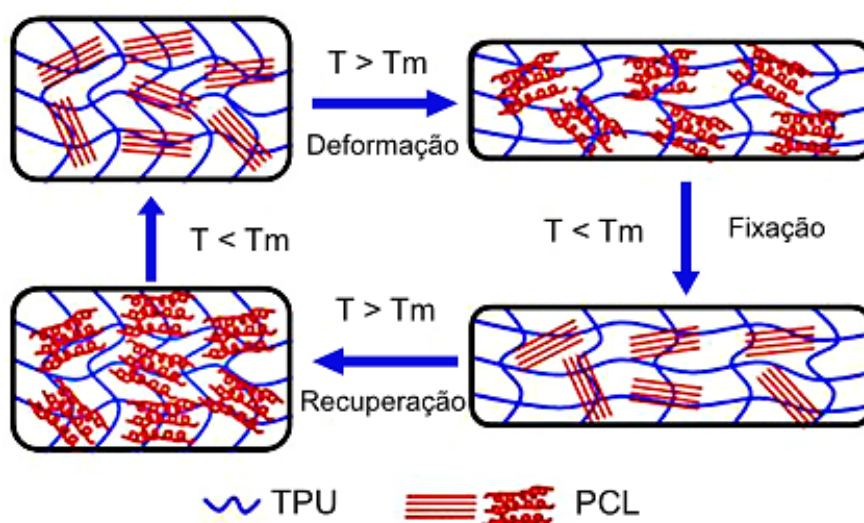


Figura 3.10 – Mecanismo de memória de forma de blendas TPU/PCL termicamente ativado. Adaptado de [78].

Fibras de memória de forma termorresponsivas obtidas a partir de blendas TPU/PCL com 10 e 30% em massa de PCL foram desenvolvidas por Tonndorf *et al.* [79], e essas foram destinadas a produção de roupas de compressão. Estas fibras foram produzidas por uma máquina de fiação por co-extrusão, onde a temperatura de extrusão na entrada foi de 120 °C e aumentada para 200 °C na saída. Os autores mostraram que a blenda com 30% em massa de PCL apresentou melhor taxa de fixação e recuperação de forma, e que o efeito de memória de forma foi observado com estímulo a uma temperatura de 50 °C.

Bhattacharya *et al.* [22] produziram blendas de TPU/ PCL com até 60% em massa de PCL, e analisaram as propriedades mecânicas, térmicas e de memória de forma. Foi constatado que o acréscimo no teor de PCL nas blendas resulta em aumento do módulo elástico e resistência à tração, no alongamento até a ruptura e na dureza. As blendas exibem comportamento térmico característico do TPU e do PCL e junto com as análises morfológicas foi constatado que as blendas eram imiscíveis. Os autores confirmaram a capacidade de memória de forma para as blendas conforme exemplificado na Figura 3.11, que ilustra a demonstração de memória de forma na blenda com 30% de PCL em massa.

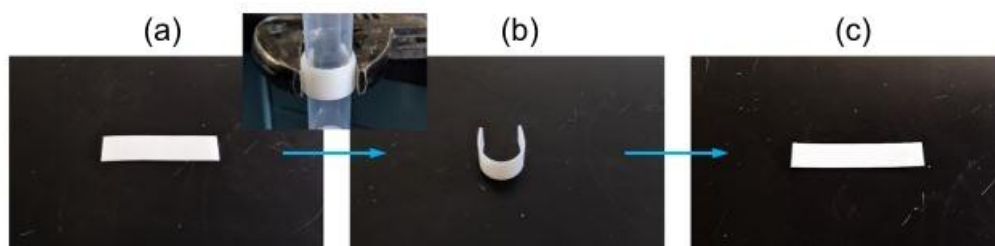


Figura 3.11 – Demonstração do comportamento da memória de forma para a blenda com 30% de PCL, em (a) o formato inicial, (b) formato temporário obtido pela deformação da amostra aquecida a 90 °C, seguido de resfriamento à temperatura ambiente e (c) recuperação da forma original alcançada pelo reaquecimento da amostra a 90 °C. Adaptado de [22].

A capacidade de memória de forma das blendas de TPU/PCL podem ser induzidas por outros estímulos, como elétricos ou por luz no infravermelho, por meio da incorporação de agentes condutores ou de fotoativos. Por exemplo, Bi *et al.* [80] produziram nanocompósitos por solução em DMF a partir da blenda TPU/PCL com 40% em massa de PCL e 1% em massa de nanotubos de carbono de paredes múltiplas revestido com polidopamina, que apresentavam efeito de memória de forma induzido por luz infravermelho. Com esta composição foram produzidas peças por impressão 3D. A taxa de fixação apresentada foi superior a 90% e a taxa de recuperação em torno de 75% após três ciclos de testes de memória de forma, indicando assim que essa propriedade foi mantida. Os autores mostraram que os modelos impressos em 3D alcançaram sucesso na fixação e recuperação de forma e que o tempo de recuperação depende da espessura da peça (no trabalho foi observado tempos variando de 18 a 112 segundos).

Ren *et al.* [81] prepararam nanocompósitos por solução em DMF, utilizando a blenda TPU/PCL, com propriedade de “cicatrização” de entalhes (autocura) assistida por memória de forma tanto com resposta elétrica como térmica, usando nanotubos de carbono em diferentes proporções. A autocura por meio de eletricidade e aquecimento apresentaram eficiências de cerca de 96% e 94% respectivamente, com tempo de estímulo de 60 segundos. As

propriedades de recuperação de forma eletroativa foram superiores a 94%. A memória de forma obtida nesses nanocompósitos ajudaram a diminuir a abertura de faces do entalhe, que em seguida o PCL pode ser fundido e preencher a região entalhada, promovendo a “cicatrização” do entalhe. Outros trabalhos semelhantes também foram desenvolvidos, como o QU *et al.* [78], que produziram compósitos por solução em DMF a partir de blendas TPU/PCL em proporções de 75, 50 e 25 % de PCL em massa e nanotubos de carbono de paredes múltiplas com dupla resposta térmica-elétrica, onde a memória de forma foi altamente eficaz.

Com estes trabalhos apresentados acima, foi constatado que pouco tem sido explorado as propriedades das blendas TPU/PCL no campo biomédico. Evidentemente que a temperatura de ativação observada nestes artigos foi um pouco elevada ($T \geq 50$ °C) e que se atingisse diretamente o tecido por tempos prolongados poderia causar danos irreversíveis.

A extensão do dano térmico ao tecido depende da sensibilidade do mesmo, temperatura e tempo de exposição. Em estudos *in vitro* a taxa de morte celular é exponencial em relação à temperatura para uma faixa limitada (40 - 55 °C). Embora a sensibilidade ao calor seja diferente entre as espécies, bem como entre os diferentes tecidos e órgãos, um ponto de mudança na taxa de morte celular foi detectado em cultura de células em torno de 43 °C e generalizado como parte do cálculo da dose térmica [82,83]. Um modelo para calcular a dose de isoefeito térmico foi proposto por Sapareto e Dewey [84], sendo este os minutos equivalentes cumulativos (CEM), neste a temperatura de 43 °C (atualmente para humanos é 43,5 °C [83]) foi utilizada como referência e a exposição térmica a outras temperaturas ou tempos é convertida em minutos equivalentes para essa temperatura [82] usando a equação 3.1, que foi modificada para parâmetros calculados para o ser humano.

$$CEM = \sum_{i=1}^N [R_{CEM}]^{(43,5-T_i)} t_i = \int_0^t [R_{CEM}]^{(43,5-T_i)} dt \quad (3.1)$$

Onde a temperatura T_i é a média de temperatura durante o intervalo de tempo t_i . O parâmetro R_{CEM} é especificado em termos da temperatura de

referência, sendo igual a 0,428 para $T_i > 43,5$ °C ou 0,233 quando $T_i < 43,5$ °C [83]. O cálculo da dose térmica utilizando este critério é o método típico utilizado em problemas de hipertermia, e é usado para determinar a máxima temperatura e tempo de exposição de um tecido sem lhe causar danos irreversíveis. Rhoon *et al.* [82], em sua revisão reportaram que os limites térmicos relatados para pele, músculo, gordura e osso humanos recomendados para pessoas não comprometidas (ou seja, sem doença ou comprometimento farmacológico) e condições controladas são superiores a 9 CEM. Com isso pode-se afirmar que para o tecido ósseo por exemplo, segundo a equivalência tempo – temperatura com o valor de CEM de 9, uma condição de exposição do osso a temperatura de 46,1 °C durante 60s não levaria à danos neste tecido.

Essa condição vai de encontro aos dados levantados por Kniha *et al.* [85], onde fizeram uma revisão sistemática sobre o limiar de temperatura de exposição do tecido ósseo em procedimento de explantação dentária e notaram que nenhum valor de limiar claro para danos (necrose óssea) está disponível de acordo com a literatura atual para estímulos quentes e frios, mas os valores para danos na matriz óssea relatados variaram entre 47°C e 55°C por 60s.

Embora os valores de ativação para a blenda já reportados na seção anterior estejam acima de 50 °C (que podem apresentar limitações em possíveis aplicações biomédicas, como em tratamento de fraturas ósseas), este valor pode ser alterado por mudanças no grau de cristalinidade do PCL durante a programação da memória de forma, além disso a temperatura pode ser aplicada diretamente na estrutura produzida, minimizando ao máximo a temperatura que pode atingir o tecido. Outro ponto, é que a memória de forma pode ser alcançada por outros meios que não seja aquecendo diretamente a estrutura produzida, como a utilização de agentes condutores e fotoativos que respondam ao campo elétrico ou a luz, aplicada diretamente sobre a estrutura (evitando contato com o tecido). Isso mostra que existem alternativas de contornar a temperatura de ativação das blendas TPU/PCL, o que indica que podem ser exploradas na engenharia de tecidos.

O que necessita para essas blendas serem exploradas é potencializar a bioatividade e a hidrofiliabilidade por meio de compósitos com cargas bioativas

para melhorar a interação entre o material e as células. Com isso, a próxima seção tratará das características da HA como uma carga potencial em compósitos poliméricos.

3.7 Hidroxiapatita – HA

A hidroxiapatita (HA) é um fosfato de cálcio hidratado com composição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ pertencente à família da apatita, cuja razão de Ca/P é 1,67. Como um biomaterial, a HA é amplamente explorada para aplicações biomédicas, principalmente na regeneração de tecido ósseo, e os resultados apresentados são bem satisfatórios. Isso em razão da semelhança química, estrutural e funcional com a composição mineral presente nos ossos, bem como das propriedades inerentes da HA, as quais incluem osteocondutividade, bioatividade, reabsorvibilidade e degradação lenta em ambientes com pH fisiológico. Ademais, esse material é capaz de estabelecer ligações de natureza química com o tecido ósseo, permitindo a proliferação de células ósseas [27,28,36,43].

Apesar do excelente desempenho biológico da HA, a sua biodegradação *in vivo* é relativamente lenta, normalmente da ordem de meses ou mesmo anos. A taxa de degradação/reabsorção da HA depende de vários parâmetros, tais como porosidade, pureza química, rugosidade superficial, conteúdo de substituição iônica na rede cristalina e presença, tipo e quantidade de uma segunda fase [36,86].

Outro limitante dos *scaffolds*/implantes de HA é a sua natureza frágil, o que os tornam difíceis de fabricar em diferentes formas e tamanhos [27]. Ao combinar HA com polímeros biodegradáveis, tanto naturais quanto sintéticos, os melhores resultados podem ser obtidos com ambos os materiais beneficiando-se das propriedades um do outro, como já demonstrado em alguns artigos de PLA/HA [46,47] e PCL/HA [31] publicados recentemente. Nos *scaffolds* produzidos com PLA/HA foi observado que a adição de HA os torna bioativos, estimulando novos fosfatos de cálcio após a incubação em fluido corporal simulado - SBF (do inglês *simulated body fluid* – SBF) o que permitiria um microambiente favorável aos osteoblastos. Além disso, os *scaffolds* a partir dos

compósitos impressos suportam a fixação, proliferação e diferenciação celular. As propriedades mecânicas, módulo elástico e resistência mecânica ficaram dentro dos valores necessários para enxertos de osso esponjoso (resistência à compressão 2 a 45 MPa [87] e módulo elástico variando de 10 a 2000 MPa [88]).

3.8 *Scaffolds* TPU/HA e PCL/HA

A produção de *scaffolds* a partir de compósitos polímeros com biocargas, possuem atributos superiores e promissores em comparação com os polímeros isolados em muitos campos de aplicação. A adição de biocargas podem melhorar o desempenho mecânico, a hidrofiliabilidade e a biocompatibilidade dos polímeros, além de estimular as interações celulares, entre as células e os *scaffolds*. Sabendo disso, nesse tópico será discutido alguns artigos importantes acerca da produção de *scaffolds* de TPU/HA e PCL/HA.

Mi *et al.* [19] desenvolveram *scaffolds* de TPU/HA por separação de fase induzida termicamente e avaliaram o efeito do tamanho da partícula de HA. Os resultados mostraram que os *scaffolds* produzidos usando partículas nanométricas apresentaram melhores propriedades compressivas e capacidade de formar apatita óssea, quando submetidos a SBF. Após serem ensaiados por 3 semanas, a porcentagem de apatita formada nesses *scaffolds* usando as nanopartículas, chegaram a alcançar valores de 9,2% em massa do conteúdo inicial de TPU. Os testes preliminares de biocompatibilidade indicaram uma taxa de sobrevivência muito alta de células de fibroblastos NIH 3T3, que somado ao comportamento de mineralização sugerem biocompatibilidade e alto potencial desses compósitos para serem usados em aplicações de engenharia de tecido ósseo.

Na Figura 3.12, são apresentadas as micrografias da superfície de *scaffolds* de TPU/HA após 3 e 4 semanas de imersão em SBF. Nestas é possível observar a formação de cristais de HA na superfície com estrutura típica de couve flor após imersão por 3 e 4 semanas [19].

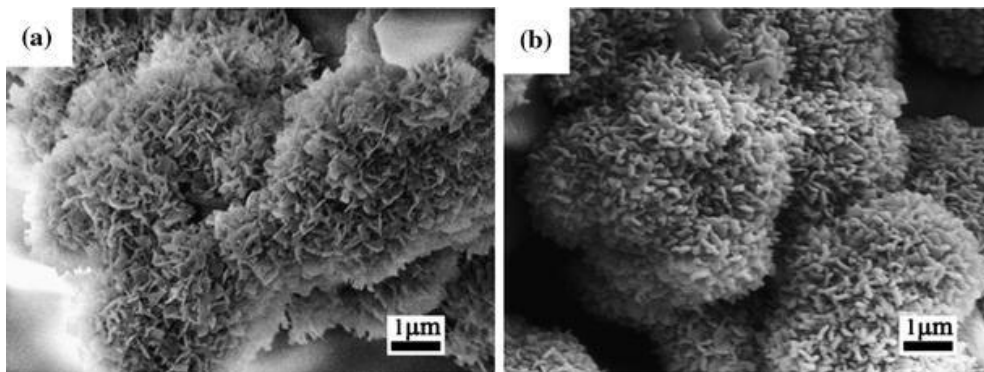


Figura 3.12 - Morfologia de cluster de apatita recém-formado nos *scaffolds* de TPU/HA com tamanho de partícula nanométrico em um teste de mineralização após (a) 3 semanas e (b) 4 semanas. Adaptado de [19].

Em outro trabalho Mi *et al.* [29] produziram *scaffolds* de TPU/HA com 10% de HA em massa por eletrofição utilizando como solvente o N, N-dimetilformamida (DMF), e avaliou-se o efeito do tamanho da hidroxiapatita em dois TPUs com características distintas, um mais flexível e outro rígido. A adição de HA, seja em tamanho nano ou micrométrico, reduziu as propriedades de tração devido o teor de HA proporcionar as fibras eletrofiadas uma distribuição de tensão não uniforme. Ademais as células nos *scaffolds* com TPU flexível induzem mais efetivamente a osteogênese das células-tronco mesenquimais humanas (hMSCs) e a suplementação com HA nanométrica aumentou ainda mais a osteogênese de hMSCs. Como conclusão, os autores deduziram que o TPU flexível contendo nano-HA têm potencial para serem usados em aplicações de engenharia de tecido ósseo.

Cui *et al.* [65] desenvolveram *scaffolds* de TPU/HA, onde o teor da HA foi de 5% em massa e o tamanho das partículas em escala nanométrica, pela técnica de evaporação de solvente assistido por vácuo, além do mais estes *scaffolds* foram revestidos por partículas de HA utilizando a técnica ultrassônica e uma solução com HA na concentração de 1 mg/ml. Os *scaffolds* revestidos apresentaram maior hidrofiliabilidade, absorção de água e resistência a compressão, bem como maior fixação e crescimento das células de osteoblastos embrionários de camundongo (MC3T3-E1).

Park *et al.* [25] avaliaram a influência da adição de 40% em massa de HA em PCL e do padrão de construção dos *scaffolds* de PCL/HA obtidos por impressão 3D, tanto no comportamento mecânico como caráter bioativo do material. As geometrias produzidas foram ortogonal e ortogonal deslocada (GOD), conforme ilustrado na Figura 3.13(a). Os autores mostraram que o módulo de elasticidade em compressão (Figura 3.13(b)) era dependente da geometria do *scaffold*, e que a geometria possui maior impacto do que a adição de HA. Os resultados de ensaios com células de osteossarcoma humano (MG 63) mostraram que a fixação foi significativamente maior nos *scaffolds* contendo HA do que no do PCL puro. Além do mais, foi constatado que a geometria GOD possuiu melhor resposta na proliferação e diferenciação celular.

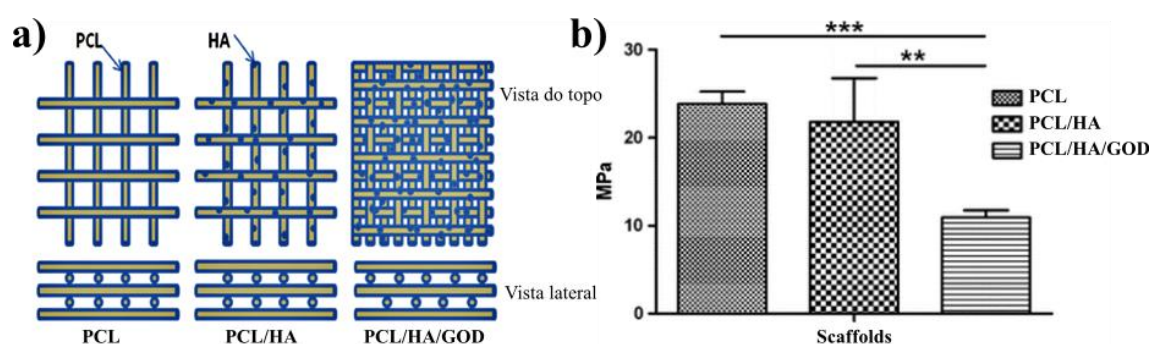


Figura 3.13 – (a) Esquema das estruturas com geometria ortogonal e geometria ortogonal deslocada - GOD, (b) Valores do módulo de compressão dos *scaffolds* PCL, PCL/HA e PCL/HA/GOD. Adaptado de [25].

Kim *et al.* [30] desenvolveram *scaffolds* de PCL/HA com concentrações de 10, 20 e 30% em massa de nanopartículas de HA, por meio da impressão 3D baseada em extrusão. Os resultados mostraram que o tamanho do poro e o diâmetro de filamento depositado de cada *scaffold* foram semelhantes (isso para as mesmas condições de impressão e comparando somente efeito do teor de HA) e que a rugosidade da superfície desses aumentaram à medida que o teor de HA aumentava. E a extensão da mineralização (conteúdo de cálcio e fósforo) aumentou linearmente do dia 0 ao dia 14, nos *scaffolds* com teores de 20 e 30%.

Cho *et al.* [14] produziram *scaffolds* de PCL/HA, cujo teor da HA utilizada foi de 40% em massa, por impressão 3D de extrusor de seringa e depois submeteram esses a uma erosão alcalina, para expor as partículas de HA recobertas por uma fina camada de PCL. Os autores mostraram que as mudanças estruturais nos *scaffolds* após a erosão foram mínimas e que esses apresentaram melhores resultados de proliferação celular e mineralização biomimética, porque a deposição de íons foi promovida pelas partículas expostas de HA.

Em trabalho recentemente publicado por Backes *et al.* [31] foram avaliadas as propriedades reológicas, mecânicas e biológicas de *scaffolds* impressos em 3D a partir de compósitos de PCL/HA com teor de 5 e 10% em peso de HA. Foi avaliado também o efeito do tratamento de superfície em solução de NaOH por 24 horas nas propriedades mecânicas e biológicas dos *scaffolds*. Os ensaios de compressão mostraram que o módulo elástico pouco variou com o teor de HA (saindo de 30,4 MPa do PCL para 33,3 MPa do compósito PCL/10% de HA) e que o tratamento superficial não alterou os valores de módulo elástico, além do mais, tais valores estavam dentro do necessário para enxertia óssea que é de 10 a 2000 MPa. Os resultados *in vitro* com osteoblastos, mostraram que o efeito do HA combinado com o tratamento de superfície em solução alcalina permitiu melhor citocompatibilidade em relação ao PCL puro.

Com base nas características intrínsecas do TPU, PCL e HA e suas misturas, previamente explanadas, faz-se relevante, a investigação de *scaffolds* a partir da blenda TPU/PCL e compósitos destas com adição de HA, como proposto nesta dissertação. Especificamente, a versatilidade de processamento dos dois polímeros e suas propriedades mecânicas e memória de forma que a blenda possui, aliadas à bioatividade e osteocondutividade da HA podem viabilizar aplicações desses possíveis compósitos como *scaffolds* para regeneração de tecido ósseo. Adicionalmente, a utilização da técnica de impressão 3D por extrusor de seringa na produção de *scaffolds* com esses materiais, pode deter alto potencial para promover características mecânicas e

de permeabilidade a fluídos corporais/proteínas projetadas para aplicações na engenharia de tecidos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

O poliuretano termoplástico (TPU) utilizado neste trabalho foi gentilmente doado pela BASF S. A., grade Elastollan 590 A 13000, com massa específica 1,25 g/cm³, dureza shore A de 92.

O poli(ϵ -caprolactona) (PCL) produzido pela Perstorp (CAPA 6500, Malmö, Sweden) e gentilmente doado pela Ingevity. De acordo com o fornecedor, o mesmo tem um índice de fluidez de 7,9 g/10 min (160 °C, 2,16 kg, ASTM-D-1238), temperatura de fusão de cerca de 60 °C e temperatura de transição vítrea de -60 °C.

A hidroxiapatita (HA), fornecida pela Sigma Aldrich® (Ref 21223), com composição Ca₅(OH)(PO₄)₃, formato esférico, pureza maior que 90% e tamanho médio de partícula da ordem de 4,58 μ m.

4.2 Métodos

Para melhor condução e organização, o trabalho foi dividido em duas etapas, a primeira trata-se da caracterização do TPU, das blendas TPU/PCL e dos biocompósitos de TPU/HA, TPU/PCL/HA e PCL/HA com teor de HA de até 20% em massa, após serem produzidas via misturador interno e conformados por prensagem uniaxial. A segunda etapa deste trabalho, utilizou as formulações com melhor balanço de printabilidade e estabilidade térmica selecionadas com base na primeira etapa, estas foram caracterizadas logo após preparação no misturador interno, seguido da impressão 3D e avaliação das propriedades dos *scaffolds* produzidos. As caracterizações específicas para cada etapa serão detalhadas abaixo.

4.2.1 Primeira etapa: desenvolvimento e caracterização dos materiais produzidos via misturador interno e prensados

- Processamento via misturador interno acoplado a um reômetro de torque

O processamento do TPU, PCL, blendas TPU/PCL nas proporções 75, 50 e 25% de TPU em massa e dos biocompósitos a partir destes com 5, 10 e 20%

de HA em massa, foi realizado em uma câmara de mistura acoplada a um reômetro de torque. Para tanto, foi utilizado um reômetro de torque Haake, modelo Rheomix 600p, com rotores contra-rotacionais e semi interpenetrantes do tipo *roller*, temperatura de 190 °C e tempo de mistura de 5 minutos a uma rotação de 60 rpm. De modo a melhorar a mistura de ambos os polímeros e a biocarga durante o processamento, os polímeros foram previamente moídos criogenicamente e secos em estufa a vácuo a 60 °C para o TPU e 40 °C para o PCL até a massa constante. Antes do processamento no misturador interno, o PCL, o TPU e a biocarga foram secos a vácuo em temperaturas de 40, 80 e 110 °C por 24 horas, respectivamente. E, logo após, foram misturados nas proporções desejadas via tamboreamento manual. As composições e as respectivas nomenclaturas são mostradas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Composições das blendas e compósitos desenvolvidos.

Nomenclatura	TPU (% m/m)	PCL (% m/m)	HA (% m/m)
TPU	100	0	0
TPU5HA	95	0	5
TPU10HA	90	0	10
TPU20HA	80	0	20
75T25P	75	25	0
75T25P5HA	71,25	23,75	5
75T25P10HA	67,5	22,5	10
75T25P20HA	60	20	20
50T50P	50	50	0
50T50P5HA	47,5	47,5	5
50T50P10HA	45	45	10
50T50P20HA	40	40	20
25T75P	25	75	0
25T75P5HA	23,75	71,25	5
25T75P10HA	22,5	67,5	10
25T75P20HA	20	60	20
PCL	0	100	0
PCL5HA	0	95	5
PCL10HA	0	90	10
PCL20HA	0	80	20

- Preparação de placas prensadas

Após a preparação das formulações no misturador interno, os materiais resultantes foram granulados manualmente com auxílio de artefato cortante,

secos a 40 °C por 48 horas sob vácuo e, posteriormente, uma parte deste material foi utilizado para conformação de placas por meio da moldagem por compressão à 210 °C.

Foram produzidas placas com dimensões de 70 x 16 x 3 mm, utilizando um molde de produção simultânea de 3 placas em uma prensa hidráulica da Marconi Equipamentos para Laboratórios, modelo MA098/A. Foi utilizado dois ciclos de prensagem para produzir amostras livres de bolhas, determinados após inúmeras tentativas: O primeiro para as amostras com no mínimo 40% (m/m) de TPU (Tabela 4.1), sendo este: pré-aquecimento (2 minutos) / prensagem (1 ton por 30 segundos) / alívio / prensagem (3 ton por 30 segundos) / alívio / prensagem (3 ton) por 3 vezes com alívio entre as cargas / prensagem (6 ton) por 3 vezes com alívio entre as cargas / prensagem (9 ton) por 3 vezes com alívio entre as cargas / resfriamento sob pressão (6 ton até a temperatura da prensa atingir 160 °C) / resfriamento por banho em água (3 minutos). O segundo ciclo foi para as amostras com no mínimo 60% (m/m) de PCL, e consistiu de repetir a prensagem até 6 ton, não sendo necessária a etapa com 9 ton e resfriamento sob pressão (3 ton até a temperatura da prensa atingir 160 °C) / resfriamento por banho em água (3 minutos). A partir das placas obtidas, foram confeccionadas amostras para o ensaio de compressão e também para as caracterizações reológica, térmica e morfológica.

Também foram produzidas placas com dimensões aproximadas de 60 x 10 x 0,9 mm utilizando um molde de produção simultânea de 2 placas, nas amostras de TPU como recebido da empresa, na blenda 75T25P e nos seus respectivos compósitos com 5 e 10% de HA. Também foi utilizado a prensa hidráulica da Marconi Equipamentos para Laboratórios, modelo MA098/A. O ciclo de prensagem foi: pré-aquecimento (3 minutos) / prensagem (1 ton por 30 segundos) / alívio / prensagem (2 ton por 30 segundos) / alívio / prensagem de 3 ton / alívio / prensagem de 6 ton / alívio / prensagem de 9 ton / alívio e resfriamento em banho em água (1 minuto). Dessas placas foram retiradas amostras de 5 x 8 mm para o ensaio de viabilidade celular.

- Caracterização mecânica

A caracterização mecânica do TPU, PCL, das blendas e dos biocompósitos foi realizada por meio de testes de compressão uniaxial, de acordo com a norma ASTM D 695-15. As amostras usadas foram estampadas das placas prensadas e possuíam diâmetro de 8 mm e altura de 3 mm (Figura 4.1), a estampagem foi realizada utilizando um vazador em aço. Os ensaios foram realizados em uma máquina universal de ensaios Instron, modelo 5569, usando uma célula de carga de 500 N, pré carga de 15 N, velocidade de travessa de 1,3 mm/min e utilizando o software Bluehill 2.15. Foram ensaiados pelo menos 9 amostras para cada formulação.

A análise comparativa entre os valores médios de módulo elástico foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey com nível de significância de 0,05.

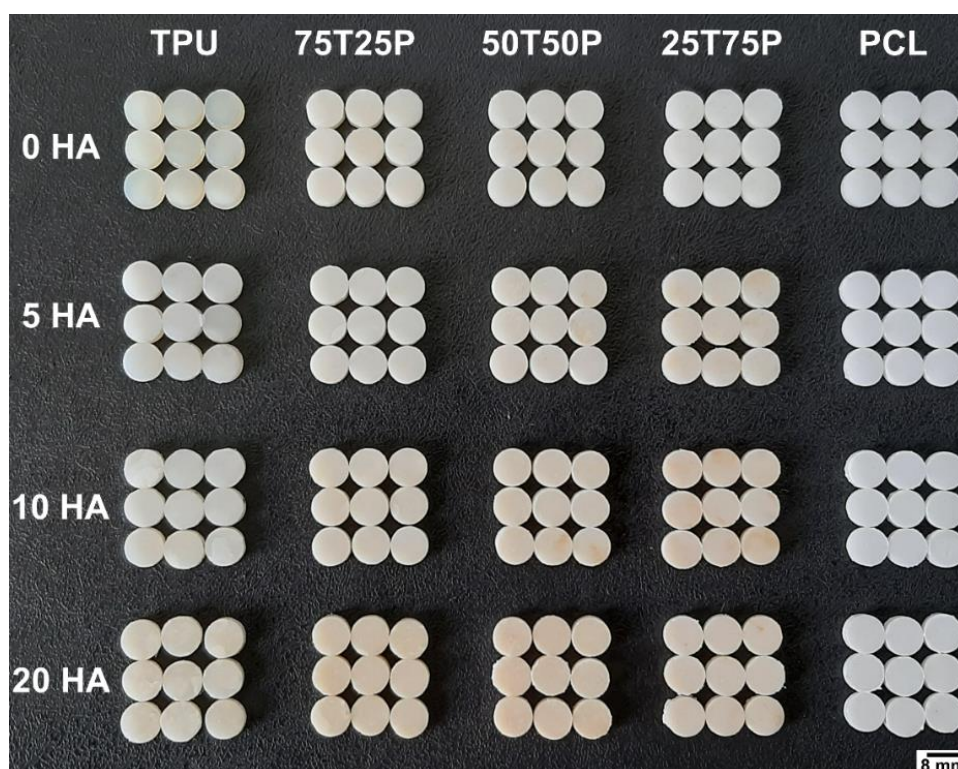


Figura 4.1 – Amostras de 8 mm de diâmetro e 3 mm de altura utilizadas no ensaio de compressão.

- Caracterização reológica

O comportamento reológico das formulações foi avaliado utilizando-se um reômetro compacto modular (MCR 702 MultiDrive, Anton Paar) com geometria de ensaio de placas paralelas de 25 mm, com distância entre as placas de 1 mm e atmosfera inerte de nitrogênio. Os testes de viscosidade por taxa de cisalhamento foram conduzidos a uma taxa de 0,01 a 100 s⁻¹ e em temperatura de 210 °C para todas as formulações. O principal objetivo desta caracterização foi constatar a ocorrência de possível degradação das matrizes poliméricas. Esses ensaios foram realizados no Mackgraphe na universidade Presbiteriana Mackenzie.

- Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As temperaturas características de transição vítrea (T_g) e de fusão cristalina (T_m) do TPU, PCL, das blendas e dos biocompósitos, e o grau de cristalinidade (X_c) do PCL foram avaliados pela técnica de DSC. Para tanto, foi utilizado o equipamento da TA Instruments, modelo QS100, com nitrogênio como gás de arraste, em fluxo contínuo de 50 mL/min. As medidas foram realizadas submetendo as amostras ao seguinte procedimento: (a) aquecimento de 10 °C/min de 30 °C até 240 °C; (b) isoterma de 3 minutos; (c) resfriamento a taxa de 10 °C/min até -70 °C; (d) segundo aquecimento à 10 °C/min de -70 até 240 °C. O X_c foi calculado usando a Equação 4.1 e todas as amostras foram realizadas em duplicata.

$$X_C = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0(1-N)} \quad (4.1)$$

Onde X_c é o grau de cristalinidade, ΔH_m é a entalpia de fusão cristalina do PCL, ΔH_m⁰ é a entalpia teórica de fusão do PCL 100% cristalino, no caso 139,5 J/g [13], e N é a fração mássica da carga e/ou TPU no PCL. Não foi possível determinar o grau de cristalinidade do TPU em razão da sua complexa estrutura e difícil determinação da entalpia teórica de fusão do TPU 100% cristalino.

O DSC também foi usado para caracterizar o comportamento de cristalização dos SR do TPU como recebido, após processamento no misturador

interno e após prensagem à 210 °C. O procedimento de análise foi o mesmo mencionado acima.

- Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi empregada para avaliar a estabilidade térmica das blendas e biocompósitos, bem como determinar o teor de carga incorporado no TPU, PCL e nas blendas TPU/PCL. Para tanto, foi utilizando o equipamento da TA Instruments, modelo TGA Q50, à uma taxa de 20 °C/min, a partir da temperatura ambiente até 800 °C, sob atmosfera de N₂.

- Caracterização microestrutural

A morfologia da fratura criogênica do TPU, PCL e das blendas foi investigada utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para tanto, as amostras na forma de uma barra retangular foram crio-fraturadas em nitrogênio líquido. Após a fratura, as blendas 75T25P e 50T50P foram submetidos ao processo de extração do PCL com acetona a 40 °C por 40 minutos. Em seguida, as amostras foram fixadas em suportes de alumínio com fita condutiva dupla face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro para viabilizar a análise. A mesma foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura, Quanta 400 – FEI® (FEI Corp, Hillsboro, Oregon, USA), operando a uma voltagem de 15 kV. Essas análises foram realizadas no Centro de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais (CCDM/DEMa/UFSCar).

- Análise da printabilidade

Para avaliar a printabilidade das formulações, foram projetados *scaffolds* em uma geometria cilíndrica de 10 mm de diâmetro por 3 mm de altura. O modelo 3D foi projetado no *software* Prusaslicer e fatiado em 10 camadas de 300 µm de altura, espaço entre filamentos de 400 µm (tamanho de poros), largura de filamento de 400 µm e rotação de 90° entre camadas alternadas. Para determinar as formulações com melhor printabilidade, foram medidos o diâmetro e a altura com auxílio de um paquímetro digital para três *scaffolds* e em duas regiões

diferentes para cada formulação. A Figura 4.2 apresenta a estrutura do *scaffold* projetado para impressão.

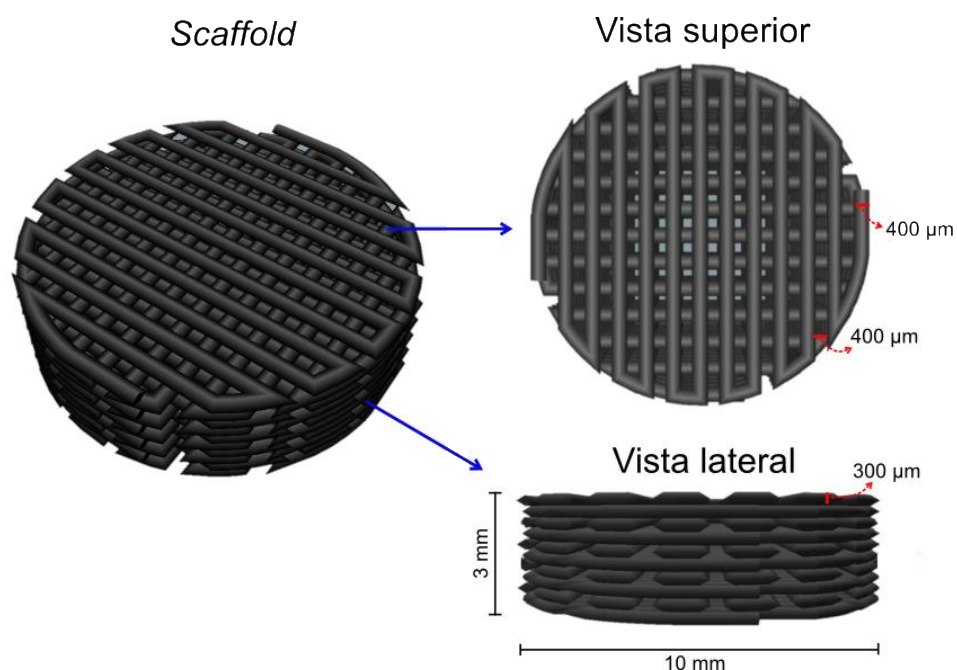


Figura 4.2 – Estrutura do *scaffold* de 10 mm x 3 mm projetado e fatiado no Prusaslicer.

A impressora 3D utilizada neste trabalho foi a 3DBS, da marca 3D Biotechnology Solutions, modelo Genesis II, de duplo cabeçote com mecanismo de microextrusão mecânico, ou seja, por extrusor de seringa (Figura 4.3). Esta impressora possui duas seringas, uma para biotintas e outra para impressão a partir de *pellets*, a mesa é móvel e aquecida, gabinete semifechado, nivelamento manual e o volume máximo de impressão é de 100 x 140 x 100 mm. A seringa metálica utilizada na impressão de polímeros que estão na forma de grânulos ou pó é de aço inox com volume de 5,7 cm³, e sua temperatura máxima é de 240 °C. Vale ressaltar que para esta impressora foi necessário o desenvolvimento de um sistema de resfriamento (Figura 4.3(b)) visando melhorar a qualidade dos *scaffolds* impressos, uma vez que este equipamento não possuía tal sistema. O controle da impressão e da impressora 3DBS foi realizado por meio do *software Repetier-Host*, que é uma interface simples que facilita a conexão USB com a impressora 3D.

Os critérios de impressão dos *scaffolds* foram determinados após vários testes, de modo que os melhores resultados foram obtidos utilizando velocidade de impressão de 5 mm/s e temperatura de 210 °C. Os materiais utilizados na impressão foram os obtidos após processamento no misturador interno (sem prensagem), os mesmos foram triturados em pequenos grânulos, secos sob vácuo a 40 °C por 96 h e alimentados direto na seringa metálica.

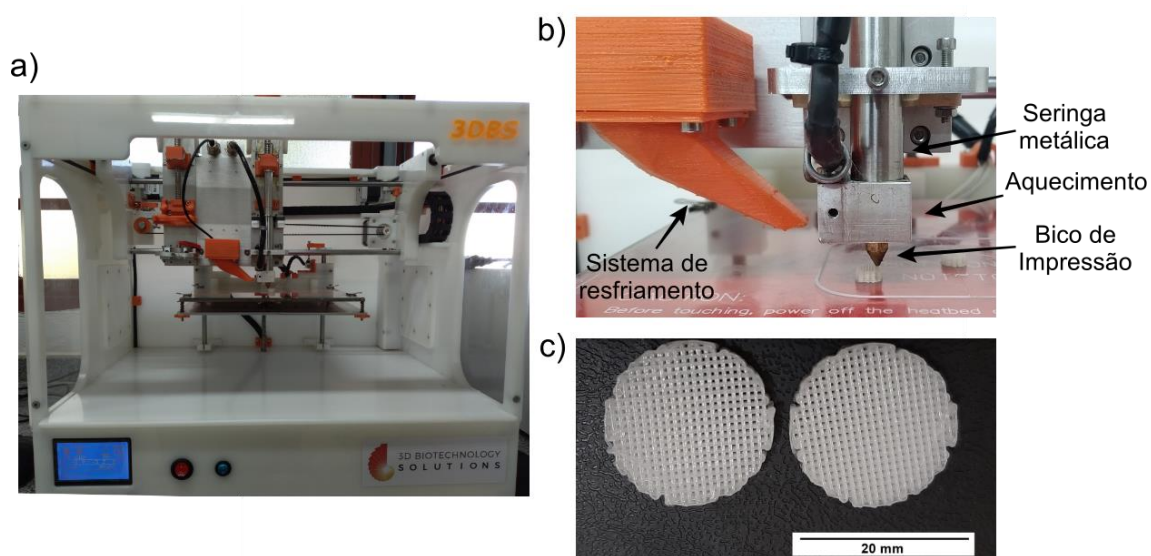


Figura 4.3 - Impressora 3DBS utilizada nesse trabalho (a), detalhes dos componentes essenciais da impressora (b) e exemplos de *scaffolds* de PCL impressos com esta (c).

- Avaliação in vitro da biocompatibilidade

Cultura celular (MC3T3-E1). Inicialmente, as placas de 0,9 mm de espessura do TPU, TPU/HA, 75T25P e 75T25P/HA (teor da HA de 5 e 10%) foram esterilizadas com álcool 70% e exposição de ambas as faces por 15 min a UV. A seguir as amostras foram lavadas com solução tampão de fosfato (PBS) e incubadas com Meio Mínimo Essencial Alfa (α -MEM) suplementado com 10% v/v de soro fetal bovino (FBS), bicarbonato de sódio e 1% v/v de antibiótico-antimicótico. As células pré-osteoblásticas de rato (MC3T3-E1) foram plaqueadas nas amostras utilizando-se uma placa de cultura de 48 poços (não aderente) e utilizou-se uma metodologia top-down, onde o plaqueamento celular

ocorreu na superfície das amostras. As amostras foram cultivadas utilizando um volume da gota de 500 µL com densidade celular de 25.000 células. Após o primeiro dia de cultivo, as amostras foram transferidas para uma placa de cultura e o meio de cultura foi trocado a cada 2-3 dias durante o período de análise (7 dias). Ensaio de *alamar blue* foi utilizado para avaliar a proliferação celular. Após 1, 3 e 7 dias de cultura, foi retirado o meio anterior em cada ponto de tempo e adicionado meio mais a solução de *alamar* (90/10), 500µL por poço, e incubado no escuro por 4h. Também foram incubadas 3 amostras por composição e 3 de meio mais a solução de *alamar* sem células (controle negativo). Posteriormente, 100 µL da solução de todas as amostras (em triplicada) foram transferidos para uma placa preta onde foi realizado a medição de ponto final de fluorescência (560 nm / 590 nm). O meio mais a solução de *alamar* autoclavado foi utilizado como controle positivo e utilizado para estimar o potencial de redução das amostras. As análises estatísticas entre os grupos amostrais foram realizadas por meio análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey com nível de significância de $p < 0,05$.

A forma e a organização do citoesqueleto das células após 7 dias de cultura no TPU e na blenda 75T25P, foram determinadas por coloração com DAPI/faloidina. As amostras foram lavadas com solução de PBS e as células fixadas com formalina, em seguida, foram lavadas com PBS e incubados em faloidina Atto 488 (cat.# 49409, Sigma-Aldrich) para marcação do citoesqueleto. Depois lavadas novamente com PBS, e os núcleos das células foram marcados com solução de DAPI (diamidino-2-phenylindole) 1mg/mL (cat.# 62248, Thermo Fisher Scientific) incubando as amostras à temperatura ambiente até a análise. Por fim, lavadas novamente com PBS e analisadas usando o microscópio confocal Leica microsystems.

4.2.2 Segunda etapa: caracterização dos materiais selecionados e dos *scaffolds*

- Caracterização térmica

As análises de DSC para avaliar o efeito da HA com até 10% em massa nas temperaturas características do TPU e da blenda 75T25P após misturador interno foram realizadas conforme procedimento descrito na seção anterior.

- Caracterização reológica

O comportamento reológico das formulações selecionadas após o misturador interno e do TPU como recebido foi avaliado utilizando-se um reômetro de tensão controlada AR G2 (TA instruments) com geometria de ensaio de placas paralelas de 25 mm, com distância entre as placas de 1 mm e atmosfera inerte de nitrogênio. Os testes de viscosidade por taxa de cisalhamento foram conduzidos a uma taxa de 0,01 a 100 s⁻¹ e em temperatura de 210 °C para todas as formulações.

A caracterização viscoelástica em regime oscilatório foi obtida nas mesmas condições utilizadas para a caracterização em baixas taxas de cisalhamento, a taxa de deformação aplicada foi de 0,5 ou 2% (dentro do limite de viscoelasticidade linear de cada material) para se determinar o módulo elástico em cisalhamento (G') e de perda (G'') em função da frequência angular que variou de 0,1 à 500 rad/s. Acrescenta-se que as análises foram realizadas em triplicata.

- Impressão dos scaffolds

Os *scaffolds* foram produzidos conforme procedimento descrito na seção anterior (printabilidade), a velocidade de impressão foi de 5 mm/s e a temperatura de 210 °C. Excetuando-se as dimensões da geometria cilíndrica, que foram de 8 mm de diâmetro por 3 mm de altura. Os materiais utilizados foram os obtidos após misturador interno e que foram granulados manualmente com auxílio de artefato cortante, conforme ilustrado na Figura 4.4. Antes de iniciar a impressão os materiais foram secos a 40 °C sob vácuo por 96 horas.

Também foram impressos *scaffolds* de 75T25P e 75T25P/HA de 10 mm de diâmetro e 8 mm de altura, e filamentos da blenda 75T25P com 1,4 mm de

diâmetro, todos sob as mesmas condições descritas acima e estes foram utilizados no ensaio de memória de forma.

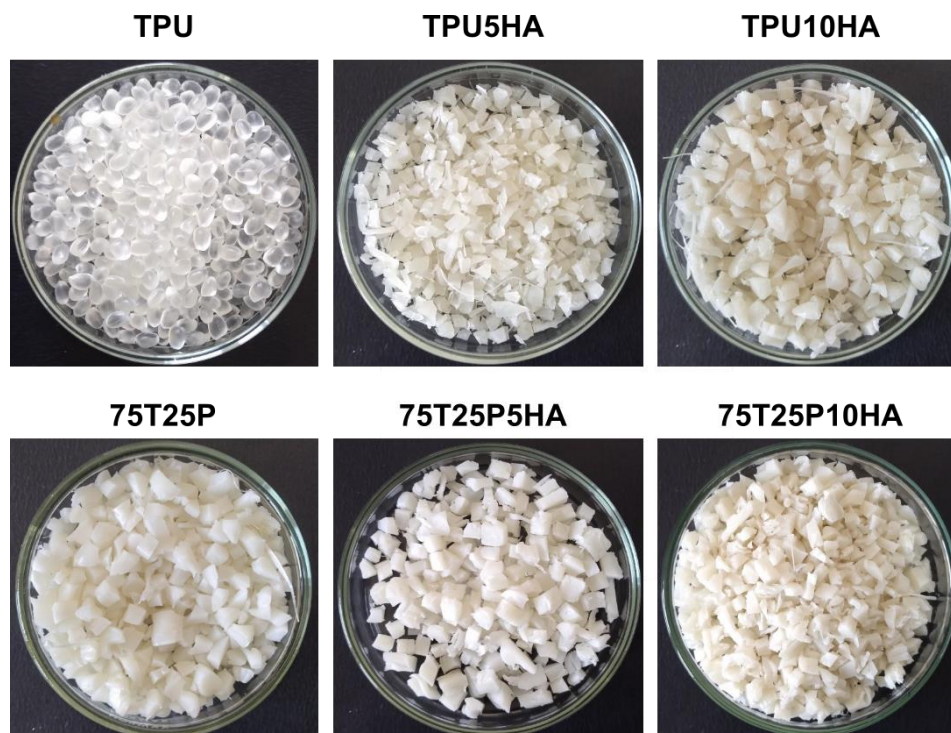


Figura 4.4 – Material utilizado para impressão 3D dos *scaffolds*.

- Memória de forma

O ensaio de memória de forma termicamente responsiva nos *scaffolds* de 75T25P, 75T25P5HA e 75T25P10HA foi executado conforme as seguintes etapas: (1) aquecimento das amostras até 90 °C por 3 minutos em estufa de circulação a ar; (2) ainda sob aquecimento os *scaffolds* foram deformados (ϵ_1) em 15% do seu tamanho inicial com aplicação de tensão de compressão com auxílio de um alicate; (3) ainda com a deformação aplicada as amostras foram rapidamente resfriadas em banho de gelo por 3 minutos; (4) após 20 minutos que estas amostras foram retiradas do banho de gelo, foram medidas as deformações remanescentes (ϵ_2) das amostras; (5) em seguida os *scaffolds* foram reaquecidos a 55 °C por 20 s utilizando um banho de água aquecida em placas de aquecimento, com temperatura controlada por um termômetro; (6) por fim, foi medida a deformação residual (ϵ_3).

O ensaio de memória de forma nos filamentos da blenda 75T25P foi executado seguindo as etapas: (1) aquecimento das amostras até 90 °C por 3 minutos em estufa de circulação a ar; (2) ainda sob aquecimento os filamentos foram deformados (ϵ_1) em 100% do seu tamanho inicial com aplicação de tensão de tração com auxílio de dois alicates e uma régua; (3) ainda com a deformação aplicada as amostras foram rapidamente resfriadas em banho de gelo por 3 minutos; (4) após 20 minutos que estas amostras foram retiradas do banho de gelo, foram medidas as deformações remanescentes (ϵ_2) dos filamentos; (5) em seguida os mesmos foram reaquecidos à 40 °C por 10 s e à 50 °C por 5 s, estes foram realizados utilizando um banho de água aquecida em placas de aquecimento, com temperatura controlada por um termômetro; (6) por fim, foi medida a deformação residual (ϵ_3). A taxa de recuperação e a fixação da forma tanto dos filamentos quanto dos *scaffolds* foram calculadas de acordo com as equações 4.2 e 4.3, respectivamente [23,78,89].

$$\text{Taxa de fixação (\%)} = \left(\frac{\epsilon_2}{\epsilon_1} \right) * 100 \quad (4.2)$$

$$\text{Taxa de recuperação (\%)} = \left(1 - \frac{\epsilon_3}{\epsilon_1} \right) * 100 \quad (4.3)$$

Os resultados de memória de forma encontrados para os *scaffolds* não são definitivos, dado que foi utilizado apenas uma amostra de cada formulação e observou-se a necessidade de sistematização da etapa de deformação dos *scaffolds* aquecidos.

- Caracterização mecânica

A caracterização mecânica dos *scaffolds* de TPU, 75T25P e dos biocompósitos TPU/HA e 75T25P/HA foi realizada por meio de testes de compressão uniaxial, de acordo com a norma ASTM D 695-15, em uma máquina universal de teste Instron, modelo 5569, utilizando uma célula de carga de 500 N e velocidade de travessa de 1,3 mm/min. Foram ensaiados pelos menos 6 espécimes para cada composição. A análise comparativa entre os valores

médios de módulo elástico foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey com nível de significância de 0,05.

- Caracterização morfológica

A arquitetura dos *scaffolds* e a distribuição da carga no TPU e na blenda, foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura utilizando o equipamento Philips XL-30 FEG operado na tensão de aceleração de 15 kV, sendo seguido pela realização do mapeamento de composição (Cálcio (Ca) e Fósforo (P)), utilizando o acessório de espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS). Foram analisados a face superior e transversal das amostras que foram fraturadas, antes da análise estas amostras foram fixadas em suportes de alumínio com fita condutiva dupla face de carbono e recobertas com uma fina camada de ouro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do TPU

Durante a realização deste trabalho foi observado que o TPU apresentou mudanças significativas no comportamento de cristalização e fusão dos SR, e para entender o efeito do processamento neste comportamento, foram realizadas análises de DSC no material como recebido (TPU-R), prensado à 210 °C (TPU-RP), processado no misturador interno Haake (TPU-H), e após Haake e prensagem à 210 °C (TPU-HP). A Figura 5.1 apresenta as curvas da varredura do primeiro aquecimento nestas amostras.

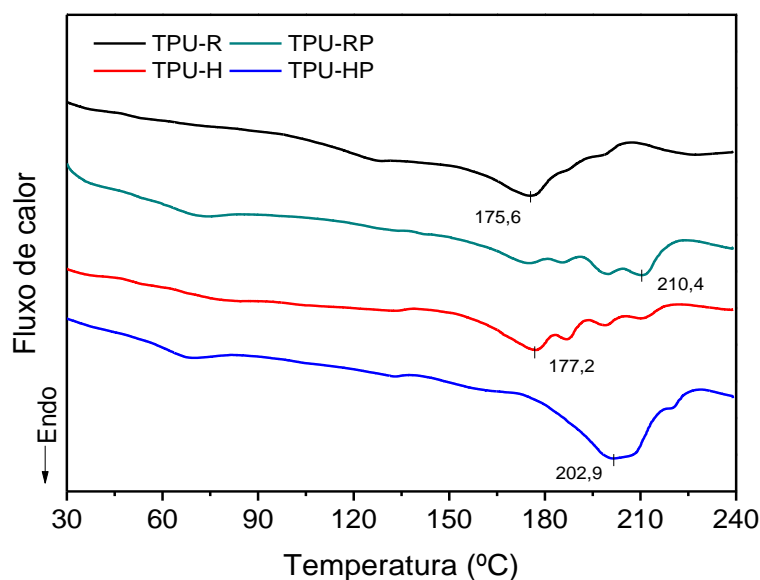


Figura 5.1 – Curvas da primeira varredura de aquecimento do DSC das amostras de TPU-R, TPU-RP, TPU-H e TPU-HP.

Como esperado, as amostras apresentaram diferentes comportamentos nas curvas de DSC, isso em razão da história térmica a que cada material foi submetido. O TPU-R apresentou três endotermias de fusão, sendo a primeira em 127,6 °C, a segunda, que foi a maior, em 175,6 °C e a última em 198,9 °C. O TPU-H apresentou quatro endotermias, onde a maior ocorreu em 177,2 °C, e em relação a temperatura inicial e final de fusão deste material houve deslocamento para temperaturas maiores, sendo essas de 141,3 e 218 °C, respectivamente, quando comparado com o TPU-R. No TPU-RP, amostra na qual os *pellets* como

recebidos foram submetidos a prensagem a 210 °C, também houve um aumento da temperatura inicial e final de fusão em relação ao TPU-R, além do mais foram observados cinco endotermas de fusão, sendo que uma delas ocorreu em 72,8 °C e os dois maiores ocorreram em 199,8 e 210,4 °C. Diferentemente das demais amostras, o TPU-HP apresentou uma larga endoterma com temperatura de pico em 202,9 °C, seguido de um pequeno pico na forma de “ombro” em 220,3 °C e a completa fusão em 228,4 °C, notou-se também para esta uma endoterma em 68,5 °C.

As múltiplas endotermas de fusão observadas para todas as amostras de TPU, são atribuídas aos diferentes tamanhos e vários níveis de ordem de empacotamento dos domínios dos SR. Para muitos TPUs com segmentos que contem anéis aromáticos, como é o caso do TPU usado neste trabalho, essas endotermas de fusão múltiplas são comuns e geralmente são encontradas três endotérmicas: a primeira, em geral, observada em torno de 20 a 30 °C acima da temperatura de recozimento (*annealing*) e é considerada como sendo a relaxação entálpica dos SR não organizados (amorfos); A segunda é observada em temperaturas entre 120 e 200 °C e corresponde à fusão da estrutura ordenada dos SR; por último, a terceira endoterma detectada acima de 200 °C é atribuída a fusão da região de SR de alta organização (denominada de região microcristalina) [90–92]. Obviamente que o número de endotermas e a ocorrência nestas temperaturas variam com a temperatura e o tempo de processamento, que podem ocasionar em cisões de cadeia e alterar o tamanho dos SR, além da taxa de resfriamento, que afeta a cinética do ordenamento dessas regiões.

O TPU-R, possivelmente foi rapidamente resfriado assim que saiu pela matriz da extrusora na forma de filamentos, durante a produção dos *pellets* na empresa, e isso não permitiu que os SR se organizassem de forma a produzir regiões microcristalinas (Figura 5.1). O TPU-H foi mantido ao ar na temperatura ambiente assim que o mesmo saiu do misturado interno, embora a taxa de resfriamento ainda seja rápida houve a formação de um pico de fusão em temperaturas mais elevadas, resultado da formação de regiões microcristalinas. Tanto o TPU-RP quanto o TPU-HP foram resfriados na mesma condição

(resfriamento até 160 °C sob pressão seguido de resfriamento em água), e isto deu condições para formação de uma estrutura mais ordenada e de regiões microcristalinas, conforme indicado pelas curvas da primeira varredura de aquecimento (Figura 5.1).

Embora a taxa de resfriamento tenha muita influência na estrutura dos domínios dos SR, que conseqüentemente altera as endotermas, o tamanho das cadeias de SR que formam os domínios rígidos também possuem influência, pois se formados por cadeias de SR menores os domínios tendem a fundir em uma temperatura mais baixa, enquanto os formados com cadeias maiores fundem em temperaturas mais altas [93,94].

O tamanho das cadeias de SR no TPU podem ser alteradas durante o processamento por fusão, devido ao grupo uretano ser termicamente instável. As ligações uretano são estáveis no estado sólido do TPU, porém acima de uma certa temperatura de estabilidade no estado fundido, a qual depende principalmente do extensor de cadeia e do tipo de diisocianato utilizado [95], essas ligações se dissociam e se re-associam simultaneamente (Figura 5.2(a)) [93,95–97]. Esse processo é conhecido como “transuretização” e afeta a distribuição dos comprimentos dos SR, a dissociação e recombinação das ligações ocorrem acima de 170 °C [96,97], e o processamento acima de 190 °C aumenta consideravelmente a taxa de trans-reações e pode levar a um sistema polidisperso com a formação de cadeias SR curtas e longas [93,94], conforme ilustrado na Figura 5.2(b). Ao resfriar o fundido de um sistema polidisperso, as cadeias de SR separam-se em diferentes tamanhos de domínios cristalinos [93,94].

Ao resfriar o TPU-RP e TPU-HP sob as condições de prensagem mencionadas acima, a temperatura e tempo permitiram a mobilidade das cadeias de SR maiores, o que resultou na formação de mais domínios com SR grandes e, conseqüentemente, causou a elevação da T_m destas amostras. As cadeias muito curtas de SR formaram domínios com mais baixa T_m . Na amostra de TPU-H, como o resfriamento foi mais intenso que o TPU-RP e TPU-HP, os SR mais longos não conseguiram empilhar-se para forma domínios com maior nível de perfeição, devido à baixa mobilidade molecular.

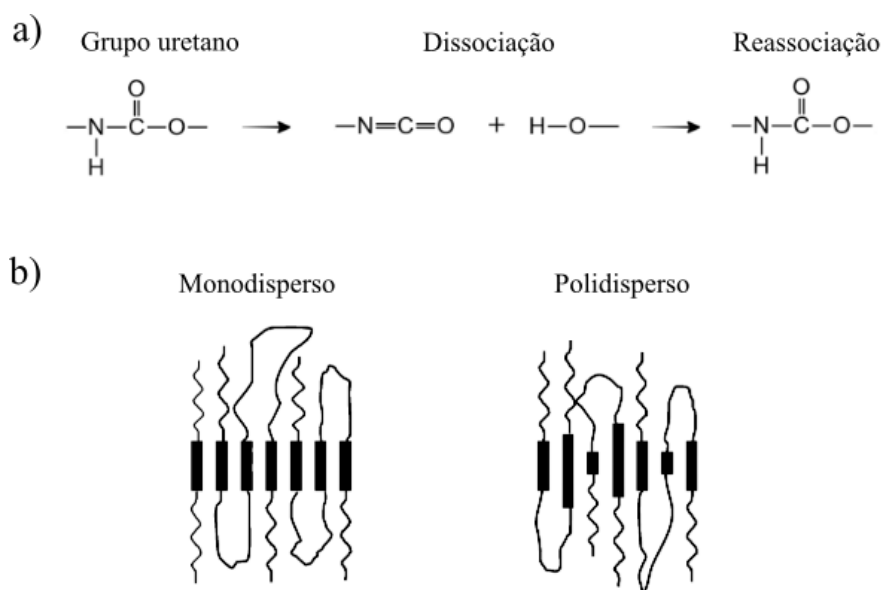


Figura 5.2 – Dissociação e reassociação das ligações uretanos em temperaturas acima da estabilidade (a), como resultado deste processo tem-se um sistema monodisperso se transformando em polidisperso (b).

Nas curvas de resfriamento (Figura 5.3), observa-se que as amostras processadas apresentaram uma antecipação do início da cristalização dos SR quando comparado com o TPU-R. A T_c das amostras TPU-RP, TPU-H e TPU-HP se deslocou de 97,2 °C (valor do TPU-R), para 105, 126,4 e 128,1 °C, respectivamente. Estes resultados mostram que vários SR com determinadas unidades de repetição se cristalizaram muito mais rápido em temperaturas mais altas, o que está associado as cadeias de SR estarem amplamente distribuídas em relação a seus tamanhos, e isso pode ter facilitado a mobilidade das cadeias proporcionando a cristalização em temperatura mais alta com domínios rígidos mais compactados, em comparação com o TPU-R. O mesmo efeito do processamento por fusão nas curvas de DSC do TPU apresentadas também foi observado por Hossieny *et al.* [93].

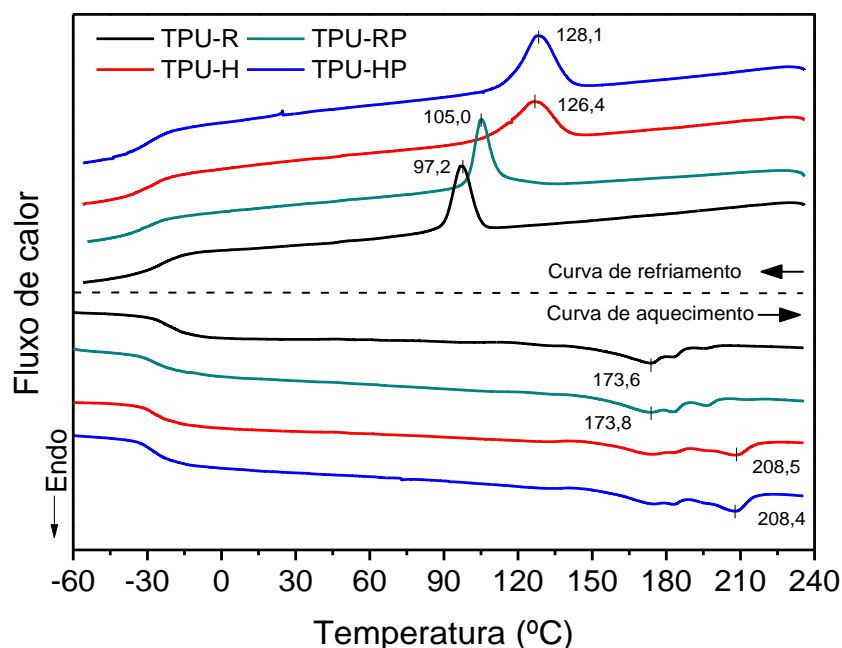


Figura 5.3 – Curvas da varredura de resfriamento e do segundo aquecimento da análise de DSC para as amostras de TPU-R, TPU-RP, TPU-H e TPU-HP.

Ainda nas curvas de resfriamento da Figura 5.3, observa-se também que o TPU-H apresentou o pico de cristalização mais largo que as demais amostras, onde o intervalo entre a temperatura inicial e final de cristalização foi de 31 °C. Como comparativo, o TPU-R e TPU-RP apresentaram um intervalo de aproximadamente 15 °C. Quando o TPU é processado via Haake e prensado a 210 °C (amostra TPU-HP) o pico de cristalização ainda se mantém largo (intervalo de 27 °C), porém se apresenta um pouco mais acentuado quando comparado com TPU-H, que foi submetido somente ao processamento no Haake. As observações descritas para a varredura de resfriamento indicam que durante o segundo aquecimento, as amostras processadas apresentaram maior T_m e uma distribuição muito mais ampla de domínios cristalinos rígidos a serem fundidos, em relação ao TPU-R. E essas indicações estão em consonância com os resultados mostrados pelas curvas da segunda varredura de aquecimento (Figura 5.3). O TPU-R e o TPU-RP apresentaram comportamento semelhante, exceto para a endoterma em 198 °C que demonstrou maior definição no TPU-

RP. O TPU-H e o TPU-HP também obtiveram comportamentos semelhantes e as maiores endotermas ocorreram em T_m próxima de 210 °C.

Ressalta-se que o processo de transuretização que ocorre durante o processamento por fusão, além de afetar o comprimento dos SR também ocasiona mudanças na massa molar, que dependendo da taxa de resfriamento pode trazer pequenas ou grandes variações. Ademais, qualquer tratamento térmico no TPU-H, pode alterar significativamente tanto a sua temperatura de estabilidade térmica, quanto a viscosidade, o comportamento de cristalização e até mesmo as propriedades mecânicas [98].

5.2 Caracterização dos biocompósitos produzidos via misturador interno e prensagem uniaxial

- Processamento no misturador interno

A produção de biocompósitos de TPU, PCL e blendas de TPU/PCL com diferentes teores de HA foi realizada e investigada usando um reômetro de torque. A Figura 5.4 apresenta as curvas de torque *versus* o tempo para todas as formulações da Tabela 4.1.

O TPU (Figura 5.4(a)) apresenta fusão completa somente após os 4 min de mistura e o torque de equilíbrio ao final de 5 min foi de 5,9 N.m. Diferentemente do TPU, o PCL funde completamente em menos de um 1 minuto e o torque de equilíbrio ocorre a partir de 2,5 min, sendo este de 1 N.m. As blendas apresentaram comportamento intermediário entre o observado para o TPU e para o PCL. O torque de equilíbrio para as blendas 75T25P, 50T50P e 25T75P foi de 4,0, 2,5 e 1,4 N.m, respectivamente. A redução em porcentagem do torque de equilíbrio das blendas em relação ao TPU, à medida que se aumentou a fração do PCL, foi de 30, 55 e 76%, ou seja, quase proporcional a fração em massa do PCL que compõe a blenda. Para a formulação 25T75P, a rápida fusão do PCL pode não ter gerado cisalhamento suficiente para fragmentar as partículas de TPU e, portanto, as mesmas se mantiveram sem alterações.

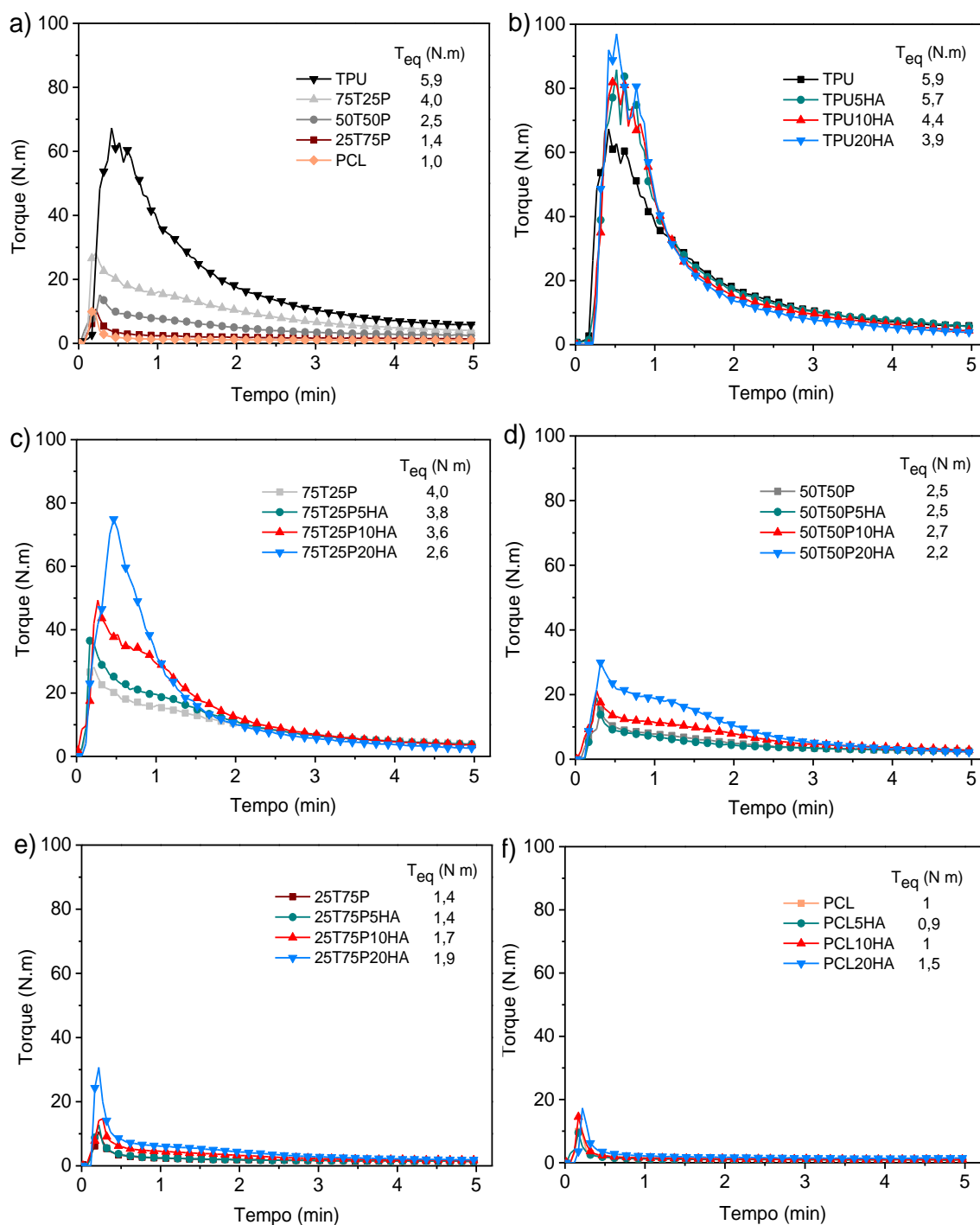


Figura 5.4 – Variação do torque em função do tempo de mistura para (a) TPU, PCL e suas blendas, e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de (b) TPU, (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.

Nos compósitos com matriz de TPU (Figura 5.4(b)) a adição de HA aumentou os valores de torque máximo, principalmente no biocompósito TPU20HA, e causou uma ligeira diminuição no torque de equilíbrio, sendo que

maiores teores de HA resultaram em menores torque de equilíbrio. Essa redução sugere que a HA catalisa reações de degradação na matriz de TPU, e essas reações se intensificam com o aumento do teor da carga, dado que a maior quantidade de carga ocasiona maior atrito, gera maior torque que pode causar maior aquecimento viscoso podendo contribuir com a cisão termo-oxidativa do TPU. Para o biocompósito de TPU20HA a redução do torque em relação ao TPU puro foi de 44%.

Nos compósitos com 75T25P o efeito da HA no torque de equilíbrio foi semelhante ao observado para os compósitos de TPU. Já para os obtidos com a matriz 50T50P com 5 e 10% de carga, o valor do torque de equilíbrio foi, praticamente, o mesmo para a blenda. Este comportamento pode ser atribuído a maior fração do PCL, pois possivelmente uma parte da HA tende a migrar no início da mistura para este, dado que o mesmo funde primeiro, assim haverá uma redução da quantidade de HA diretamente no TPU no início da mistura e como a HA estar misturado com material já fundido, o coeficiente de atrito é diferente (menor), o que ocasiona menos aquecimento viscoso e pode impactar menos na degradação. Para o teor de 20% da carga, observa-se uma pequena redução do torque de equilíbrio devido ao elevado teor de HA incorporado (Figura 5.4(d)). Também nota-se uma tendência na redução do torque à medida que a mistura prossegue, o que evidencia reações de termodegradação.

Com relação a blenda 25T75P, o PCL e os compósitos 25T75P5HA, PCL5HA, PCL10HA e PCL20HA (Figura 5.4(e),(f)) o comportamento foi o mesmo, as amostras fundem completamente em menos de 1 min e o torque de equilíbrio ocorre a partir de 1,5 min, sendo este situado em 1,4 N.m para a blenda e o 25T75P5HA, e 1 N.m para o PCL e seus compósitos. Já para as formulações 25T75P10HA, 25T75P20HA e PCL20HA o valor do torque de equilíbrio aumentou em relação as outras formulações, sendo respectivamente 1,7, 1,9 e 1,5 N.m. Comportamento semelhante foi observado por Backes *et al.* [31] ao estudarem a processabilidade dos compósitos de PCL/HA por reômetria de torque, em seus resultados notaram que níveis elevados de HA afetam significativamente a dinâmica de emaranhamento, atuando como outra restrição para o movimento das cadeias poliméricas. Nas amostras 25T75P10HA e

25T75P20HA o teor da HA pode ter ocasionado cisalhamento suficiente para que houvesse a dispersão da fração de TPU da blenda, dado que o torque entre 0,5 e 2,5 min foi consideravelmente mais alto que a blenda 25T75P e seu biocompósito 25T75P5HA, e PCL20HA.

Na matriz de PCL e biocompósitos, foi observado que a matriz de PCL apresenta aparentemente menor susceptibilidade a degradação, em comparação com o TPU, de modo que até um valor de 10% em massa de HA não ocorre variação significativa do torque ao final de 5 min e para 20 % em massa de HA este se eleva em aproximadamente 50% (Figura 5.4(f)), evidenciando a capacidade do PCL em colaborar com a menor degradação da matriz TPU durante o processamento. Ressalta-se que embora as curvas de torque *versus* tempos não indiquem degradação dos biocompósitos PCL/HA, esta pode ocorrer para teores maiores da carga, conforme evidenciado por Backes *et al.* [31] por meio da análise de cromatografia de permeação em gel em biocompósitos de PCL/HA processados via reômetria de torque. Porém a degradação observada pelos autores na matriz polimérica com adição da HA não afetou significativamente as propriedades mecânicas dos biocompósitos a ponto de impedir sua utilização.

- Caracterização reológica

As curvas de viscosidade *versus* taxa de cisalhamento para o TPU, PCL, blendas TPU/PCL e seus respectivos biocompósitos com HA, processados via misturador interno e prensados a 210 °C são apresentadas na Figura 5.5.

Observa-se na Figura 5.5(a) que o PCL apresenta um comportamento reológico típico de materiais termoplásticos, ou seja, um platô Newtoniano a baixas taxas de cisalhamento e um comportamento pseudoplástico a taxas mais elevadas [13,31,99]. Já o TPU, por possuir uma composição e estrutura complexa com SR e SF, apresenta influência no comportamento reológico destoando-se do comportamento típico. A viscosidade do TPU a uma taxa de cisalhamento de $0,01 \text{ s}^{-1}$ é cerca de 3 ordens de grandeza maior que a do PCL. O alto valor de viscosidade do TPU está relacionado provavelmente a massa

molar e a presença de SR que formam um ancoramento molecular entre as cadeias poliméricas, dificultando a movimentação das mesmas.

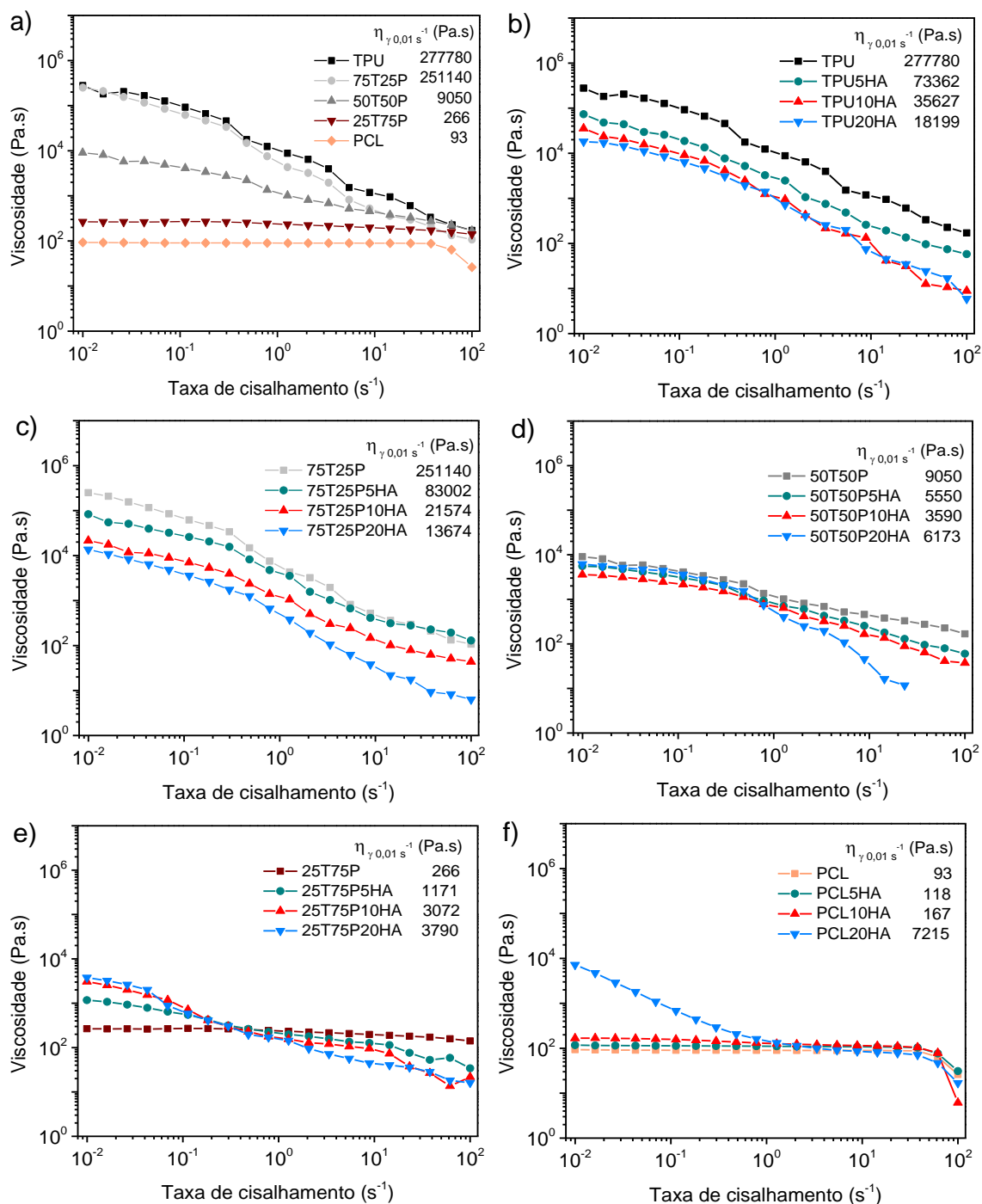


Figura 5.5 – Curvas de viscosidade *versus* taxa de cisalhamento para (a) TPU, PCL e suas blends, e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.

Vale ressaltar que as curvas reológicas foram obtidas na temperatura de 210 °C, e a baixa viscosidade do PCL apresentada é resultado da dependência da viscosidade com a temperatura, que segue a equação de Arrhenius, para maiores temperaturas de ensaio ocorre uma redução na linha de base da curva de viscosidade *versus* taxa de cisalhamento. Em termos moleculares, o aumento da temperatura proporciona um aumento do volume livre, facilitando assim a movimentação das cadeias poliméricas. O aumento da temperatura também eleva a vibração molecular e a probabilidade de contatos intermoleculares, conseqüentemente, as velocidades de emaranhamento e desemaranhamento tornam-se similares por mais tempo, o que fortalece e estende o platô Newtoniano observado para regiões de baixa taxa de cisalhamento [99]. Isso se torna claramente visível para o PCL, quando comparado a extensão do platô Newtoniano observado neste trabalho, que vai até a taxa de cisalhamento de 35 s⁻¹, com os obtidos por Beatrice *et al.* [13], Backes *et al.* [31], Huang e Bártolo [99], que chegam aproximadamente a uma taxa de 10 s⁻¹, isso para uma temperatura de ensaio reológico igual ou inferior a 120 °C.

Ademais, não se desconsidera a contribuição de prováveis reações de termodegradação do PCL no baixo valor de viscosidade apresentado por este, dado que o processamento no misturador interno envolve um nível significativo de cisalhamento, que aliado com o tempo de residência do polímero tanto no misturador quanto na prensa para conformação dos corpos de prova e a temperatura utilizada, podem ter desencadeado reações de degradação.

Ainda na Figura 5.5(a) a blenda 75T25P exibiu comportamento similar e valor de viscosidade a uma taxa de cisalhamento de 0,01 s⁻¹ comparável ao TPU. As blendas 50T50P e 25T75P apresentam comportamento reológico intermediário ao observado para os dois polímeros.

No que se refere ao efeito do conteúdo de HA (em proporções de 5, 10 e 20%) no comportamento reológico dos biocompósitos obtidos com o TPU e com a blenda 75T25P, a adição da carga causou uma ligeira redução da viscosidade em relação aos materiais puros, de modo que na taxa de cisalhamento de 0,01 s⁻¹ a redução em relação ao TPU foi de 68, 84 e 92%, já em relação a blenda 75T25P foi de 67, 91 e 95%, respectivamente. Isso sugere novamente que a

termodegradação durante o processamento destes compósitos, foi intensificada pela adição de HA, que segundo Ignjatovic *et al.* [100] os grupos hidroxila (-OH) da mesma aceleram a termodegradação de compósitos em altas temperaturas. Outros estudos também notaram que a HA, que é o principal componente do osso e que foi escolhido para este estudo em razão da sua natureza bioativa, quando em uma mistura fundida de poliéster pode vir a acelerar a degradação da cadeia polimérica [31,47].

Nos compósitos a partir da blenda 50T50P, a HA também causou uma redução na viscosidade em relação a blenda. Destaca-se aqui o compósito com 20% em massa de HA (50T50P20HA) que apresentou, em taxas de cisalhamento menores que 1 s^{-1} , uma redução da viscosidade menos pronunciada quando comparado com os compósitos com 5 e 10% em massa da carga. Uma possível explicação para isso é que o alto conteúdo de HA proporciona um aumento da área de superfície para interações entre as partículas de HA e as cadeias poliméricas do PCL. Outro ponto importante que pode estar contribuindo é o aumento das interações partícula-partícula também na fração do PCL. Estes dois pontos levantados apenas para o PCL têm em vista que o mesmo resultado não foi observado para os compósitos com o TPU e com a blenda 75T25P (baixa fração de PCL) e que o comportamento reológico de aumento de viscosidade com o teor de HA para baixas taxas de cisalhamento também é observado nos compósitos com a blenda 25T75P (Figura 5.5(e)) e com o PCL (Figura 5.5(f)). Tais pontos mencionados acima são observados nos trabalhos de Beatrice *et al.* [13], Backes *et al.* [31], Huang e Bártolo [99] em compósitos de PCL com as cargas de HA ou TCP.

Para taxas de cisalhamento maiores que $0,1 \text{ s}^{-1}$ nos biocompósitos da blenda 25T75P com 5, 10 e 20% em massa de HA e maiores que 1 s^{-1} para o 50T50P20HA, a viscosidade decresce rapidamente com o acréscimo do cisalhamento. Isso provavelmente porque à medida que a taxa de cisalhamento aumenta, o desemaranhamento das cadeias poliméricas [99] e/ou a quebra das ligações das mesmas, proporcionada pelos grupos hidroxila (-OH) da HA [100], prevalecem sobre o efeito da interação do material; conseqüentemente, tem-se a redução acentuada da viscosidade. Para os biocompósitos PCL/HA (Figura

5.5(f)), não foram observadas diferenças significativas entre as diferentes concentrações de HA em termos de viscosidade para as taxas de cisalhamentos acima de 1 s^{-1} , apesar do biocompósito PCL20HA apresentar comportamento típico de lei das potências em menores taxas de cisalhamento.

- Caracterização Térmica

A Figura 5.6 apresenta as curvas de perda de massa em função da temperatura obtidas por TGA para o TPU, PCL, blendas TPU/PCL e seus respectivos compósitos com HA. As características analisadas nas curvas foram a temperatura de início de degradação térmica (T_{onset}), a(s) temperatura(s) na qual há máxima variação de massa do material (T_{pico}) obtida pela derivada da curva de TGA (DTG), ilustradas no APÊNDICE A deste trabalho, e o resíduo do material a temperatura final de análise, neste caso $800 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Tais resultados estão apresentados na Tabela 5.1.

Na Figura 5.6(a) e na DTG (Figura A.1 do APÊNDICE A), observa-se que o TPU apresenta comportamento de decomposição térmica em duas etapas, com T_{pico} da primeira em $338 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e da segunda em $420 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Segundo Datta e Kasprzyk [20] é comum que TPUs a base de poliéster apresentem comportamento de decomposição em duas etapas, sendo a primeira iniciando em aproximadamente $290 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e referente a quebra dos grupos uretanos e, na segunda relativo a decomposição dos SF com a cisão aleatória das ligações éster em torno de $370 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Logo, picos de DTG nas faixas de temperatura em torno de $270 - 370 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $370 - 440 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em TPUs de base poliéster são atribuídos a degradação térmica dos grupos uretanos e éster (presente na estrutura do polioliol), respectivamente.

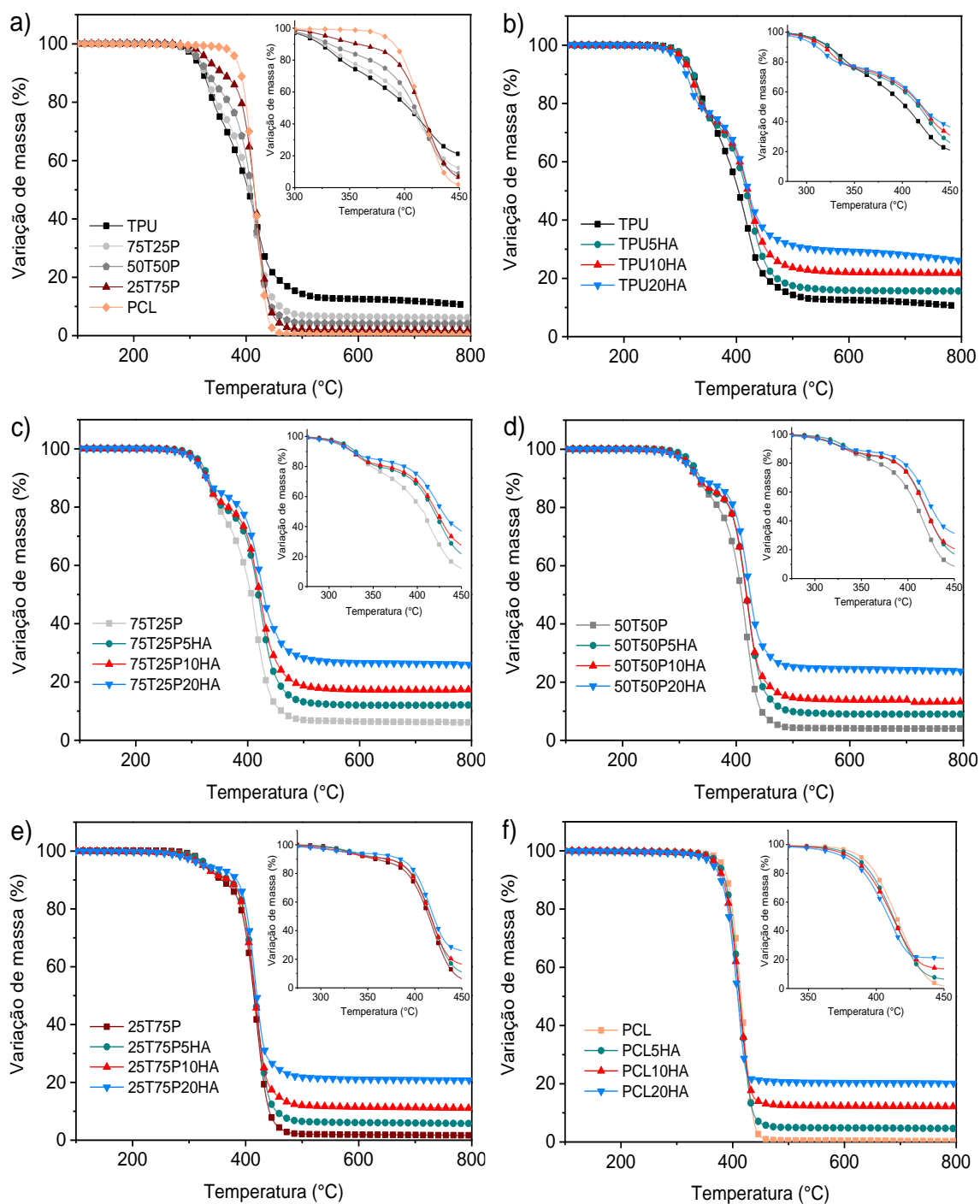


Figura 5.6 – Curvas de TGA para o (a) TPU, PCL e suas blendas e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.

Ainda na Figura 5.6(a) é possível notar que o TPU apresenta menor estabilidade térmica ($T_{onset} = 308\text{ }^{\circ}\text{C}$) do que o PCL ($T_{onset} = 393\text{ }^{\circ}\text{C}$). Além disso, o PCL apresenta comportamento de degradação térmica em uma única etapa e

bem mais acentuada que o restante das composições, sua T_{pico} (418 °C) e esta é bem próxima da segunda T_{pico} do TPU nas blendas, deste modo não foi possível distinguir estas duas temperaturas. Os valores de T_{onset} e T_{pico} do PCL encontrados neste trabalho são idênticos aos valores observados no estudo de Beatrice *et al.* [13] com o mesmo *grade* de PCL, porém processado em temperatura de 140 °C, e isto mostra que embora o PCL tenha sido processado neste trabalho a temperatura 210 °C sua estabilidade térmica não foi alterada. Para as blendas a T_{onset} não sofreu alterações com as diferentes proporções dos componentes, mas a temperatura do primeiro pico de degradação da fração de TPU apresentou pequenas alterações com as diferentes proporções.

Com relação ao efeito da HA nas propriedades térmicas das matrizes poliméricas, a adição de 5 e 10% em massa da carga não resultaram em alterações expressivas na T_{onset} para todas as matrizes, e a variação dos valores foram de no máximo 6 °C, excetuando-se a formulação 25T75P10HA. Para esta e para as formulações com 20% houve uma redução maior na T_{onset} , conforme resultados da Tabela 5.1. Para a primeira T_{pico} do TPU, a qual está relacionada a degradação térmica dos grupos uretanos, houve redução à medida que o teor de HA ultrapassou os 5%, sendo essa redução maior para teores com 20% e nas matrizes de TPU e 75T25P e 25T75P. Esse resultado advém da hidrofiliabilidade da HA e dos seus grupos hidroxila (-OH) [100], que associado ao nível significativo de cisalhamento imposto pelo misturador interno, tempo de residência neste e na prensa e, a instabilidade das ligações uretano em alta temperatura, podem acelerar a termodegradação dos biocompósitos levando a clivagem das ligações, o que leva a uma leve redução da termoestabilidade das matrizes. Na segunda T_{pico} não foram observadas alterações que ultrapassassem uma variação de 7 °C entre a temperatura dos compósitos e suas matrizes.

Adicionalmente, nos biocompósitos com a matriz de 25T75P foi observado a maior redução na T_{onset} quando comparado com as demais formulações. Esse resultado pode ser atribuído ao cisalhamento imposto na misturador interno, dado que o PCL fundiu em menos de 1 minuto e a presença da HA em teores de 10 e 20% podem ter proporcionado um cisalhamento maior

na baixa fração do TPU (25%) da blenda, conseqüentemente, intensificado a termodegradação.

Tabela 5.1 – Resultados do TGA para o TPU, PCL, Blendas TPU/PCL e os respectivos compósitos destes com HA.

Amostras	T_{onset} (°C)	1ª T_{pico} (°C)	2ª T_{pico} (°C)	Resíduo (%)	Estimativa da HA nas matrizes (%)
TPU	308	338	421	11	-
TPU5HA	312	332	427	16	5
TPU10HA	304	325	424	22	11
TPU20HA	295	318	419	26	15
75T25P	308	332	411	6	-
75T25P5HA	312	335	425	12	6
75T25P10HA	306	330	425	17	11
75T25P20HA	297	324	424	26	20
50T50P	307	329	417	4	-
50T50P5HA	311	335	421	9	5
50T50P10HA	301	329	419	13	9
50T50P20HA	299	329	421	24	20
25T75P	308	330	419	2	-
25T75P5HA	308	343	419	6	4
25T75P10HA	295	328	418	11	9
25T75P20HA	279	314	417	21	19
PCL	393	-	418	0	-
PCL5HA	390	-	414	5	5
PCL10HA	387	-	412	12	12
PCL20HA	385	-	412	20	20

A respeito do resíduo, observa-se na Tabela 5.1 que o TPU apresenta maior quantidade de resíduo ao final do processo, enquanto que o PCL foi decomposto quase que totalmente. A alta porcentagem da massa residual do TPU está associada a degradação dos SR que contém quantidade significativa de anéis aromáticos [101], e que durante a análise termogravimétrica sob atmosfera de nitrogênio promove a formação de resíduo rico em carbono. A avaliação do resíduo nos biocompósitos após as amostras estarem completamente decompostas, permite inferir sobre a capacidade de incorporação da HA pelas matrizes poliméricas. Após a correção com o resíduo das matrizes poliméricas, os valores de HA obtidos nos compósitos apresentaram-se próximos das composições nominais propostas, excetuando-

se a formulação de TPU20HA onde o teor apresentado foi de 15% enquanto o esperado era de 20%. Este resultado pode ser devido a formação de aglomerados de HA que não foram incorporados pela matriz de TPU, e isto só ocorreu para altos teores, como o de 20% em massa de HA.

A fim de se verificar o comportamento das blendas e a influência da adição da biocarga nas temperaturas características das matrizes de TPU, PCL e blendas, realizou-se o ensaio de DSC. A Figura 5.7 apresenta os termogramas das composições durante a primeira varredura de aquecimento e a Tabela 5.2 exhibe os valores das temperaturas de fusão cristalina e o grau de cristalinidade do PCL. Deve-se ressaltar que a T_m para o TPU foi considerada na maior endoterma de fusão apresentada.

Observa-se na Figura 5.7(a) e nos dados da Tabela 5.2 que as blendas exibem características de comportamento térmico do TPU e do PCL, e que a T_m de ambos não sofreu alterações significativas com as diferentes proporções dos polímeros, de modo que a mesma se situa entre 200 – 203 °C e 61 - 63 °C, respectivamente para o TPU e o PCL. Esses resultados evidenciam a imiscibilidade entre os componentes e comportamento semelhante foi obtido nos trabalhos de Xu *et al.* [77], Mostafavi e Ebrahimi [21], Bhattacharya *et al.* [22] e Qi *et al.*[102]. No que se refere a cristalinidade do PCL nas blendas, se mostraram semelhantes ao X_c do PCL puro.

Nos biocompósitos a partir da matriz de TPU (Figura 5.7(b)) a adição de HA proporcionou um leve aumento da T_m , saindo de 202 °C do TPU puro para 209 °C com a adição de 20% em massa de HA, porém a adição da carga também deslocou o início da fusão da maior endoterma dos biocompósitos para temperaturas mais baixas, e essa redução foi mais intensificada com o aumento do teor de HA. Para teores de até 10% em massa de HA houve um aumento do último pico de fusão, porém, com 20% da carga este pico mencionado não é observado e a temperatura final de fusão é reduzida.

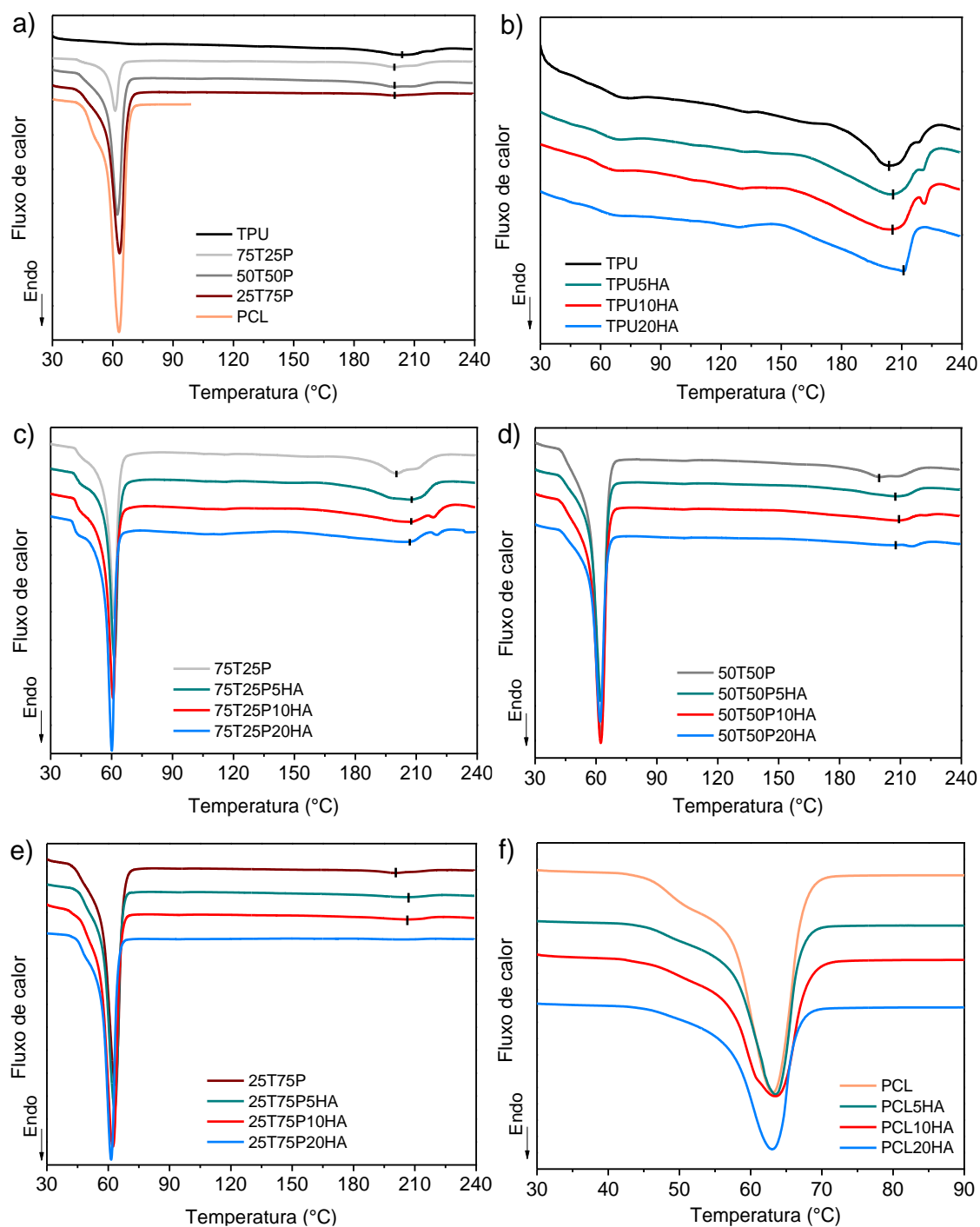


Figura 5.7 – Curvas da primeira varredura de aquecimento do ensaio de DSC das amostras estudadas, em (a) TPU PCL e suas blendas, e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.

Para os compósitos obtidos a partir das blendas (Figura 5.7(c),(d),(e)) a T_m do TPU também apresentou leve aumento com adição de HA conforme

resultados da Tabela 5.2, e a temperatura inicial de fusão também foi deslocada para temperaturas mais baixas com teores maiores da carga. Em relação a T_m do PCL para estes biocompósitos, praticamente, não foi alterada com a adição de HA, o mesmo resultado foi observado para os compósitos de PCL (Figura 5.7(f)). Com relação a cristalinidade do PCL, é possível notar que a presença de diferentes quantidades de HA não modificou de maneira significativa a cristalização global do mesmo.

Tabela 5.2 – Resultados de DSC para as formulações durante a primeira varredura de aquecimento.

Amostras	TPU	PCL	
	T_m (°C)	T_m (°C)	X_c (%)
TPU	202 ± 1	-	-
TPU5HA	206 ± 1	-	-
TPU10HA	205 ± 1	-	-
TPU20HA	209 ± 2	-	-
75T25P	200 ± 0*	61 ± 0*	53 ± 3
75T25P5HA	207 ± 0*	62 ± 0*	52 ± 1
75T25P10HA	208 ± 1	61 ± 1	55 ± 1
75T25P20HA	206 ± 1	61 ± 1	61 ± 1
50T50P	200 ± 0*	62 ± 1	56 ± 1
50T50P5HA	207 ± 1	62 ± 1	56 ± 0*
50T50P10HA	209 ± 1	62 ± 0*	57 ± 1
50T50P20HA	207 ± 1	62 ± 0*	55 ± 1
25T75P	200 ± 0*	63 ± 1	56 ± 0*
25T75P5HA	206 ± 1	63 ± 1	58 ± 3
25T75P10HA	207 ± 1	62 ± 0*	57 ± 0*
25T75P20HA	-	62 ± 0*	59 ± 0*
PCL	-	62 ± 1	58 ± 3
PCL5HA	-	63 ± 1	57 ± 4
PCL10HA	-	64 ± 0*	53 ± 2
PCL20HA	-	62 ± 1	58 ± 2

Onde: * São valores de desvio padrão menores que 0,5 e onde o arredondamento tende a 0.

As curvas da varredura de resfriamento e do segundo aquecimento das amostras estão apresentadas na Figura 5.8 e os resultados extraídos destas são exibidos na Tabela 5.3. Assim como discorrido no primeiro aquecimento para as blendas, a T_m tanto do TPU quando do PCL na segunda varredura de

aquecimento também pouco foi afetada com as diferentes proporções dos componentes, o mesmo comportamento foi observado para T_g do TPU e a T_c de ambos, sendo que a variação máxima dos valores destas temperaturas características nas blendas em relação aos polímeros puros foi de 3 °C. Excetuando-se a amostra 25T75P, onde não foi possível determinar as temperaturas características de cada um dos polímeros constituintes da blenda.

Com relação a influência da HA nas temperaturas características do TPU e do PCL nos biocompósitos, observa-se na Figura 5.8(b),(c),(d) que a adição da mesma resultou em redução expressiva da T_m do TPU, variando de aproximadamente 208 °C sem carga para cerca de 186 °C com 20% em massa de HA. Esses resultados mostram que a HA (em teor de 20%) atua dificultando a reassociação da ligação uretano, assim o tamanho dos SR tendeu a reduzir e, portanto, as endotermas de fusão foram deslocadas para temperaturas mais baixas. A T_c destes também foi influenciada com o teor da carga, a mesma deslocou-se para temperaturas mais altas com adição de HA, indicando que a carga induziu a cristalização dos SR por serem menores. Entre os diferentes teores de HA, os valores da T_c nos compósitos da matriz de TPU não apresentaram mudança para 5 e 10% em massa de HA, já para os produzidos com a blenda 75T25P a T_c aumentou com o acréscimo da carga e nos compósitos com 50T50P não houveram mudanças para 10 e 20% em massa. No que se refere a T_g sutis alterações foram observadas.

No caso da T_m e T_c do PCL (Figura 5.8(c),(d),(e),(f)) a adição da carga, praticamente, não resultou em alterações destas temperaturas. Quanto ao índice de cristalinidade, pouco foi alterado tanto com a adição da carga quanto com as diferentes proporções dos componentes da blenda.

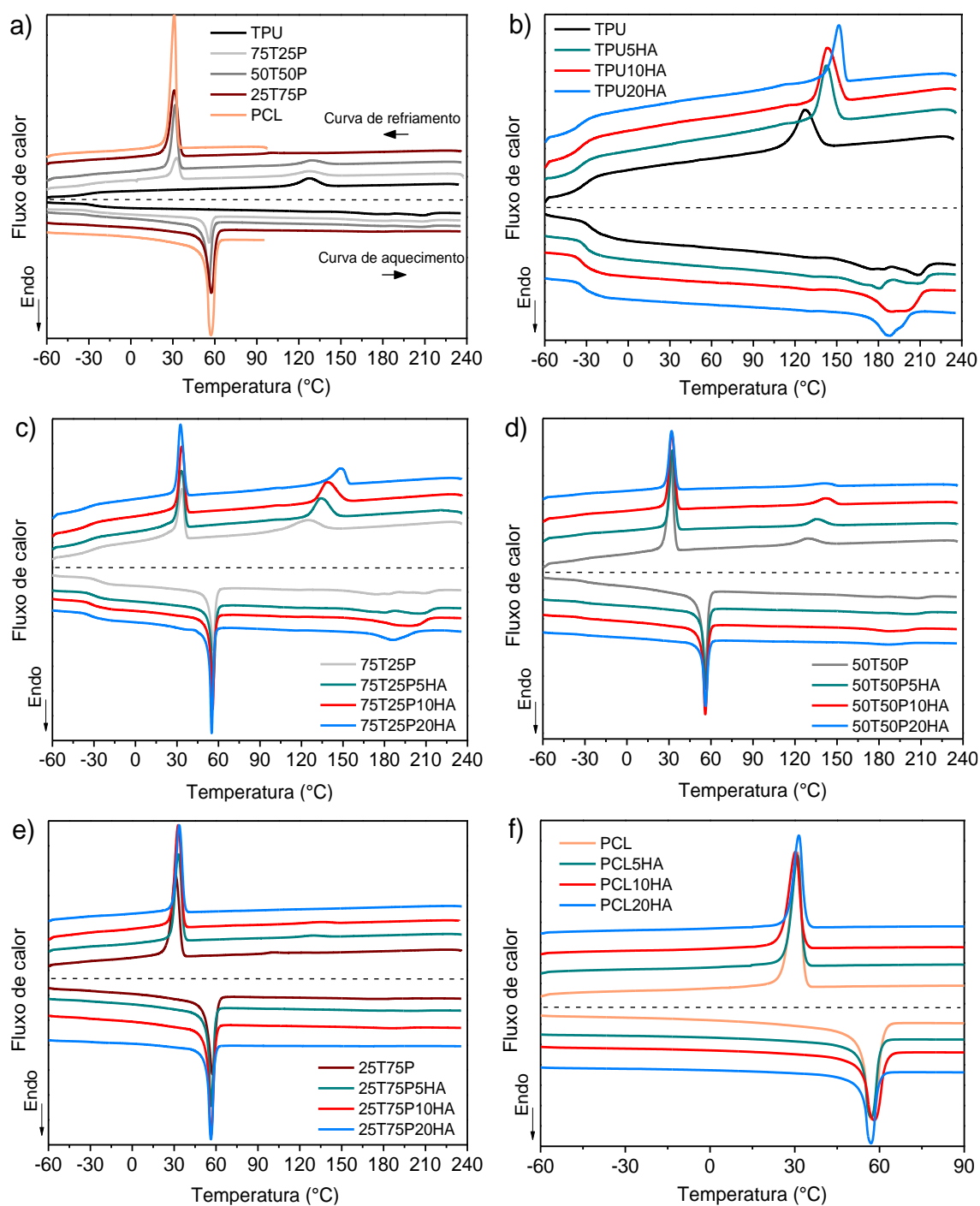


Figura 5.8 – Curvas de resfriamento e do segundo aquecimento do ensaio de DSC para: (a) TPU, PCL e suas blends e os biocompósitos com 5, 10 e 20% de HA a partir de b) TPU (c) 75T25P, (d) 50T50P, (e) 25T75P e (f) PCL.

Tabela 5.3 – Resultados de DSC obtidos para as formulações a partir das varreduras de resfriamento e segundo aquecimento.

Amostras	TPU			PCL		
	T _g (°C)	T _m (°C)	T _c (°C)	T _m (°C)	T _c (°C)	X _c (%)
TPU	-28 ± 0*	208 ± 0*	127 ± 1	-	-	-
TPU5HA	-31 ± 1	180 ± 1	143 ± 1	-	-	-
TPU10HA	-32 ± 2	190 ± 0*	143 ± 0*	-	-	-
TPU20HA	-33 ± 2	187 ± 1	151 ± 0*	-	-	-
75T25P	-27 ± 2	208 ± 1	126 ± 2	56 ± 0*	33 ± 1	34 ± 2
75T25P5HA	-32 ± 2	206 ± 1	133 ± 1	56 ± 0*	33 ± 0*	36 ± 0*
75T25P10HA	-32 ± 0*	197 ± 2	138 ± 0*	56 ± 0*	33 ± 1	37 ± 1
75T25P20HA	-34 ± 0*	185 ± 1	148 ± 1	55 ± 0*	32 ± 0*	40 ± 0*
50T50P	-30 ± 0*	206 ± 0*	129 ± 0*	56 ± 0*	32 ± 0*	39 ± 1
50T50P5HA	-31 ± 1	201 ± 0*	134 ± 1	56 ± 0*	32 ± 0*	38 ± 2
50T50P10HA	-32 ± 1	187 ± 1	142 ± 1	56 ± 0*	32 ± 0*	38 ± 2
50T50P20HA	-32 ± 0*	186 ± 0*	142 ± 1	56 ± 1	32 ± 0*	38 ± 2
25T75P	-	-	-	57 ± 0*	32 ± 1	37 ± 1
25T75P5HA	-	-	-	57 ± 0*	33 ± 0*	40 ± 2
25T75P10HA	-	-	-	57 ± 0*	33 ± 0*	42 ± 1
25T75P20HA	-	-	-	56 ± 0*	34 ± 0*	41 ± 0*
PCL	-	-	-	57 ± 0*	31 ± 0*	39 ± 1
PCL5HA	-	-	-	57 ± 0*	31 ± 0*	38 ± 1
PCL10HA	-	-	-	59 ± 0*	30 ± 0*	36 ± 1
PCL20HA	-	-	-	57 ± 0*	31 ± 0*	40 ± 0*

Onde: * são valores de desvio padrão menores que 0,5 e onde o arredondamento tende a 0.

- Caracterização Mecânica

O uso de biocompósitos de TPU/HA e de TPU/PCL/HA como biomaterial requer sua caracterização mecânica para avaliação de sua aplicabilidade, dado que os materiais devem ter propriedades mecânicas o mais semelhante possível ao do tecido nativo. Como as amostras neste trabalho tem como objetivo inicial a aplicação em enxertos ósseos, as mesmas foram testadas sob carga de compressão, a qual simula algumas das condições impostas pelo organismo durante o uso. Ressalta-se que as propriedades mecânicas do osso variam significativamente com a idade, localização anatômica e qualidade óssea [40]. A Tabela 5.4 apresenta o módulo elástico para as formulações, calculado a partir das curvas de tensão *versus* deformação obtidas no ensaio de compressão (Figura B.1 do APÊNDICE B).

Tabela 5.4 – Resultados do módulo elástico obtido a partir do ensaio de compressão para as formulações e análise estatística destes valores.

Amostras	Módulo elástico (MPa) (7 – 10%)	Significância
TPU	48,4 ± 0,8	
TPU5HA	55,9 ± 1,6	***
TPU10HA	60 ± 1,8	***
TPU20HA	54,9 ± 0,7	***
75T25P	57,4 ± 0,7	***
75T25P5HA	68,4 ± 0,6	***
75T25P10HA	74,3 ± 3,8	***
75T25P20HA	80,7 ± 3,5	***
50T50P	78,6 ± 2,6	***
50T50P5HA	85,7 ± 0,7	***
50T50P10HA	90,8 ± 1	***
50T50P20HA	98,2 ± 0,5	***
25T75P	83,4 ± 3,8	***
25T75P5HA	100,2 ± 2,5	***
25T75P10HA	111,3 ± 2,9	***
25T75P20HA	113,2 ± 7,3	***
PCL	92,1 ± 4,4	**
PCL5HA	108,2 ± 4,4	**
PCL10HA	99,1 ± 7,2	*
PCL20HA	104,5 ± 5,2	*

Onde: * representa nível de significância $p < (0,01)$, ** $p < (0,001)$, *** $p < (0,0001)$

Em relação as matrizes poliméricas, o TPU apresentou o menor módulo elástico, em média de 48,4 MPa, seguido das blendas 75T25P com 57,4 MPa, 50T50P com 78,6 MPa, 25T75P com 83,4 MPa e o PCL apresentando o maior valor de módulo, sendo 92,1 MPa. As amostras foram analisadas usando uma célula de carga de 500 N e não fraturaram na carga máxima. Os resultados estatísticos mostraram que as blendas apresentaram melhoras significativas do módulo em relação ao TPU ($p < 0,001$). Os valores de módulo mostram que o aumento da concentração de PCL nas blendas resulta em aumento do módulo elástico, comportamento semelhante foi obtido por Qi *et al.* [102] e também observado na rigidez e resistência à tração das blendas TPU/PCL [22,23,103], isto é facilmente compreensível tendo em vista que os TPUs são em geral

flexíveis e o PCL possui uma estrutura cristalizável, conseqüentemente, quando em misturas com TPU proporciona maior rigidez a matriz.

Os compósitos de TPU com diferentes teores de HA apresentaram aumento significativo no módulo quando comparado com a matriz de TPU, especialmente nos compósitos com 5 e 10% em massa de HA. No entanto, com 20% de HA o valor observado na Tabela 5.4 é comparável com a amostra TPU5HA, não havendo ação de reforço com quantidade maior de carga. Uma explicação plausível para isso é que a maior concentração de HA intensificou a degradação térmica durante o processamento dos biocompósitos, assim como indicado pela reômetria de torque, pelas curvas reológicas e na análise térmica, conseqüentemente, prejudicando o efeito de reforço. Outro ponto importante para este resultado é a distribuição da HA na matriz de TPU, onde observou-se no compósito TPU20HA, logo após processamento no misturador interno, a baixa capacidade do TPU em recobrir todo o teor de HA, sendo notável a olho nu alguns aglomerados de partículas.

Com relação aos compósitos obtidos com as blendas 75T25P, 50T50P e 25T75P a adição da HA causou melhora significativa no módulo elástico quando comparado com o valor da respectiva blenda utilizada como matriz. Houve também melhora significativa do módulo com o aumento do teor de HA em todas as matrizes, excetuando-se os compósitos de 75T25P20HA e 25T75P20HA, que embora apresentem uma leve tendência de melhora do módulo, não possuem diferença estatística significativa com os compósitos de 75T25P10HA e 25T75P10HA, respectivamente. A capacidade de reforço da HA em matrizes de TPU e de PCL já foi relatado em muitos trabalhos [14,19,31,65], no entanto a termodegradação intensificada com a presença da mesma pode prejudicar o efeito de reforço, principalmente em maiores concentrações como nestes casos. O módulo de compressão dos compósitos com a blenda 50T50P tende a aumentar com o teor de HA, uma possível explicação é que boa parte da HA pode ter migrado para o PCL logo no início da fusão, e as partículas ficaram recobertas com este, assim durante o processamento o teor de carga em ambos os polímeros pode não ter sido o suficiente para causar uma degradação que induzisse grande prejuízo do efeito de reforço da carga.

Para os compósitos com o PCL, a adição da carga promove melhora no módulo de compressão em relação ao PCL puro, no entanto não houve diferença significativa entre os compósitos PCL/HA. Comportamento semelhante ao observado por Backes *et al.* [31].

Os valores de módulo elástico de todos os compósitos e blendas correspondem aos valores necessários para enxertos ósseos esponjosos sob compressão (módulo do osso esponjoso varia de 10 - 2000 MPa [88]). Ademais a faixa de módulo elástico obtida também é apropriada para a regeneração de outros tecidos rígidos como ligamento, cartilagem e tendão [104].

- Caracterização morfológica

Inicialmente a caracterização morfológica foi realizada apenas no TPU, PCL e nas blendas. A Figura 5.9 apresenta as micrografias de MEV da superfície de fratura das amostras de TPU, PCL e das blendas 75T25P, 50T50P e 25T75P com e sem remoção do PCL com acetona. O TPU apresentou uma fratura com regiões de grandes estrias e regiões lisas (Figura 5.9(a) e Figura C.1 do APÊNDICE C), já o aspecto da fratura do PCL (Figure 5.9(b)) se apresentou com pequenas e grandes estrias, porém sem regiões lisas.

Na Figura 5.9(c) e (d) apresentam as superfícies de fratura da blenda 75T25P com e sem extração da fração de PCL, observa-se que sem a remoção deste não é possível distinguir a presença das duas fases, onde o PCL está presente em um formato esférico, disperso e distribuído por toda a matriz de TPU.

Já para a blenda 50T50P (Figura 5.9(e)) sem remoção de fase foi possível identificar facilmente as duas fases pela característica de cada fratura, conforme regiões indicadas na imagem por setas. Sem o PCL (Figura 5.9(f)), observa-se que a blenda apresentou uma estrutura co-contínua, onde as fases poliméricas estavam entrelaçadas e contínuas, notou-se também que o PCL estava presente dentro da fase TPU conforme ilustra alguns vazios observados na superfície e estão indicados por setas na Figura 5.9(f).

Em relação a blenda 25T75P, também é possível identificar as duas fases sem remoção do TPU, sendo este, os formatos que apresentam fratura lisa.

Como o PCL facilmente funde em menos de 1 minuto, e o cisalhamento do misturador interno e da prensagem a quente não foram suficientes para dispersar o TPU pela fase PCL, os sólidos do TPU mantiveram praticamente seu tamanho original.

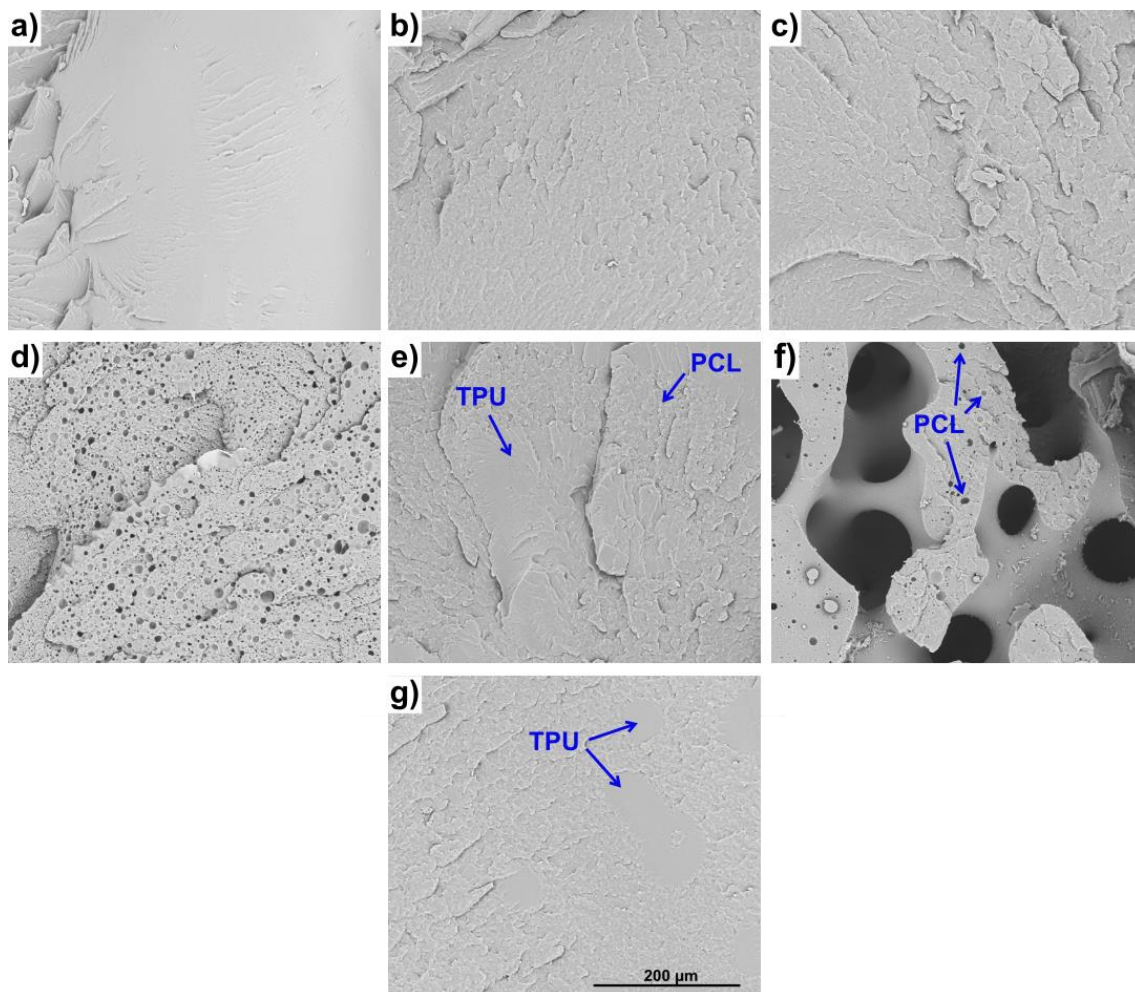


Figura 5.9 – Micrografias de MEV da superfície de fratura do a) TPU, b) PCL, c) 75T25P, d) 75T25P (remoção do PCL), e) 50T50P, f) 50T50P (remoção do PCL) e g) 25T75P.

- Análise da printabilidade

Os principais requisitos utilizados para avaliar a printabilidade ou capacidade de impressão dos materiais incluem: a precisão dimensional da peça obtida quando comparado com o projeto de impressão, a capacidade de extrudar um filamento contínuo e com o diâmetro deste o mais próximo do diâmetro do

bico de impressão, e reproduzir a forma do objeto desejado. A printabilidade das formulações estudadas foi analisada com o material triturado após o processamento no misturador interno. Foram impressos *scaffolds* cilíndricos com 10 mm de diâmetro e 3 mm de altura, geometria de 0 – 90°, 10 camadas com poros de 0,4 mm (42% de preenchimento, e 58% de porosidade) e a temperatura utilizada foi de 210 °C. Na Figura 5.10 são apresentadas as imagens dos *scaffolds* obtidos para cada formulação.

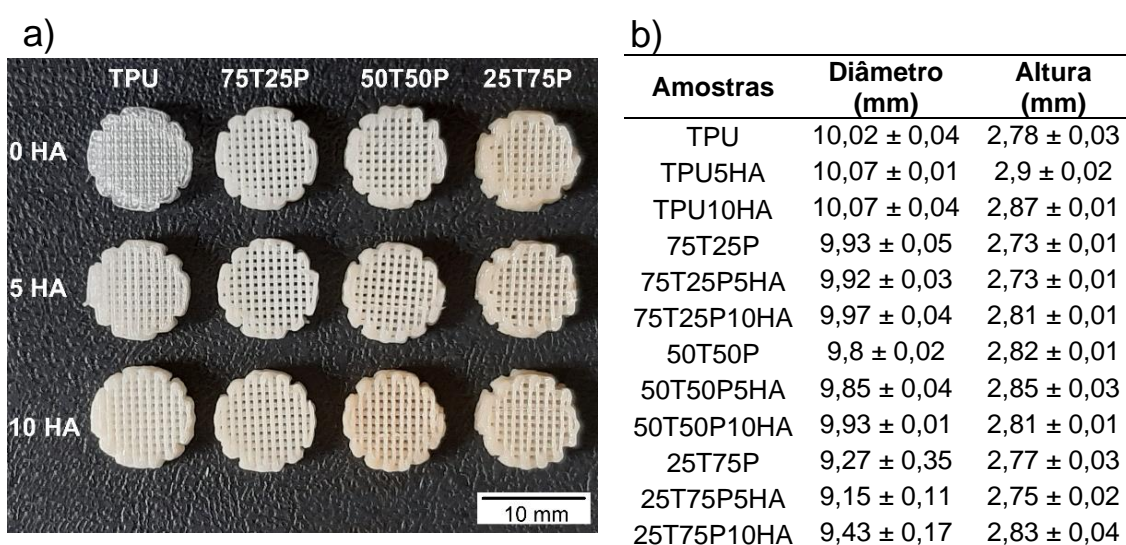


Figura 5.10 – Em (a) imagens de *scaffolds* impressos em 3D de 10 camadas com geometria de 0-90° das formulações estudadas e em (b) valores do diâmetro e altura destes *scaffolds*. O modelo para impressão foi de 10 mm de diâmetro e 3 mm de altura.

O TPU, a blenda 75T25P e seus respectivos compósitos com até 10% de HA foram os que apresentaram melhor printabilidade, e os *scaffolds* produzidos mostraram boa precisão dimensional em relação ao diâmetro (variação máxima de 0,08 mm) e melhor aspecto nos detalhes do modelo proposto. Em relação à altura os valores variaram mais que o diâmetro, isto é compreensível pois depende do nivelamento da mesa de impressão e da necessidade da primeira camada ficar bem aderida a mesa.

As composições de 50T50P, 25T75P e seus respectivos compósitos não apresentaram boa precisão dimensional e devido as diferentes viscosidades dos dois polímeros, conforme observado nas curvas reológicas, houve dificuldade na

extrusão de um filamento contínuo e com o mesmo diâmetro do bico de impressão, onde visivelmente foi possível notar regiões com diâmetros diferentes. Ademais as formulações 50T50P10HA e todas com 25T75P apresentaram grande dificuldade de estabilidade de fluxo, levando estas a permanecerem por mais tempo na seringa aquecida, aumentando conseqüentemente a degradação da matriz polimérica. Todas as formulações com 20% de HA causaram entupimento no bico de impressão, que possuía diâmetro de 0,4 mm, impossibilitando a confecção dos *scaffolds*. A printabilidade do PCL e seus compósitos com HA em diferentes teores, já é bem reportado na literatura, tanto por meio da impressão 3D utilizando um extrusor por seringa, extrusor alimentado por filamento ou extrusão alimentado por rosca [14,25,30,31,105].

Com base nos resultados obtidos na printabilidade, as caracterizações a seguir e a impressão 3D dos *scaffolds* foram realizados apenas no TPU, 75T25P e nos biocompósitos destes com 5 e 10% de HA. Como apresentado, essas formulações também exibiram boa estabilidade térmica, boa capacidade de incorporação da carga conforme resultado do resíduo após 800 °C e o módulo elástico permaneceu dentro dos valores requeridos para osso esponjoso.

- Avaliação *in vitro* da biocompatibilidade

O ensaio de citotoxicidade com *Alamar blue* foi realizado para avaliar a proliferação de osteoblastos nas placas prensadas em espessura de 0,9 mm após 1, 3 e 7 dias de cultura (Figura 5.11). Após 1 dia de cultivo celular, as placas produzidas a partir dos biocompósitos de 75T25P/HA levam a uma maior proliferação das células, e após 3 e 7 dias observou-se um aumento contínuo da proliferação celular. Após 3 dias, a placa 75T25P apresentou aumento significativo da viabilidade celular em relação ao TPU e seus biocompósitos ($p < 0,05$). Já após 7 dias, o TPU exibiu aumento com relação a seus biocompósitos, e o 75T25P10HA apresentou alteração estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) em relação as demais formulações estudadas, mostrando o efeito positivo da HA.

Durante a cultura celular, as proteínas da matriz extracelular são adsorvidas na superfície do biomaterial e auxiliam na subsequente fixação celular. Para a cultura de osteoblastos, a fibronectina e a vitronectina são duas proteínas importantes que afetam a fixação e a disseminação celular. Sabe-se que aditivos de fosfato de cálcio podem auxiliar na adesão dessas duas proteínas, promovendo assim a fixação e disseminação dos osteoblastos [106]. No entanto, excetuando a formulação 75T25P10HA, a adição da HA não foi efetiva para proliferação celular e esse resultado pode estar associado as partículas de HA na superfície estarem recobertas com uma fina camada da matriz polimérica. Um tratamento na superfície que removesse esta camada poderia conferir rugosidade superficial e expor as partículas de HA, conseqüentemente, estes beneficiariam ainda mais a adesão e proliferação celular.

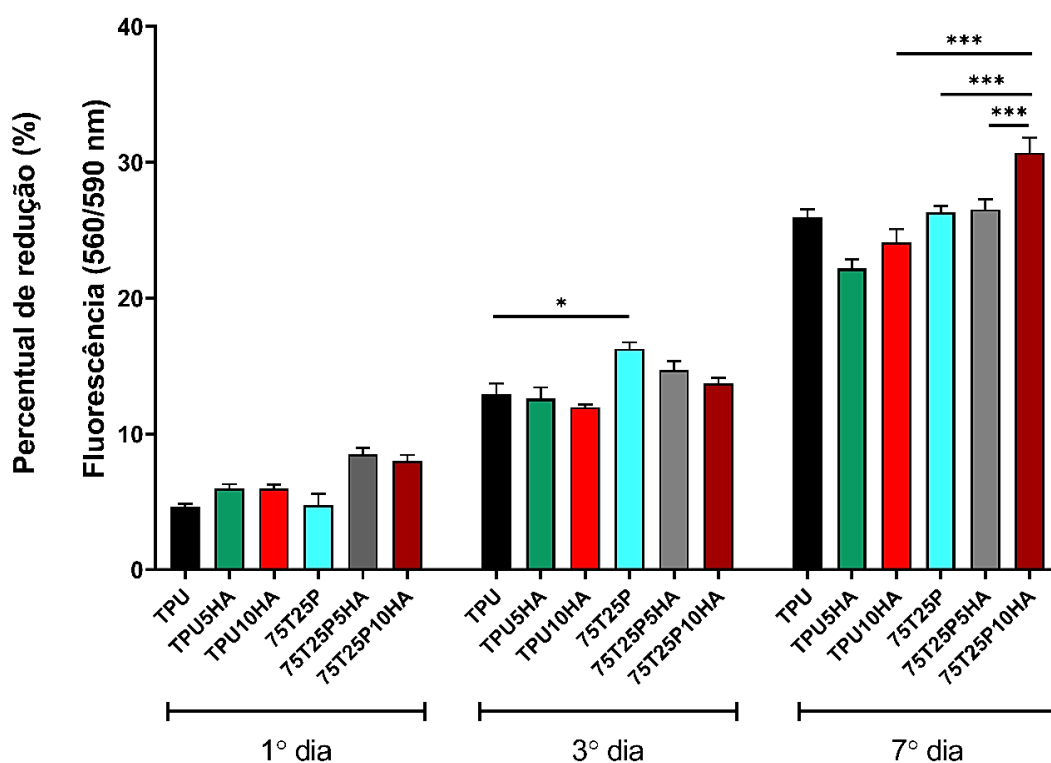


Figura 5.11 - Resultado do ensaio de *alamar blue* após 1, 3 e 7 dias de cultura de osteoblasto (MC3T3-E1) para as amostras de TPU, TPU/HA, 75T25P e 75T25P/HA com HA até 10%. * $p < 0.05$ e *** $p < 0.0001$.

Na Figura 5.12 é apresentado as imagens do citoesqueleto após 7 dias de cultivo dos osteoblastos nas amostras de TPU e da blenda 75T25P. Nestas observa-se que as células cultivadas mostraram uma forma redonda ou poligonal levemente estiradas, indicando um estado de crescimento progressivo. Além disso, para a blenda nota-se uma densidade maior de células. No geral, os resultados biológicos *in vitro* evidenciaram que estas formulações e seus biocompósitos podem ser exploradas como materiais bioativos para engenharia de tecidos.

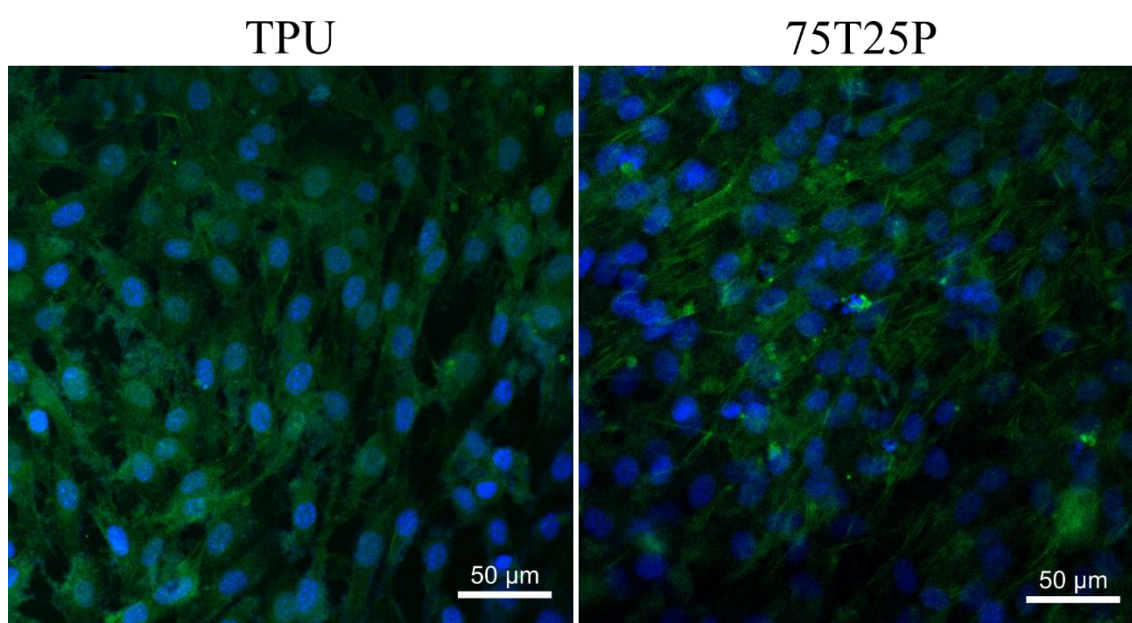


Figura 5.12 – Imagens do citoesqueleto das células cultivadas em 7 dias nas amostras em forma de placas do TPU e da blenda 75T25P.

5.3 Caracterização dos materiais utilizados, desenvolvimento e caracterização dos *scaffolds* produzidos via impressão 3D por extrusor de seringa

- Análise térmica

Análise térmica por DSC foi realizada nas formulações selecionadas para impressão dos *scaffolds*, para avaliar a influência da carga no comportamento térmico logo após processamento no misturador interno, dado que já foi constatado, como ilustrado na Figura 5.1, mudanças significativas no

comportamento do TPU quando processado. Nesta fase do trabalho, o TPU puro foi utilizado como recebido da empresa, na forma de *pellets*, dado que para a impressão não é necessário processá-lo. A Figura 5.13 e a Tabela 5.5 apresentam os resultados de DSC para as amostras de TPU, a blenda 75T25P e os biocompósitos de TPU/HA e 75T25P/HA.

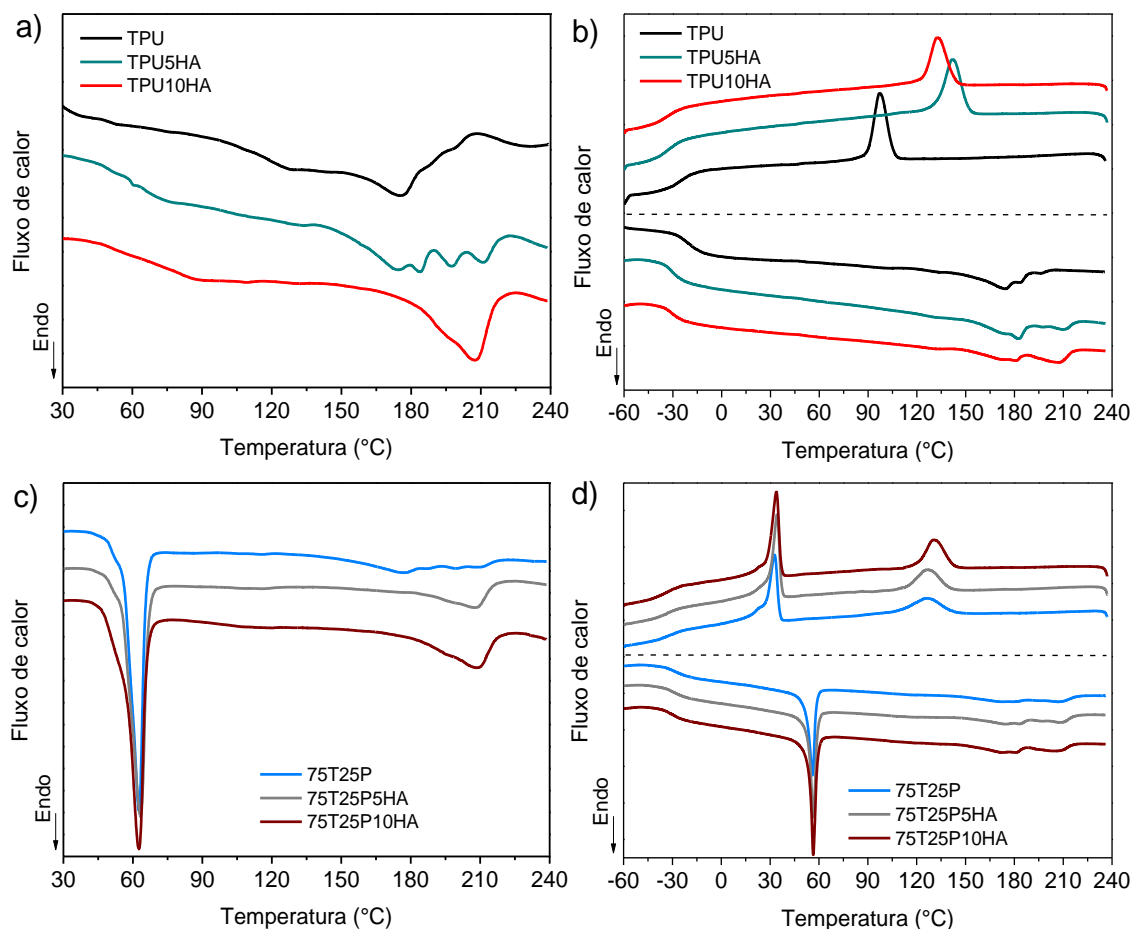


Figura 5.13 – Curvas da primeira varredura de aquecimento do ensaio de DSC nas amostras (a) TPU, (c) 75T25P e seus respectivos biocompósitos, e as curvas de resfriamento e do segundo aquecimento para (b) TPU, (c) 75T25P e seus respectivos biocompósitos.

Para os biocompósitos com a matriz de TPU, o processamento no misturador em conjunto com a adição de HA causou uma mudança nas endotermas de fusão dos biocompósitos quando comparados com o TPU puro

como recebido, isso tanto para a análise na primeira quanto na segunda varredura de aquecimento (Figura 5.13(a) e (b)). Sendo que a T_m passa de aproximadamente 175 °C do TPU puro para cerca de 207 °C no biocompósito TPU10HA. Na primeira varredura de aquecimento a amostra TPU5HA apresentou nitidamente endotermas em temperaturas maiores que as observadas para o TPU, e esse comportamento já se esperava dado que comportamento parecido foi exibido pelo TPU processado no misturador interno (Figura 5.1). Diferentemente destes o TPU10HA exibiu somente uma endoterma de fusão a qual está deslocada para temperaturas maiores, já na segunda varredura o comportamento tende a se assemelhar ao TPU5HA, porém com a maior endoterma em temperaturas maiores que este biocompósito.

Ainda nos compósitos TPU/HA, os valores da T_g não mudaram para os dois teores de HA, assim como foi observado nas amostras prensadas (Tabela 5.3). No entanto, a T_c do TPU10HA foi menor que a do TPU5HA (e a T_c deste foi a mesma quando prensado).

Tabela 5.5 – Resultados de DSC obtidos para as formulações a partir das varreduras do primeiro e segundo aquecimento, e de resfriamento.

Resultados do DSC		Amostras						
		TPU	TPU5HA	TPU10HA	75T25P	75T25P5HA	75T25P10HA	
Primeiro aquecimento	TPU	T_m (°C)	176 ± 0*	183 ± 1	207 ± 1	176 ± 0*	209 ± 1	208 ± 1
		T_m (°C)	-	-	-	62 ± 0*	63 ± 0*	62 ± 1
	PCL	ΔH_m (J/g)	-	-	-	17 ± 0*	17 ± 1	16 ± 1
		X_c (%)	-	-	-	50 ± 1	51 ± 2	50 ± 2
Resfriamento e segundo aquecimento	TPU	T_g (°C)	-23 ± 0*	-31 ± 1	-31 ± 1	-28 ± 1	-32 ± 1	-30 ± 2
		T_m (°C)	174 ± 0*	183 ± 0*	207 ± 0*	172 ± 1	183 ± 0*	181 ± 0*
		T_c (°C)	97 ± 0*	142 ± 0*	133 ± 1	127 ± 1	127 ± 0*	131 ± 1
	PCL	T_m (°C)	-	-	-	56 ± 0*	56 ± 0*	56 ± 1
		T_c (°C)	-	-	-	33 ± 0*	34 ± 0*	34 ± 0*
		ΔH_m (J/g)	-	-	-	11 ± 0*	12 ± 0*	11 ± 0*
		X_c (%)	-	-	-	32 ± 1	36 ± 1	35 ± 1

Onde: * São valores de desvio padrão menores que 0,5 e onde o arredondamento tende a 0.

Nos biocompósitos a partir da blenda 75T25P, a adição da HA também resultou em alterações no comportamento do TPU na primeira varredura de aquecimento, para o 75T25P5HA e 75T25P10HA exibiram apenas um único pico de fusão, sendo este largo e em temperaturas maiores do que o observado para a blenda. No resfriamento e no segundo aquecimento, após eliminar a história térmica do material, não foi observado alterações expressivas no comportamento da fração de TPU dos biocompósitos em relação a blenda. Em todos as etapas de aquecimento e resfriamento, não foram observadas mudanças no comportamento da fração de PCL da blenda com os diferentes teores de HA, conforme os resultados da Tabela 5.5.

- Caracterização reológica

A mudança no comportamento térmico exibida pelas amostras processadas conforme observado nas análises de DSC, indicaram que os materiais possuem provavelmente comportamentos reológicos diferentes após mistura no HAAKE e após prensagem. Com este indicativo, medidas reológicas foram realizadas para avaliar a influência da HA após produção dos compósitos no misturador interno, dado que após este processo o material estaria pronto para ser alimentado na impressora e assim produzir os *scaffolds*. A Figura 5.14 apresenta as curvas de viscosidade *versus* taxa de cisalhamento e as curvas de módulos de armazenamento (G') e módulo de perda (G'') *versus* frequência angular, para as amostras TPU, 75T25P, e biocompósitos de TPU/HA e 75T25P/HA. Na Tabela 5.6 são exibidos os principais resultados extraídos destas curvas.

Para o comportamento reológico em regime permanente, Figura 5.14(a) e (b), observa-se que a viscosidade do TPU como recebido é levemente reduzida de forma praticamente linear com o aumento da taxa de cisalhamento de 0,01 para 10 s^{-1} . Já na blenda 75T25P (Figura 5.14(b)), observa-se um pequeno platô Newtoniano a uma taxa de cisalhamento de 0,01 a $0,1 \text{ s}^{-1}$, e para taxas maiores que estas, nota-se um comportamento pseudoplástico. Ao comparar os valores de viscosidade do TPU e da blenda 75T25P (Tabela 5.6) à uma taxa de

cisalhamento $0,01 \text{ s}^{-1}$, observa-se que são similares, o mesmo comportamento foi obtido na Figura 5.5.

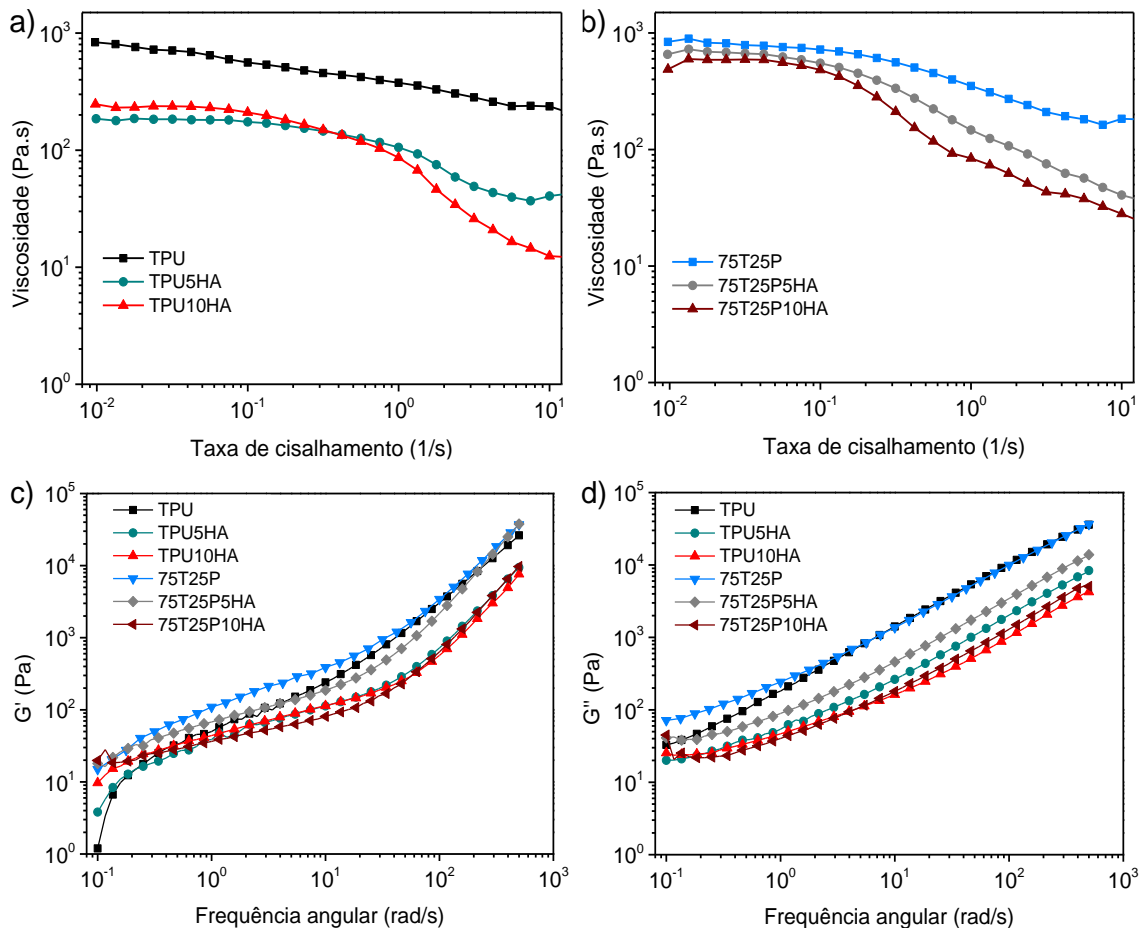


Figura 5.14 – Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento para (a) TPU, (b) 75T25P e seus respectivos biocompósitos, e curvas de G'' e G' versus frequência angular para (c) TPU, (d) 75T25P e seus respectivos biocompósitos.

Nos biocompósitos TPU/HA, a adição de 5 e 10% em massa de carga resultou em diminuição no patamar de viscosidade, sendo que em taxas de cisalhamento menores que $0,1 \text{ s}^{-1}$, a redução da viscosidade do TPU10HA foi menos pronunciada quando comparado com os compósitos TPU5HA. Resultado este associado ao maior teor de HA, o qual proporcionou maior restrição física ao movimento das cadeias. Porém, para taxas de cisalhamento maiores que 1 s^{-1} o biocompósito com TPU10HA apresentou comportamento pseudoplástico

mais acentuado que o TPU5HA, e isto pode estar associado ao grande número de partículas que podem ter mantido as macromoléculas e os segmentos moleculares mais distantes uns dos outros e a possível redução do tamanho das macromoléculas proporcionada pelos grupos hidroxila (-OH) da HA [100], estes pontos facilitaram o alinhamento das cadeias na direção do fluxo à medida que a taxa de cisalhamento aumentava. Esse resultado pode favorecer o processo de impressão 3D devido à interdifusão entre as macromoléculas na interface das camadas depositadas adjacentes.

Em relação aos biocompósitos 75T25P/HA a adição da carga provocou uma pequena redução do patamar de viscosidade em taxas de cisalhamento menores que $0,1 \text{ s}^{-1}$ quando comparado com a blenda pura, o que indica que a adição da HA na blenda não levou a degradação tão acentuada na matriz quando comparado com o TPU. Para taxas de cisalhamento maiores, o comportamento pseudoplástico foi intensificado, sendo maior no 75T25P10HA.

Tabela 5.6 – Resultados obtidos das análises de reologia em regime permanente e oscilatório.

Amostras	$\eta \gamma (0,01 \text{ s}^{-1})$ (Pa.s)	Inclinação G'	Inclinação G''	ω_c (rad/s)	T_r (s)
TPU	835	1,69	0,73	500	0,013
TPU5HA	187	1,03	0,44	500	0,013
TPU10HA	247	0,69	0,23	251	0,025
75T25P	839	1,01	0,51	500	0,013
75T25P5HA	656	0,32	0,19	185	0,034
75T25P10HA	487	0,21	0,16	290	0,022

Na Figura 5.14(c) e (d) são apresentados os comportamentos reológicos do TPU, da blenda e dos seus respectivos compósitos com HA, em regime oscilatório. Para o TPU e a blenda, observa-se que o módulo de perda é maior que o módulo de armazenamento ($G'' > G'$) em quase toda a faixa de frequência angular analisada, indicando que o componente viscoso destes prevalece sobre o elástico. No entanto, a componente elástica aumenta para maiores frequências, e para altas frequências angulares os valores de G' iguala-se a G'' , apresentando um comportamento equilibrado entre a componente elástica e

viscosa. Ao comparar G' e G'' da blenda 75T25P em relação ao TPU, ambos os módulos são superiores aos do TPU para baixas frequências.

Os biocompósitos TPU/HA apresentam um módulo elástico maior em baixas frequências angulares, principalmente no biocompósito TPU10HA, quando comparados ao TPU puro. Isso sugere que a maior quantidade de HA utilizada foi capaz de promover um emaranhamento mais eficiente entre as macromoléculas em baixa faixa de frequência. No entanto, a estrutura obtida mostrou-se instável, e quando as frequências ultrapassaram 0,3 rad/s, seu comportamento elástico foi inferior ao do TPU puro. Já para os biocompósitos 75T25P/HA, tanto os valores de G' e G'' exibiram valores menores que a blenda pura em toda a faixa de frequência angular analisada.

Para todas as amostras houve uma redução da inclinação das curvas G' (Tabela 5.6) em frequências mais baixas quando comparado com TPU puro, isso mostra que a blenda e os biocompósitos tendem a desenvolver um comportamento mais elástico do que o TPU, onde a fração de PCL e as partículas e aglomerados de HA atuaram como pontos de ancoragem entre as macromoléculas durante o fluxo, dificultando a relaxação. Essa observação é evidente nas amostras TPU10HA e 75T25P10HA onde há um comportamento equilibrado entre a componente elástica e viscosa para uma determinada faixa de frequência como melhor constatado na Figura E.1 do APÊNDICE E. No entanto, como as interações entre partículas e macromoléculas são fracas, não favoreceram totalmente esse processo, e o comportamento viscoso se torna dominante até o ponto de *crossover* (ω_c), ou seja, quando $G'(\omega_c) = G''(\omega_c)$, e a partir deste ponto, $G' > G''$.

O tempo de relaxação (T_r) das macromoléculas pode ser calculado a partir do ponto de *crossover* ($T_r = 1/\omega_c$), sendo então uma relação inversamente proporcional, ou seja, quanto mais alta é a frequência onde ocorre *crossover*, menor é o T_r . Na Tabela 5.6, são apresentados os tempos de relaxação calculados para todas as formulações, nesta é possível observar que para todas as amostras os T_r 's são baixos e indicam que, logo após a saída do material pelo bico extrusor durante o processo de impressão, as macromoléculas já estariam

em seu estado de equilíbrio, não tendo assim efeito na qualidade final das amostras impressas.

- Memória de forma

Os avanços dos SMP podem trazer promessas consideráveis para pacientes com defeitos ósseos, tais como cirurgias minimamente invasivas e o processo de recuperação da forma fortalece o contato entre o material e o tecido circundante, melhorando a osseointegração. Os SMP permitem que os implantes sejam pré-programados para um tamanho menor e então recuperados após serem inseridos no local do defeito [107]. Neste trabalho, as propriedades de memória de forma dos *scaffolds* de 75T25P e 75T25P/HA responsivos a estímulo térmico foram investigadas por meio da aplicação de uma tensão de compressão a uma temperatura de 90 °C, e então rapidamente resfriados em banho de gelo. A recuperação da forma foi obtida ao aquecer os *scaffolds* em banho de água a temperatura de 55 °C por 20 s e os resultados estão ilustrados na Figura 5.15.

As amostras apresentaram boa taxa de fixação e recuperação da forma sendo adequados como SMP, o valor mínimo de fixação foi de 71% obtido no 75T25P10HA e de recuperação foi de 90% obtido na blenda 75T25P. A temperatura de ativação utilizada na recuperação da forma (55 °C) ainda é superior a máxima suportada pelo osso humano para um tempo de 20 s que é 48 °C (assumindo o princípio de minutos equivalentes cumulativos (CEM) com valor de 9, o qual não causa danos ao tecido ósseo [82]). Essa diferença é de apenas 7 °C e deve-se considerar que a temperatura para recuperação poderá ser aplicada diretamente no *scaffold* utilizando micro aquecedores localizados, o que poderá minimizar a exposição ao tecido circundante. Ademais, esta temperatura de ativação pode ser ainda mais reduzida com mudanças na massa molar do PCL e aumento da taxa de resfriamento, diminuindo o grau de cristalinidade, evidentemente que se deve buscar um equilíbrio entre temperatura de ativação mais baixa e taxa de fixação adequada. Outra possibilidade é adicionar à formulação componentes como partículas de magnésio, que além de apresentar biocompatibilidade e excelente biodegradabilidade, são agentes fototérmicos e permitem a absorção de luz e subsequente conversão em energia térmica, localizada apenas na estrutura do

scaffold. A luz aplicada é a infravermelha próxima, amplamente utilizada em aplicações biomédicas devido ao seu caráter inofensivo e por possuir excelente capacidade de penetração tecidual [107].

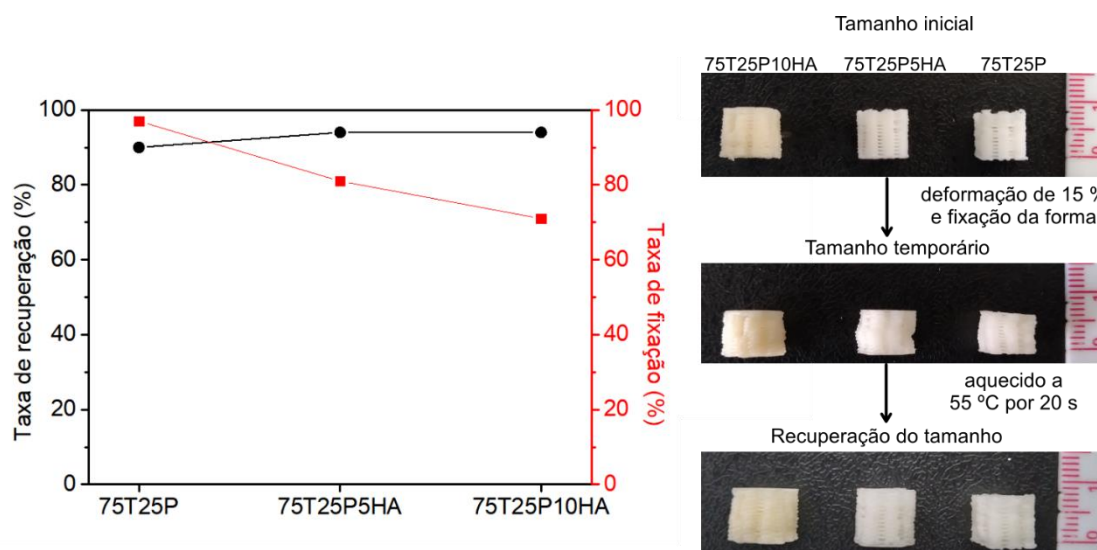


Figura 5.15 – Resultados do ensaio de memória de forma dos *scaffolds* de 75T25P e 75T25P/HA, em a) resultados da taxa de fixação e recuperação da forma e b) demonstração da forma dos *scaffolds* durante o ensaio.

A aplicação de taxas de resfriamento adequadas na etapa de fixação de forma é de grande importância na redução da temperatura de ativação no sistema TPU/PCL e na capacidade de fixação de sua forma, dado que esses dois parâmetros são opostos, ou seja, se a taxa de resfriamento for excessiva poderá resultar em baixa capacidade de fixação, mas com temperatura de ativação menor (pois não houve tempo suficiente para o PCL cristalizar), o contrário também se aplica. É indubitável que para uma mesma condição de resfriamento, o tamanho da amostra e a deformação aplicada irão influenciar nestes dois parâmetros.

A Figura 5.16 ilustra a memória de forma em filamentos da blenda 75T25P com 1,4 mm de diâmetro deformados em 100% do seu tamanho inicial, e recuperação em temperaturas de 40 e 50 °C. Na Figura 5.16(a) observa-se que a taxa de fixação foi de 98% (medido após 20 minutos que o material foi retirado

do banho de gelo), já o valor de recuperação é dependente da temperatura, para 40 e 50 °C os valores são, 30 e 80% de recuperação do tamanho inicial, isso para tempos de 10 e 5 s de exposição, respectivamente. Esses resultados permitem indicar um alto potencial da blenda 75T25P em aplicação na linha de sutura de auto amarração, onde a propriedade de memória de forma permite a retração da sutura, o que manteria a ferida fechada em um estado febril. Muito embora não se tenha ainda realizado ensaios de tração destes filamentos para se determinar a resistência a tração e avaliar se a mesma estaria de acordo com a NBR 13094, que regulamenta as linhas de suturas para o corpo humano no Brasil e exige que as mesmas devam apresentar resistência à tração mínima sobre nó simples, de em média 36 N para fios não absorvíveis, possuir diâmetro entre 0,6 e 0,699 mm, ser de fácil manuseio, segurança no nó e dimensionamento padrão e contínuo.

A aplicação de uma sutura requer um equilíbrio delicado por parte do médico responsável pela força aplicada, dado que muita força torna a sutura muito apertada no fechamento da ferida, causando desconforto ao paciente e cicatrizes após o processo de cura, enquanto o baixo aperto pode retardar a cicatrização e expor a ferida a infecções. Assim suturas feitas de SMP fornecem a melhor alternativa, pois submetem a força ideal na ferida, levando a uma cicatrização uniforme, além de facilitar suturas em espaços confinados [74,108].

A Figura 5.16(b) mostra o processo de fechamento de um nó dado em um filamento da blenda 75T25P, nessa é possível perceber que a aplicação da temperatura de 50 °C foi capaz de fechar o nó do filamento em 2 s sem aplicação de forças externas, somente pela ação da memória de forma do material.

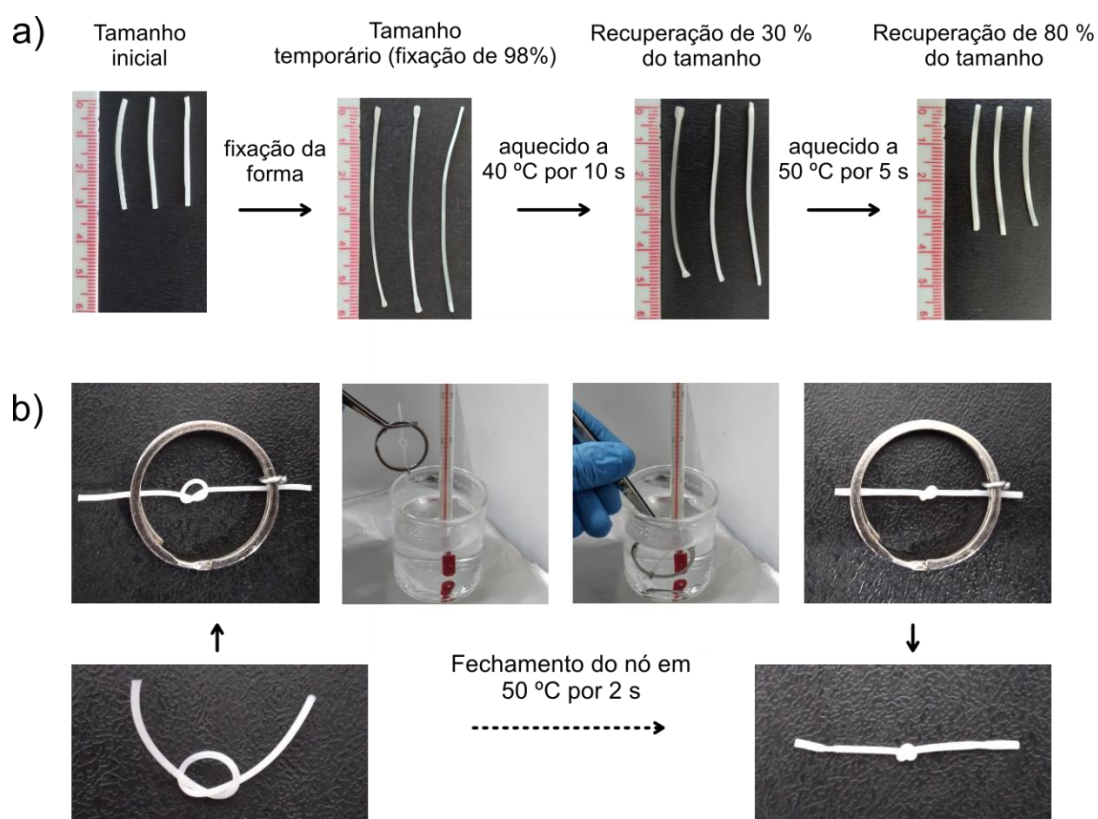


Figura 5.16 – Resultados do ensaio de memória de forma na blenda 75T25P em fios com aproximadamente 1,4 mm de diâmetro, em a) resultados da média da taxa de fixação e recuperação da forma em temperaturas de 40 e 50 °C e b) demonstração do processo de fechamento de nó em um fio.

- Caracterização morfológica dos scaffolds

A arquitetura dos *scaffolds* produzidos foram analisados por MEV, e a Figura 5.17 e 5.18 apresentam, respectivamente, a vista superior e seção transversal dos *scaffolds* de TPU, TPU/HA, 75T25P e 75T25P/HA. Os resultados da medida de tamanho de poro, largura do filamento e altura de camada são apresentados na Tabela 5.7.

Os resultados mostram que os *scaffolds*, excetuando os produzidos com TPU5HA e o 75T25P10HA, exibem valores de tamanho de poro (distância entre extremidades dos filamentos) distantes do valor projetado (400 μm) e, nesses casos, a largura do filamento e a altura da camada também variaram. Estes resultados podem ser atribuídos a dois fatores: o primeiro é que durante a

impressão alguns efeitos de relaxação do processo de deposição do filamento (estiramento do filamento) podem ocorrer e com isso causará uma pequena deformação e achatamento do filamento; o segundo fator é que a taxa de extrusão pela impressora utilizada (3DBS) pode variar, o que causaria aos filamentos largura maior ou menor no decorrer da impressão e diferentes alturas de camadas.

A variação da taxa de extrusão na 3DBS depende da purga inicial aplicada (para compactar os grânulos e retirar o ar), da quantidade de material já fundido dentro da seringa e sua viscosidade, o que depende do material a ser impresso. Estes fatores fazem com que, durante o tempo de impressão, o movimento do êmbolo não acompanhe corretamente a taxa de material que deveria sair pelo bico da impressora. Por exemplo: se muito material já estiver fundido e a purga for um pouco excessiva, uma quantidade maior de material sairá pelo bico da impressora e as primeiras camadas serão formadas por filamentos com diâmetro maior, mas durante o tempo de impressão a pressão na cavidade da seringa cai, devido a grande quantidade de material que já saiu, e neste ponto a velocidade com que o êmbolo desce para extrudar o material (em geral constante) não é suficiente para manter a pressão de extrusão necessária para manter uma taxa constante. Com isto, haverá diferentes valores de largura dos filamentos, altura das camadas e conseqüentemente, os poros se distanciarão do valor projetado.

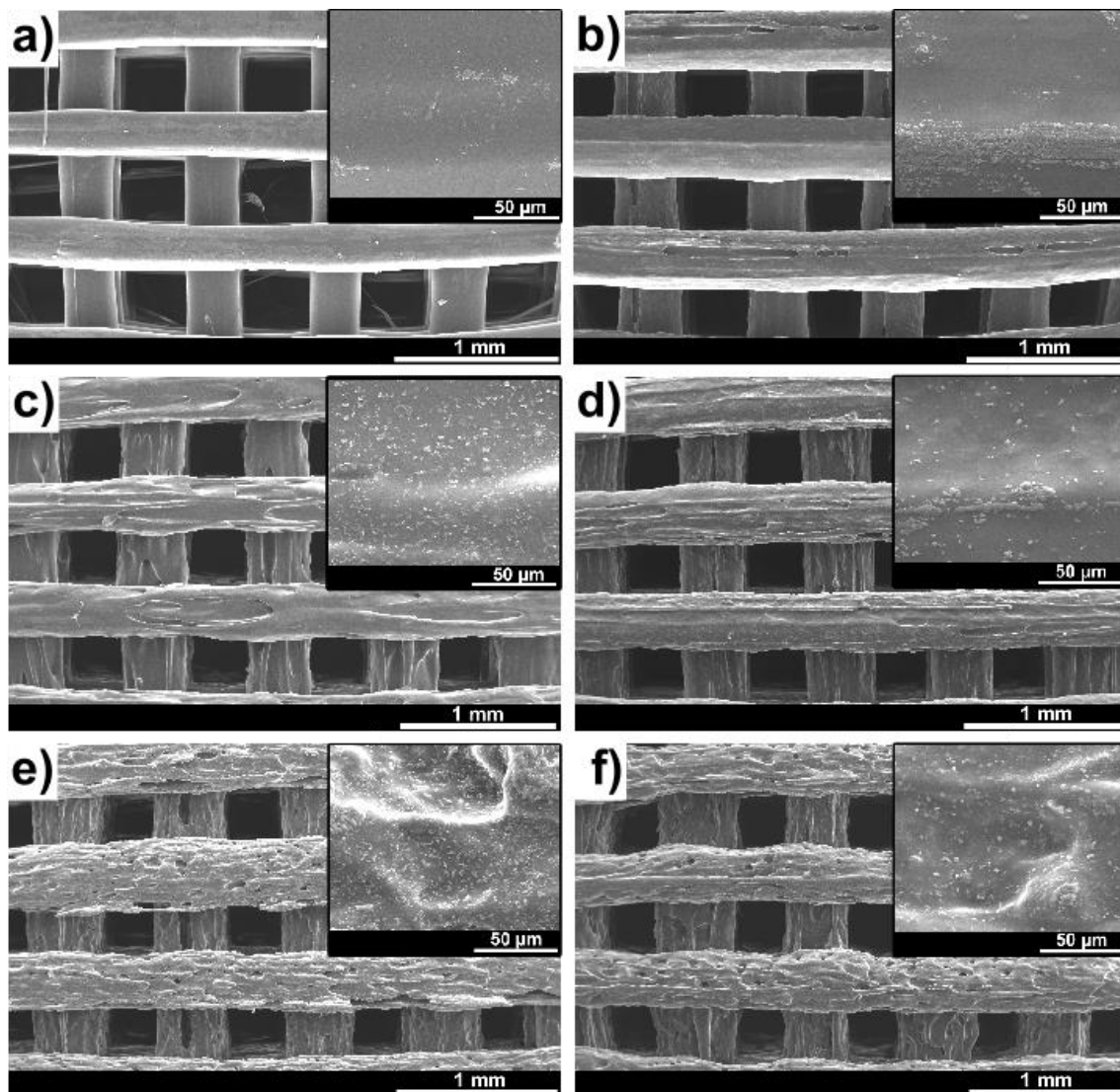


Figura 5.17 - Micrografias dos *scaffolds* (vista superior) obtidas por meio do MEV, em a) TPU, b) 75T25P, c) TPU5HA d) 75T25P5HA e) TPU10HA e f) 75T25P10HA.

Nas micrografias da vista superior (Figura 5.17), nota-se que os *scaffolds* de 75T25P e os biocompósitos TPU/HA e 75T25P/HA, principalmente com 10% de HA, apresentam filamentos com aspecto rugoso. Essa rugosidade da superfície pode ser atribuída ao ar aprisionado e a possíveis gases gerados de reações de degradação intensificados pela HA, nas condições de tempo e temperatura experimentados na impressão. Esses gases também são aprisionados dentro do filamento, conforme observado nas micrografias da seção transversal (Figura 5.18), e a maior densidade de vazios são encontrados

nos *scaffolds* com 10% em massa de HA. Embora esta rugosidade possa vir a resultar em prejuízo nas propriedades mecânicas dos *scaffolds*, dado que o diâmetro do filamento não é constante, esta pode aumentar a fixação celular e do implante nos tecidos naturais, além de estimular o crescimento de osteoblastos para diferenciação e aumentar a mineralização quando comparado com células cultivadas em superfície lisa [8].

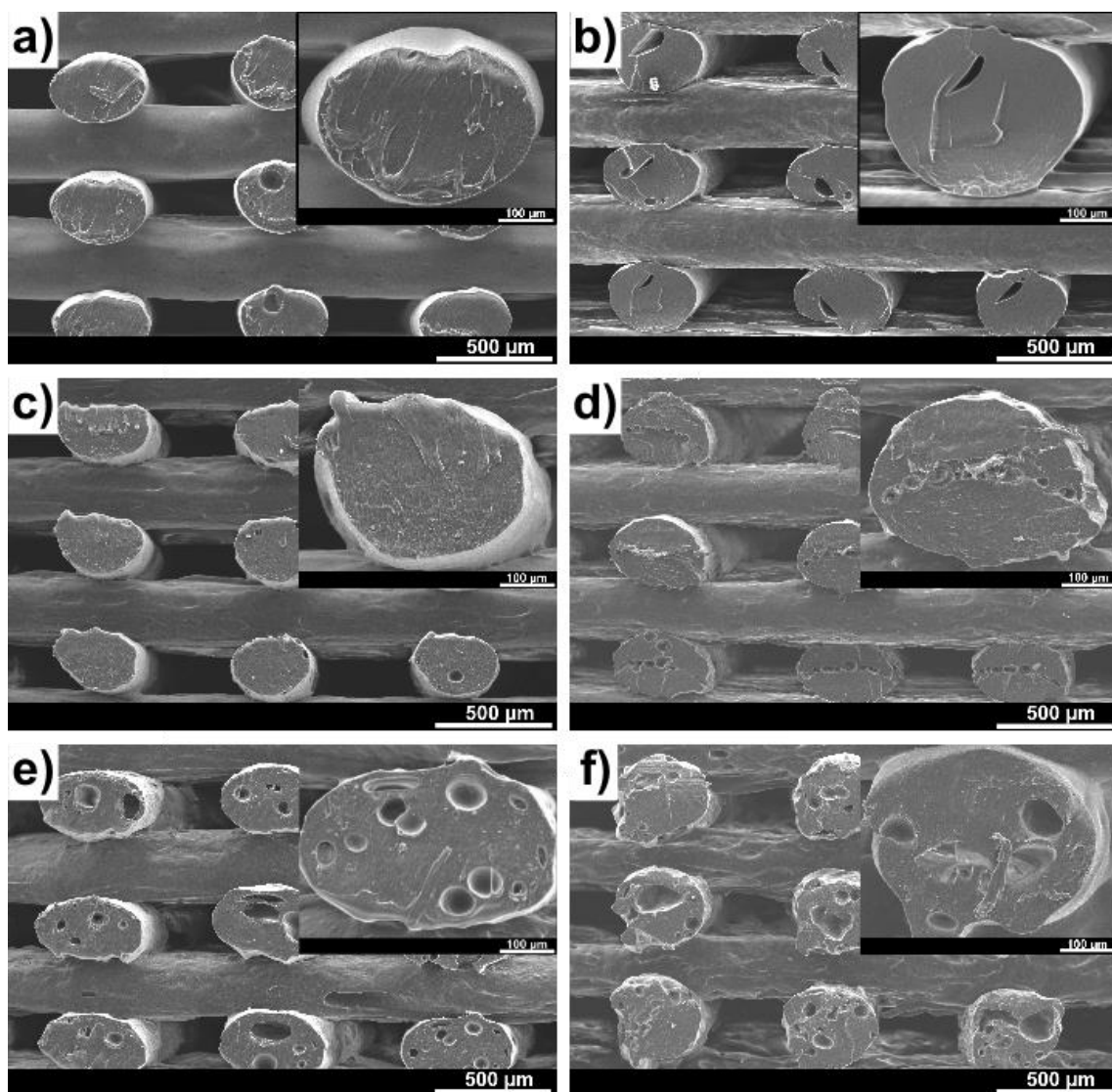


Figura 5.18 - Micrografias da secção transversal dos *scaffolds* obtidas por meio de MEV, em a) TPU, b) 75T25P, c) TPU5HA d) 75T25P5HA e) TPU10HA e f) 75T25P10HA.

Tabela 5.7 - Medidas das características morfológicas dos *scaffolds* de TPU, 75T25P e biocompósitos de TPU/HA e 75T25P/HA.

Amostras	Tamanho de poro (μm)	Largura do filamento (μm)	Altura da camada (μm)
TPU	453 \pm 16	311 \pm 10	239 \pm 10
TPU5HA	397 \pm 20	396 \pm 29	261 \pm 17
TPU10HA	335 \pm 18	470 \pm 20	245 \pm 24
75T25P	371 \pm 39	419 \pm 25	257 \pm 33
75T25P5HA	367 \pm 20	423 \pm 15	243 \pm 14
75T25P10HA	396 \pm 23	415 \pm 16	262 \pm 19
Tamanho projetado	400	400	300

- Mapeamento composicional

O mapeamento de EDS foi realizado na superfície de fratura em um filamento dos *scaffolds* TPU5HA, TPU10HA, 75T25P5HA, 75T25P10HA, objetivando investigar a distribuição da HA no interior destes a partir de seus principais elementos constituintes, como o Cálcio (Ca) e o Fósforo (P), os resultados obtidos são apresentados na Figura 5.19.

As regiões verdes observadas mostram a localização do elemento Ca enquanto que as de cor magenta o P, nos pontos onde ocorre ambos os sinais são atribuídos a localização das partículas de HA. Em todos os compósitos, nota-se que a carga esteve bem dispersa na matriz. Os vazios observados em certas regiões das imagens, principalmente nas formulações com 10% de HA, são resultado dos poros existentes dentro do filamento.

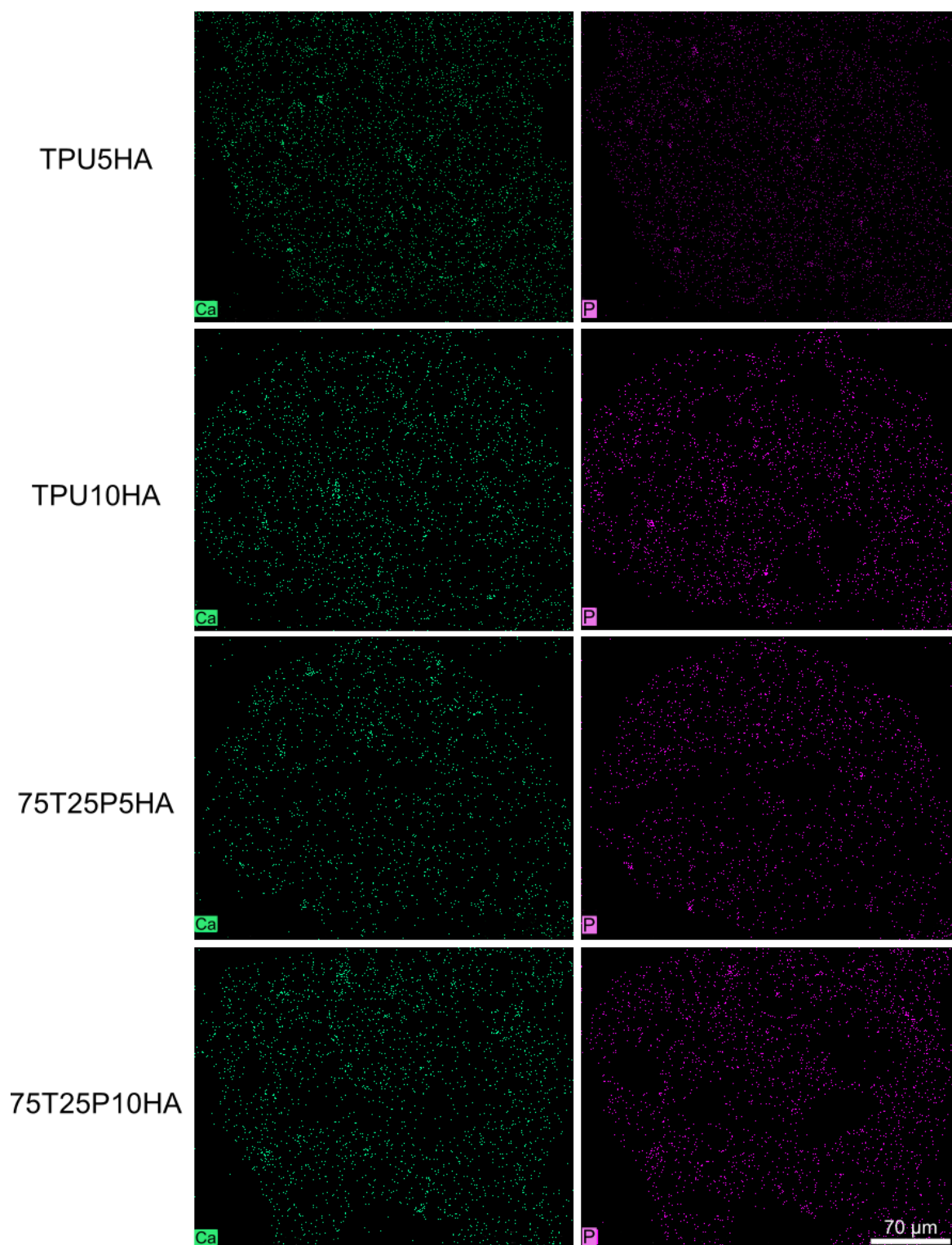


Figura 5.19 - Mapeamento de EDS na superfície de fratura do filamento dos *scaffolds* de TPU, 75T25P, e biocompósitos TPU/HA e 75T25P/HA.

- Caracterização mecânica

Os valores de módulo elástico dos *scaffolds* são apresentados na Figura 5.20, e esses foram determinados na região linear de 15 a 25% de deformação das curvas tensão *versus* deformação do ensaio de compressão uniaxial (Figura D.1 do APÊNDICE D).

Observa-se que a adição de 5% em massa de HA na matriz de TPU não proporcionou melhora no módulo elástico dos *scaffolds*, porém com 10% houve um acréscimo significativo ($p < 0.01$) embora exista uma quantidade significativa de vários poros no interior dos filamentos, conforme apresentado nas micrografias de MEV (Figura 5.18). A blenda também apresentou aumento considerável do módulo em relação ao TPU puro (resultado semelhante foi observado nas amostras prensadas), porém os compósitos obtidos a partir desta blenda não apresentaram melhora de reforço mecânico nos *scaffolds*.

Os valores de módulo elástico apresentados pelas formulações estão um pouco abaixo do limiar necessário para enxertos ósseos esponjosos, onde o valor do módulo varia de 10 - 2000 MPa [88]. O módulo apresentado pelos *scaffolds* de TPU e 75T25P se enquadram na faixa de valores para tecido cartilaginoso [104].

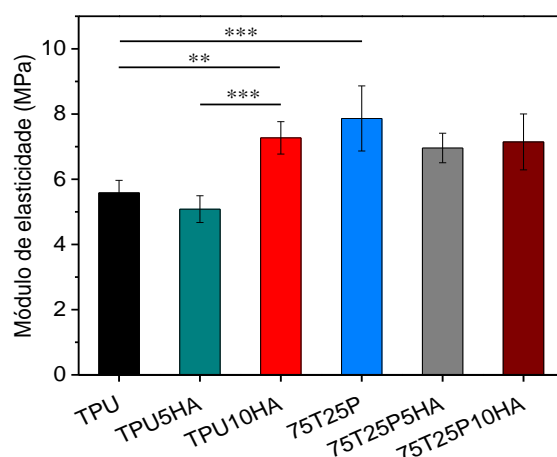


Figura 5.20 – Resultados do módulo de elasticidade dos *scaffolds* obtidos nos ensaios de compressão. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Embora os valores de compressão dos *scaffolds* a partir da blenda estejam abaixo do limiar necessário para enxertos ósseos, outras aplicações

para estes materiais na regeneração óssea ainda podem ser encontradas, explorando as propriedades de memória de forma já apresentadas. Por exemplo, possíveis fixadores internos de várias partes pequenas do osso em fraturas cominutivas, onde há dificuldade de manter as partes pequenas juntas usando placas de compressão ou fixadores metálicos (onde é necessário a aplicação de vários parafusos e se as partes são muito pequenas, esse procedimento torna-se difícil). Nesse sentido, podem ser produzidos tubos com ou sem poros a partir da blenda ou de compósitos desta com HA, em seguida aplicaria a deformação de alargamento no tubo e fixaria a forma temporária, assim quando inserido na região de interesse e fosse aplicada a temperatura necessária para recuperação da forma, esse manteria as partes unidas. Evidentemente que este não dispensaria a aplicação de placas ou fixadores metálicos (pois estes dão o suporte e o alinhamento necessário) mais ajudariam na recuperação e no tempo de cirurgia devido a menor quantidade de parafusos a serem inseridos.

6 CONCLUSÕES

O principal objetivo desta dissertação, que consistia em desenvolver biocompósitos a partir da matriz de TPU e de blendas TPU/PCL com HA, destinados a impressão 3D de *scaffolds* com características para engenharia de tecidos, usando uma impressora com extrusor de seringa foi alcançado com sucesso. A obtenção das blendas e biocompósitos foi realizada com êxito pelo misturador interno acoplado ao reômetro de torque. Verificou-se que o processamento do TPU no misturador e após prensagem uniaxial influenciou consideravelmente nas suas propriedades térmicas, sendo este resultado associado a polidispersão dos SR causada pelo processo de transuretização.

As caracterizações reológicas e a análise térmica dos biocompósitos indicaram que a adição de HA intensificou reações de termodegradação, principalmente na matriz de TPU, onde se observou sensível redução no patamar de viscosidade a baixa taxas de cisalhamento e redução da estabilidade térmica. Estes resultados foram mais pronunciados para os teores maiores de HA, que também influenciou no módulo elástico das amostras prensadas, para teores com até 10% em massa desta foram observados incrementos significativos do módulo, o mesmo não ocorreu quando adicionado 20% em massa e os valores foram similares aos obtidos com teores mais baixos da carga.

A printabilidade das blendas e biocompósitos mostraram que o TPU, 75T25P e seus biocompósitos com até 10% em massa de HA foram os que apresentaram valores dimensionais mais próximos do projetado. E os *scaffolds* produzidos com estes apresentaram valores de tamanho dos poros levemente distantes do valor projetado, resultado atribuído a possíveis efeitos de relaxação e a variação da taxa de extrusão pela impressora utilizada (3DBS), estes dois causaram mudanças na largura do filamento e na altura de camada.

Nas amostras na forma de placas a partir do TPU, blenda com 75% em massa de TPU e biocompósitos com até 10% em massa de HA nestas matrizes, mostraram em teste com linhagem celular que tais formulações permitem a citocompatibilidade e a proliferação celular.

Os *scaffolds* a partir do 75T25P e dos biocompósitos TPU/HA e 75T25P/HA apresentaram superfície mais rugosa quando comparada com o

TPU e muitos vazios foram observados no interior dos filamentos, atribuídos ao ar entre os grânulos que ficaram aprisionados e possíveis gases gerados de reações de degradação com HA.

Os valores de módulo dos *scaffolds* foram um pouco abaixo da faixa de módulo do osso humano, mostrando que a carga teve pouco efeito de reforço devido a formação de vazios presentes nos filamentos. Em termo das propriedades de memória de forma dos *scaffolds* de 75T25P e biocompósitos de 75T25P/HA, estes apresentaram alta taxa de fixação e recuperação de forma, sendo que em 55 °C por 20 s, todos retornaram quase completamente seu tamanho inicial. A memória de forma avaliada em fios de 1,4 mm da blenda 75T25P, mostraram que estes apresentam recuperação de 30% do seu tamanho a 40 °C por 10 s, indicando potencial para aplicação em suturas de alto amarração.

A grande contribuição deste estudo foi desenvolver e caracterizar, de forma inédita, biocompósitos a partir de blendas TPU/PCL com HA destinados a produção de *scaffolds* via impressão 3D baseada em extrusão com extrusor de seringa, e que estes possuíssem propriedades de memória de forma. Este trabalho concluiu que a blenda 75T25P e os biocompósitos desta com até 10% em massa de HA apresentaram os melhores resultados e possuem alto potencial para serem explorados no campo biomédico.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Nesta seção são apresentadas algumas sugestões de trabalhos que poderão dar continuidade ao desenvolvimento de blendas de TPU/PCL e biocompósitos a partir destas para aplicações na engenharia de tecidos.

- Realizar de forma mais aprofundada o ensaio de memória de forma nos *scaffolds*, para tanto é necessário o desenvolvimento de ferramentas precisas para realizar a mesma deformação em todos os corpos de prova e utilizar um número maior de amostras para quantificação dos valores de taxa de fixação e recuperação;
- Produzir fios de 1,2 mm a partir da blenda TPU/PCL e deformá-los em 100% do tamanho inicial, e avaliar resistência à tração objetivando a aplicação em suturas médicas;
- Explorar no ensaio de memória de forma diferentes temperaturas, percentuais de deformação, taxas de resfriamento e tempos de exposição na temperatura de recuperação;
- Avaliar se a deformação aplicada no ensaio de memória de forma causa ruptura nos pontos de ligação entre os filamentos e se isso seria prejudicial as propriedades mecânicas dos *scaffolds*;
- Produzir blendas com 10, 20 e 30% em massa de PCL, objetivando determinar a formulação com melhor resultado de memória de forma. E utilizar um TPU biodegradável e com menor temperatura de fusão cristalina para se adequar a temperatura de processo do PCL;
- Produzir os biocompósitos por solução para minimizar a termodegradação intensificada pela HA e utilizar outras cargas bioativas, como TCP e Biovidro, ademais trabalhar com cargas nanométricas;
- Avaliar a queda de pressão dentro da seringa metálica na impressora 3D e ajustar o movimento do êmbolo para produzir um filamento o mais uniforme possível durante a impressão.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] NAUREEN, B. et al. Recent advances in tissue engineering scaffolds based on polyurethane and modified polyurethane. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, n. August 2020, p. 111228, 2021.
- [2] WILLIAMS, D. F. To engineer is to create: The link between engineering and regeneration. **Trends in Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 4–8, 2006.
- [3] TABATA, Y. Significance of release technology REVIEWS. v. 10, n. 23, p. 1639–1646, 2005.
- [4] PRAFULLA K. CHANDRA; SOKER, S.; ATALA, A. Tissue engineering: current status and future perspectives. In: **Principles of Tissue Engineering**. [s.l: s.n.]. p. 1602.
- [5] GRIFFIN, M. et al. The Current Versatility of Polyurethane Three-Dimensional Printing for Biomedical Applications. **Tissue Engineering - Part B: Reviews**, v. 26, n. 3, p. 272–283, 2020.
- [6] NEREM, R. M. The Challenge of Imitating Nature. In: **Principles of Tissue Engineering**. 3. ed. [s.l: s.n.].
- [7] MATICHESCU, A. et al. Advanced biomaterials and techniques for oral tissue engineering and regeneration—a review. **Materials**, v. 13, n. 22, p. 1–37, 2020.
- [8] DAVE, K.; GOMES, V. G. Interactions at scaffold interfaces: Effect of surface chemistry, structural attributes and bioaffinity. **Materials Science and Engineering C**, v. 105, n. January, 2019.
- [9] TEKNIMED. **EUROSCREW ® PLA & PLA/TCP**. Disponível em: <<https://www.teknimed.com/portfolio-items/euroscREW/>>. Acesso em: 5 aug. 2021.
- [10] ABDULGHANI, S.; MITCHELL, G. R. Biomaterials for in situ tissue regeneration: A review. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, 2019.
- [11] MI, H. Y. et al. Biocompatible, degradable thermoplastic polyurethane based on polycaprolactone-block -polytetrahydrofuran- block -polycaprolactone copolymers for soft tissue engineering. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 5, n. 22, p. 4137–4151, 2017.
- [12] JANOUŠKOVÁ, O. Synthetic Polymer Scaffolds for Soft Tissue Engineering. **PHYSIOLOGICAL RESEARCH**, v. 67, p. 335–348, 2018.

- [13] BEATRICE, C. A. G. et al. Engineering printable composites of poly (ϵ -polycaprolactone) / β -tricalcium phosphate for biomedical applications. **Polymer Composites**, v. 42, n. 3, p. 1198–1213, 2021.
- [14] CHO, Y. S. et al. Assessments of polycaprolactone/hydroxyapatite composite scaffold with enhanced biomimetic mineralization by exposure to hydroxyapatite via a 3D-printing system and alkaline erosion. **European Polymer Journal**, v. 113, n. February, p. 340–348, 2019.
- [15] UNAGOLLA, J. M.; JAYASURIYA, A. C. Enhanced cell functions on graphene oxide incorporated 3D printed polycaprolactone scaffolds. **Materials Science and Engineering C**, v. 102, n. March, p. 1–11, 2019.
- [16] WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 35, n. 10, p. 1217–1256, 2010.
- [17] LABET, M.; THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: A review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 12, p. 3484–3504, 2009.
- [18] BARTNIKOWSKI, M. et al. Degradation mechanisms of polycaprolactone in the context of chemistry, geometry and environment. **Progress in Polymer Science**, v. 96, p. 1–20, 2019.
- [19] MI, H. Y. et al. Morphology, mechanical properties, and mineralization of rigid thermoplastic polyurethane/hydroxyapatite scaffolds for bone tissue applications: Effects of fabrication approaches and hydroxyapatite size. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 5, p. 2324–2337, 2014.
- [20] DATTA, J.; KASPRZYK, P. Thermoplastic polyurethanes derived from petrochemical or renewable resources: A comprehensive review. **Polymer Engineering and Science**, v. 58, p. E14–E35, 2018.
- [21] MOSTAFAVI, F.; GOLSHAN EBRAHIMI, N. Physical characterization and rheological behavior of polyurethane/poly(ϵ -caprolactone) blends, prepared by solution blending using dimethylacetamide. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, n. 5, p. 4091–4099, 5 Sep. 2012.
- [22] BHATTACHARYA, S.; HAILSTONE, R.; LEWIS, C. L. Thermoplastic Blend Exhibiting Shape Memory-Assisted Self-Healing Functionality. **ACS applied materials & interfaces**, v. 12, n. 41, p. 46733–46742, 2020.

- [23] JING, X. et al. Shape memory thermoplastic polyurethane (TPU)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) blends as self-knotting sutures. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 64, p. 94–103, 2016.
- [24] LIN, J. et al. Modification of thermoplastic polyurethane nanofiber membranes by in situ polydopamine coating for tissue engineering. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 41, p. 1–12, 2020.
- [25] PARK, S. A.; LEE, S. H.; KIM, W. D. Fabrication of porous polycaprolactone/hydroxyapatite (PCL/HA) blend scaffolds using a 3D plotting system for bone tissue engineering. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 34, n. 4, p. 505–513, 2011.
- [26] JING, X. et al. Morphology, mechanical properties, and shape memory effects of poly(lactic acid)/ thermoplastic polyurethane blend scaffolds prepared by thermally induced phase separation. **Journal of Cellular Plastics**, v. 50, n. 4, p. 361–379, 2014.
- [27] RAMESH, N.; MORATTI, S. C.; DIAS, G. J. Hydroxyapatite–polymer biocomposites for bone regeneration: A review of current trends. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 106, n. 5, p. 2046–2057, 2018.
- [28] HAN, Y. et al. Three-dimensional printing of hydroxyapatite composites for biomedical application. **Crystals**, v. 11, n. 4, 2021.
- [29] MI, H. Y. et al. Thermoplastic polyurethane/hydroxyapatite electrospun scaffolds for bone tissue engineering: Effects of polymer properties and particle size. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 102, n. 7, p. 1434–1444, 2014.
- [30] KIM, M. H. et al. Quantitative analysis of the role of nanohydroxyapatite (nHA) on 3D-printed PCL/nHA composite scaffolds. **Materials Letters**, v. 220, p. 112–115, 2018.
- [31] BACKES, E. H. et al. Development of poly(ϵ -polycaprolactone)/hydroxyapatite composites for bone tissue regeneration. **Journal of Materials Research**, v. 36, n. 15, p. 3050–3062, 14 Aug. 2021.
- [32] LANGER, R.; VACANTI, J. Tissue engineering. **Science**, v. 260, n. 5110, p. 920–926, 14 May 1993.

- [33] JAMMALAMADAKA, U.; TAPPA, K. Recent advances in biomaterials for 3D printing and tissue engineering. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 9, n. 1, 2018.
- [34] MORENO MADRID, A. P. et al. Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. **Materials Science and Engineering C**, v. 100, n. March, p. 631–644, 2019.
- [35] PUPPI, D. et al. Polymeric materials for bone and cartilage repair. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 35, n. 4, p. 403–440, 2010.
- [36] REZWAN, K. et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 18, p. 3413–3431, 2006.
- [37] LOPES, D. et al. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. **Biomaterials**, v. 185, n. September, p. 240–275, 2018.
- [38] MANZINI, B. M. et al. Advances in Bone tissue engineering: A fundamental review. **Journal of Biosciences**, v. 46, n. 1, 2021.
- [39] CAMPOS, Y. et al. Tissue Engineering: An Alternative to Repair Cartilage. **Tissue Engineering - Part B: Reviews**, v. 25, n. 4, p. 357–373, 2019.
- [40] WANG, X. et al. Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: A review. **Biomaterials**, v. 83, p. 127–141, 2016.
- [41] LEONG, K. **Biomaterials**. Disponível em: <<https://www.journals.elsevier.com/biomaterials>>. Acesso em: 5 aug. 2021.
- [42] RIBAS, R. G. et al. Current advances in bone tissue engineering concerning ceramic and bioglass scaffolds: A review. **Ceramics International**, v. 45, n. 17, p. 21051–21061, 2019.
- [43] PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K; MORAES, A. M. Biomateriais: Tipos, Aplicações e Mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.
- [44] THEWES, R.; POLLA, D. **Biomedical Devices**. 2007 IEEE International Solid-State Circuits Conference. Digest of Technical Papers. **Anais...IEEE**, Feb. 2007 Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/document/4242309/>>
- [45] ALVAREZ, K.; NAKAJIMA, H. Metallic scaffolds for bone regeneration. **Materials**, v. 2, n. 3, p. 790–832, 2009.

- [46] BACKES, E. H. et al. Engineering 3D printed bioactive composite scaffolds based on the combination of aliphatic polyester and calcium phosphates for bone tissue regeneration. **Materials Science and Engineering C**, v. 122, 2021.
- [47] BACKES, E. H. et al. Fabrication of Biocompatible Composites of Poly(lactic acid)/Hydroxyapatite Envisioning Medical Applications. **Polymer Engineering and Science**, v. 60, n. 3, p. 636–644, 2020.
- [48] CHEN, Q. et al. 3D printing biocompatible polyurethane/poly(lactic acid)/graphene oxide nanocomposites: Anisotropic properties. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, n. 4, p. 4015–4023, 2017.
- [49] ARORA, A.; KOTHARI, A.; KATTI, D. S. Pore orientation mediated control of mechanical behavior of scaffolds and its application in cartilage-mimetic scaffold design. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 51, p. 169–183, 2015.
- [50] MABROUK, M.; BEHEREI, H. H.; DAS, D. B. Recent progress in the fabrication techniques of 3D scaffolds for tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 110, n. February, p. 110716, 2020.
- [51] KOYYADA, A.; ORSU, P. Recent Advancements and Associated Challenges of Scaffold Fabrication Techniques in Tissue Engineering Applications. **Regenerative Engineering and Translational Medicine**, v. 7, n. 2, p. 147–159, 2021.
- [52] ANNAJI, M. et al. Application of Extrusion-Based 3D Printed Dosage Forms in the Treatment of Chronic Diseases. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 109, n. 12, p. 3551–3568, 2020.
- [53] GLEADALL, A. et al. Review of additive manufactured tissue engineering scaffolds: relationship between geometry and performance. **Burns & Trauma**, v. 6, p. 1–16, 2018.
- [54] GUVENDIREN, M. et al. Designing Biomaterials for 3D Printing. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 2, n. 10, p. 1679–1693, 2016.
- [55] KHAKBAZ, H. et al. 3D printing of highly flexible, cytocompatible nanocomposites for thermal management. **Journal of Materials Science**, v. 56, n. 10, p. 6385–6400, 3 Apr. 2021.
- [56] JAVNI, I. et al. Thermoplastic polyurethanes with controlled morphology

based on methylenediphenyldiisocyanate/isosorbide/butanediol hard segments.

Polymer International, v. 64, n. 11, p. 1607–1616, 2015.

[57] BASF. Thermoplastic Polyurethane elastomers (TPU). p. 1–12, 2011.

[58] ZHANG, C. et al. Theoretical study of hydrogen bonding interactions on MDI-based polyurethane. **Journal of Molecular Modeling**, v. 16, n. 8, p. 1391–1399, 2010.

[59] GORBUNOVA, M. A.; ANOKHIN, D. V.; BADAMSHINA, E. R. Recent Advances in the Synthesis and Application of Thermoplastic Semicrystalline Shape Memory Polyurethanes. **Polymer Science - Series B**, v. 62, n. 5, p. 427–450, 2020.

[60] BUSINESS WIRE 2021. The “Thermoplastic Polyurethane (TPU) Market - Growth, Trends, COVID-19 Impact, and Forecasts (2021 - 2026).” [s.d.].

[61] MISTRY, P. et al. Fabrication and characterization of starch-TPU based nanofibers for wound healing applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 119, n. December 2019, p. 111316, 2021.

[62] DRUPITHA, M. P. et al. Morphology-induced physico-mechanical and biological characteristics of TPU–PDMS blend scaffolds for skin tissue engineering applications. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 107, n. 5, p. 1634–1644, 2019.

[63] KHAKBAZ, H. et al. 3D printing of highly flexible, cytocompatible nanocomposites for thermal management. **Journal of Materials Science**, v. 56, n. 10, p. 6385–6400, 2021.

[64] HARYŃSKA, A. et al. Medical-grade PCL based polyurethane system for FDM 3D printing-characterization and fabrication. **Materials**, v. 16, n. 6, 2019.

[65] CUI, Z. et al. Porous 3-D thermoplastic polyurethane (TPU) scaffold modified with hydroxyapatite (HA) nanoparticles using an ultrasonic method. **Journal of Materials Science**, v. 54, n. 16, p. 11231–11242, 2019.

[66] BI, H. et al. Fabrication of cellulose nanocrystal reinforced thermoplastic polyurethane/polycaprolactone blends for three-dimension printing self-healing nanocomposites. **Cellulose**, v. 27, n. 14, p. 8011–8026, 2020.

[67] MI, H. Y. et al. Characterization of thermoplastic polyurethane/polylactic acid (TPU/PLA) tissue engineering scaffolds fabricated by microcellular injection

- molding. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 8, p. 4767–4776, 2013.
- [68] M.P., D. et al. Hybrid electrospun fibers based on TPU-PDMS and spherical nanohydroxyapatite for bone tissue engineering. **Materials Today Communications**, v. 16, p. 264–273, Sep. 2018.
- [69] JING, X. et al. Electrospinning thermoplastic polyurethane/graphene oxide scaffolds for small diameter vascular graft applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 49, p. 40–50, 2015.
- [70] SADEGHIANMARYAN, A. et al. Electrospinning of polyurethane/graphene oxide for skin wound dressing and its in vitro characterization. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 35, n. 1, p. 135–145, 2020.
- [71] FOLINO, A. et al. Biodegradation of Wasted Bioplastics in Natural and Industrial Environments: A Review. **Sustainability**, v. 12, n. 15, p. 6030, 27 Jul. 2020.
- [72] HAGER, M. D. et al. Shape memory polymers: Past, present and future developments. **Progress in Polymer Science**, v. 49–50, p. 3–33, Oct. 2015.
- [73] HORNAT, C. C.; URBAN, M. W. Shape memory effects in self-healing polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 102, p. 101208, Mar. 2020.
- [74] MELLY, S. K. et al. Active composites based on shape memory polymers: overview, fabrication methods, applications, and future prospects. **Journal of Materials Science**, v. 55, n. 25, p. 10975–11051, 22 Sep. 2020.
- [75] PISANI, S. et al. Shape-Memory Polymers Hallmarks and Their Biomedical Applications in the Form of Nanofibers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1290, 24 Jan. 2022.
- [76] AJILI, S. H.; EBRAHIMI, N. G. Miscibility of TPU(PCL diol)/PCL blend and its effects on PCL crystallinity. **Macromolecular Symposia**, v. 249–250, n. 3381, p. 623–627, 2007.
- [77] XU, X. et al. Self-healing thermoplastic polyurethane (TPU)/polycaprolactone (PCL) /multi-wall carbon nanotubes (MWCNTs) blend as shape-memory composites. **Composites Science and Technology**, v. 168, p. 255–262, Nov. 2018.
- [78] QU, M. et al. A thermally-electrically double-responsive polycaprolactone – thermoplastic polyurethane/multi-walled carbon nanotube fiber assisted with

highly effective shape memory and strain sensing performance. **Chemical Engineering Journal**, v. 427, n. April 2021, p. 131648, Jan. 2022.

[79] TONNDORF, R.; AIBIBU, D.; CHERIF, C. Thermo-responsive Shape Memory Fibers for Compression Garments. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 2989, 15 Dec. 2020.

[80] BI, H. et al. Near infrared-induced shape memory polymer composites with dopamine-modified multiwall carbon nanotubes via 3D-printing. **European Polymer Journal**, v. 136, n. May, p. 109920, 2020.

[81] REN, D. et al. High-efficiency dual-responsive shape memory assisted self-healing of carbon nanotubes enhanced polycaprolactone/thermoplastic polyurethane composites. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 580, n. June, p. 123731, 2019.

[82] RHOON, G. C. V. et al. CEM43°C thermal dose thresholds: a potential guide for magnetic resonance radiofrequency exposure levels? **European Radiology**, v. 23, n. 8, p. 2215–2227, 4 Aug. 2013.

[83] PEARCE, J. A. Comparative analysis of mathematical models of cell death and thermal damage processes. **International Journal of Hyperthermia**, v. 29, n. 4, p. 262–280, 2013.

[84] SAPARETO, S. A.; DEWEY, W. C. Thermal dose determination in cancer therapy. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 10, n. 6, p. 787–800, 1984.

[85] KNIHA, K. et al. Temperature Threshold Values of Bone Necrosis for Thermo-Explantation of Dental Implants—A Systematic Review on Preclinical In Vivo Research. **Materials**, v. 13, n. 16, p. 3461, 6 Aug. 2020.

[86] DOROZHKIN, S. S. V. Bioceramics of calcium orthophosphates. **Biomaterials**, v. 31, n. 7, p. 1465–85, Mar. 2010.

[87] HANNINK, G.; ARTS, J. J. C. Bioresorbability, porosity and mechanical strength of bone substitutes: What is optimal for bone regeneration? **Injury**, v. 42, p. S22--S25, 2011.

[88] ALMELA, T. et al. Simulation of cortico-cancellous bone structure by 3D printing of bilayer calcium phosphate-based scaffolds. **Bioprinting**, v. 6, p. 1–7, Jun. 2017.

[89] SHUAI, C. et al. Water-responsive shape memory thermoplastic

polyurethane scaffolds triggered at body temperature for bone defect repair.

Materials Chemistry Frontiers, v. 6, n. 11, p. 1456–1469, 2022.

[90] LI, C. et al. Studies of 4,4'-diphenylmethane diisocyanate (MDI)/1,4-butanediol (BDO) based TPUs by in situ and moving-window two-dimensional correlation infrared spectroscopy: Understanding of multiple DSC endotherms from intermolecular interactions and motions level. **Polymer**, v. 53, n. 23, p. 5423–5435, 2012.

[91] KOBERSTEIN, J. T.; RUSSELL, T. P. Simultaneous SAXS-DSC study of multiple endothermic behavior in polyether-based polyurethane block copolymers. **Macromolecules**, v. 19, n. 3, p. 714–720, 1 Mar. 1986.

[92] SEYMOUR, R. W.; COOPER, S. L. Thermal Analysis of Polyurethane Block Polymers. **Macromolecules**, v. 6, n. 1, p. 48–53, 1 Jan. 1973.

[93] HOSSIENY, N. J. et al. Crystallization of hard segment domains with the presence of butane for microcellular thermoplastic polyurethane foams. **Polymer**, v. 55, n. 2, p. 651–662, 2014.

[94] GAYMANS, R. J. Segmented copolymers with monodisperse crystallizable hard segments: Novel semi-crystalline materials. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 36, n. 6, p. 713–748, 2011.

[95] NAIR, P. R.; NAIR, C. P. R.; FRANCIS, D. J. Phosphazene-modified polyurethanes: Synthesis, mechanical and thermal characteristics. **European Polymer Journal**, v. 32, n. 12, p. 1415–1420, Dec. 1996.

[96] FINNIGAN, B. et al. Morphology and properties of thermoplastic polyurethane nanocomposites incorporating hydrophilic layered silicates. **Polymer**, v. 45, n. 7, p. 2249–2260, Mar. 2004.

[97] YANG, W. P.; MACOSKO, C. W.; WELLINGHOFF, S. T. Thermal degradation of urethanes based on 4,4'-diphenylmethane diisocyanate and 1,4-butanediol (MDI/BDO). **Polymer**, v. 27, n. 8, p. 1235–1240, Aug. 1986.

[98] HENTSCHEL, T.; MÜNSTEDT, H. Kinetics of the molar mass decrease in a polyurethane melt: a rheological study. **Polymer**, v. 42, n. 7, p. 3195–3203, Mar. 2001.

[99] HUANG, B.; BÁRTOLO, P. J. Rheological characterization of polymer/ceramic blends for 3D printing of bone scaffolds. **Polymer Testing**, v.

68, n. April, p. 365–378, 2018.

[100] IGNJATOVIC, N. et al. Evaluation of hot-pressed hydroxyapatite/poly-L-lactide composite biomaterial characteristics. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 71B, n. 2, p. 284–294, 15 Nov. 2004.

[101] ASLZADEH, M. M.; ABDOUSS, M.; SADEGHI, G. M. M. Preparation and characterization of new flame retardant polyurethane composite and nanocomposite. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, n. 3, p. 1683–1690, 2013.

[102] QI, S. et al. Versatile magnetorheological plastomer with 3D printability, switchable mechanics, shape memory, and self-healing capacity. **Composites Science and Technology**, v. 183, n. September, p. 107817, 2019.

[103] MI, H.-Y. et al. Manipulating the structure and mechanical properties of thermoplastic polyurethane/polycaprolactone hybrid small diameter vascular scaffolds fabricated via electrospinning using an assembled rotating collector. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 78, p. 433–441, Feb. 2018.

[104] GUIMARÃES, C. F. et al. The stiffness of living tissues and its implications for tissue engineering. **Nature Reviews Materials**, v. 5, n. 5, p. 351–370, 21 May 2020.

[105] CHO, Y. S. et al. Strategy for enhancing mechanical properties and bone regeneration of 3D polycaprolactone kagome scaffold: Nano hydroxyapatite composite and its exposure. **European Polymer Journal**, v. 134, n. May, p. 109814, 2020.

[106] ELIAZ, N.; METOKI, N. Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. **Materials**, v. 10, n. 4, p. 334, 24 Mar. 2017.

[107] ZHANG, Y. et al. 3D-printed NIR-responsive shape memory polyurethane/magnesium scaffolds with tight-contact for robust bone regeneration. **Bioactive Materials**, v. 16, n. December 2021, p. 218–231, Oct. 2022.

[108] LENDLEIN, A.; LANGER, R. Biodegradable, Elastic Shape-Memory Polymers for Potential Biomedical Applications. **Science**, v. 296, n. 5573, p.

1673–1676, 31 May 2002.

APÊNDICE A

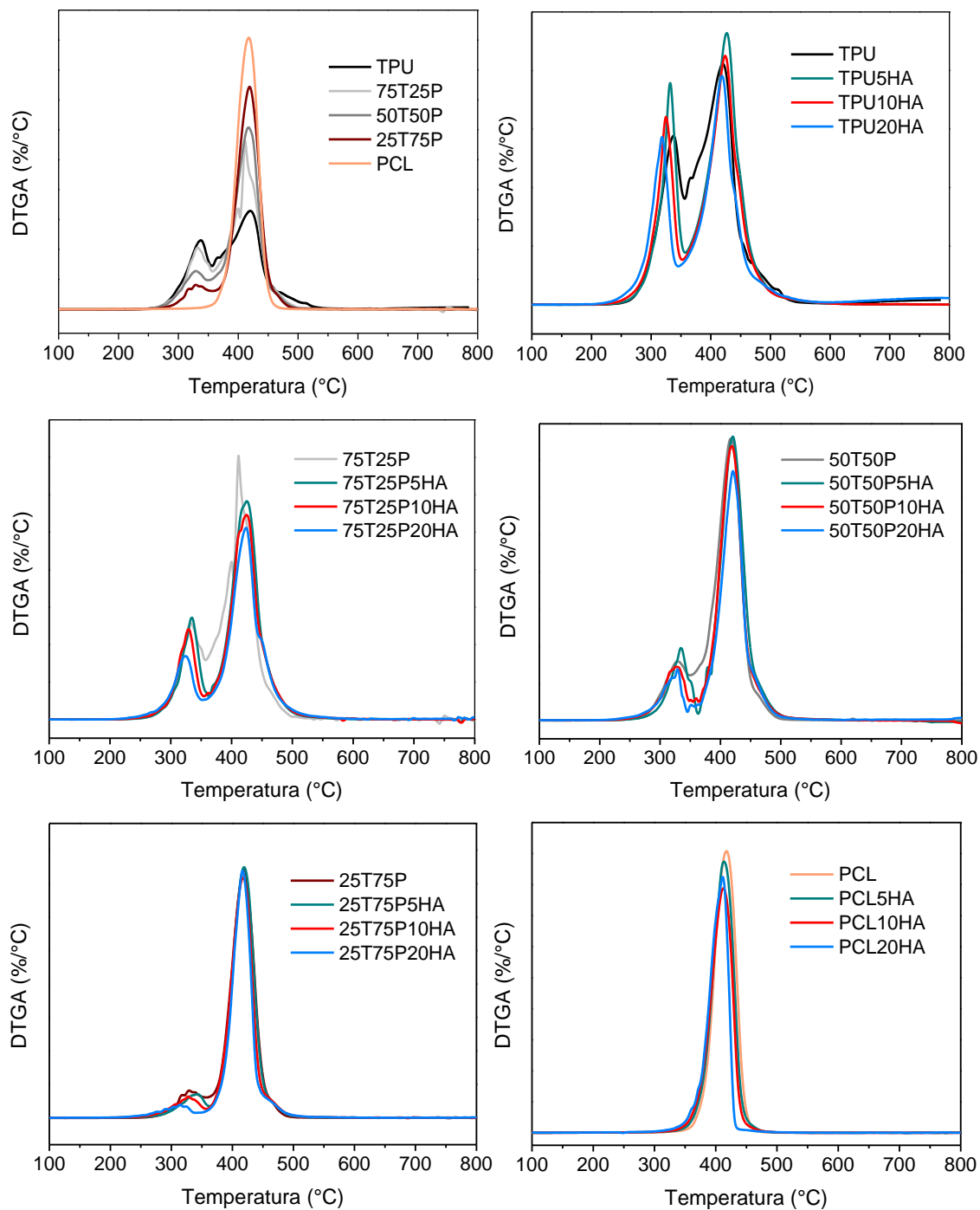


Figura A.1 - Derivada das curvas de TGA para todas as formulações estudadas.

APÊNDICE B

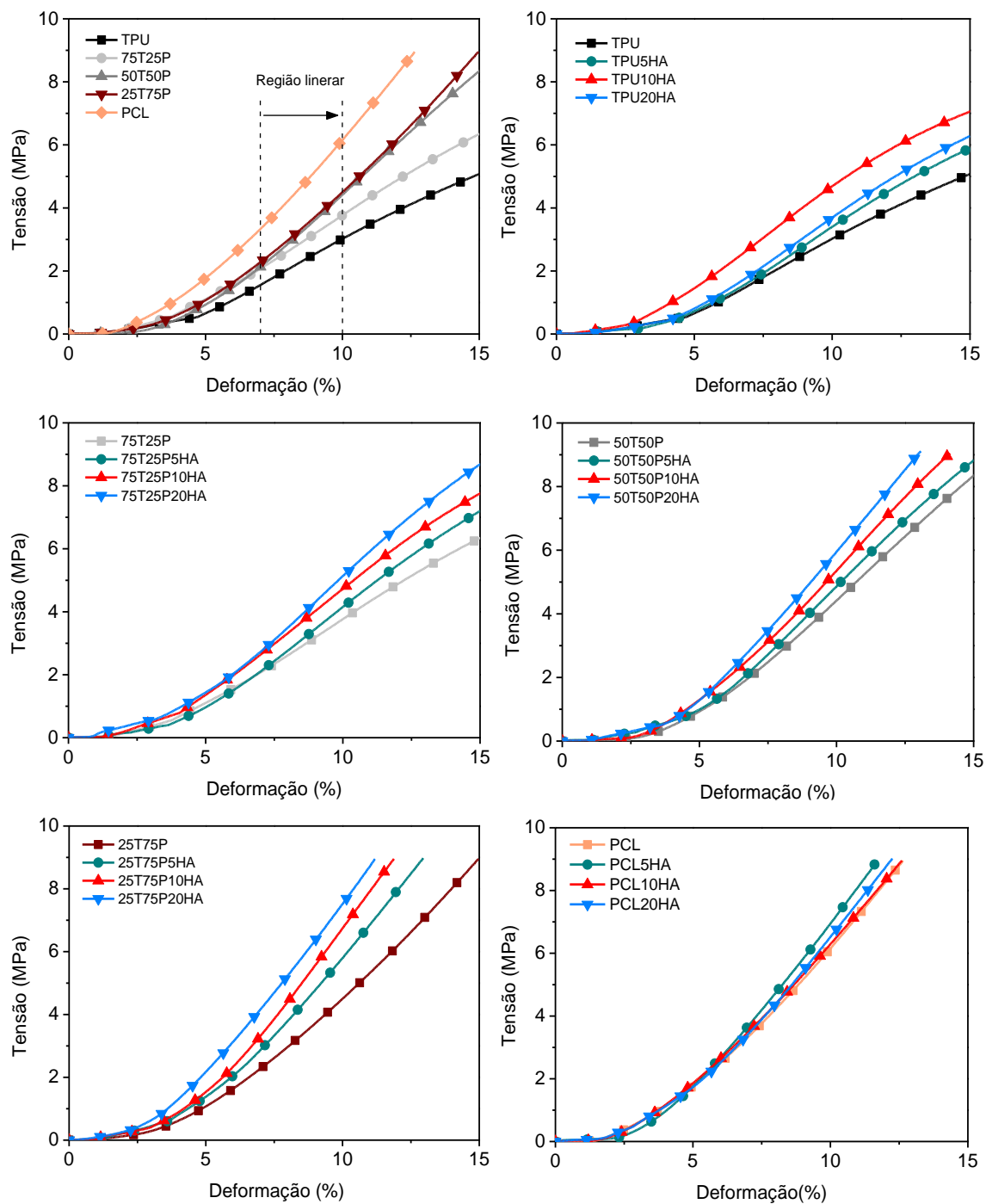


Figura B.1 - Curvas de tensão versus deformação do TPU, PCL, blendas e seus respectivos biocompósitos, processados via misturador interno e prensados a 210 °C.

APÊNDICE C

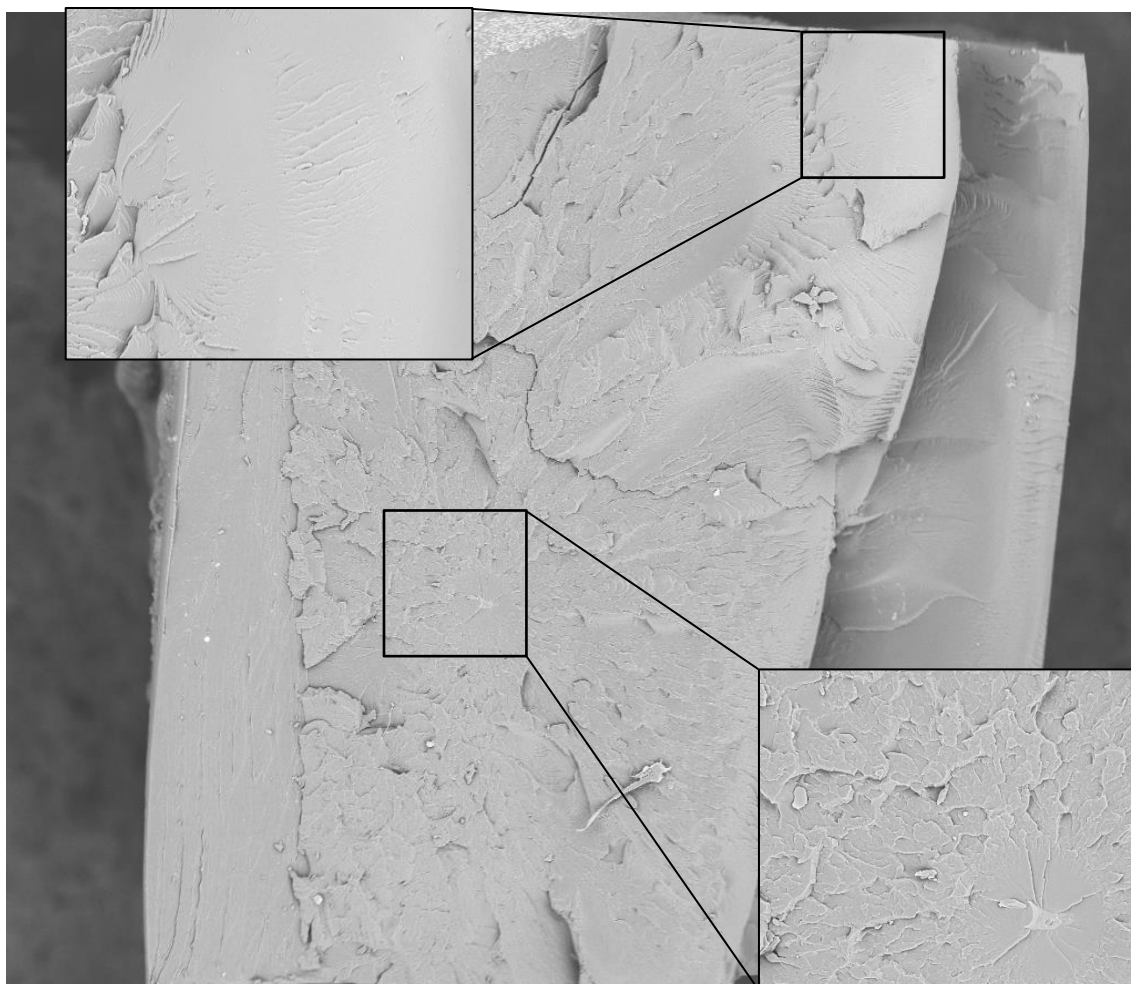


Figura C.1 - Morfologia da superfície de fratura do TPU, são destacadas regiões lisas e com estrias.

APÊNDICE D

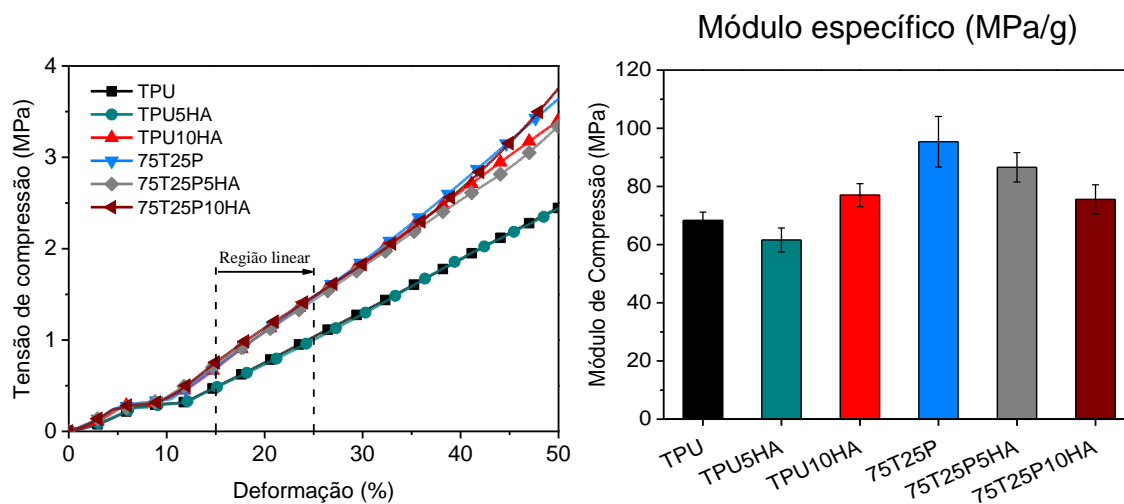


Figura D.1 - Curvas de tensão *versus* deformação do scaffolds no ensaio de compressão e os valores de módulos específicos calculados.

APÊNDICE E

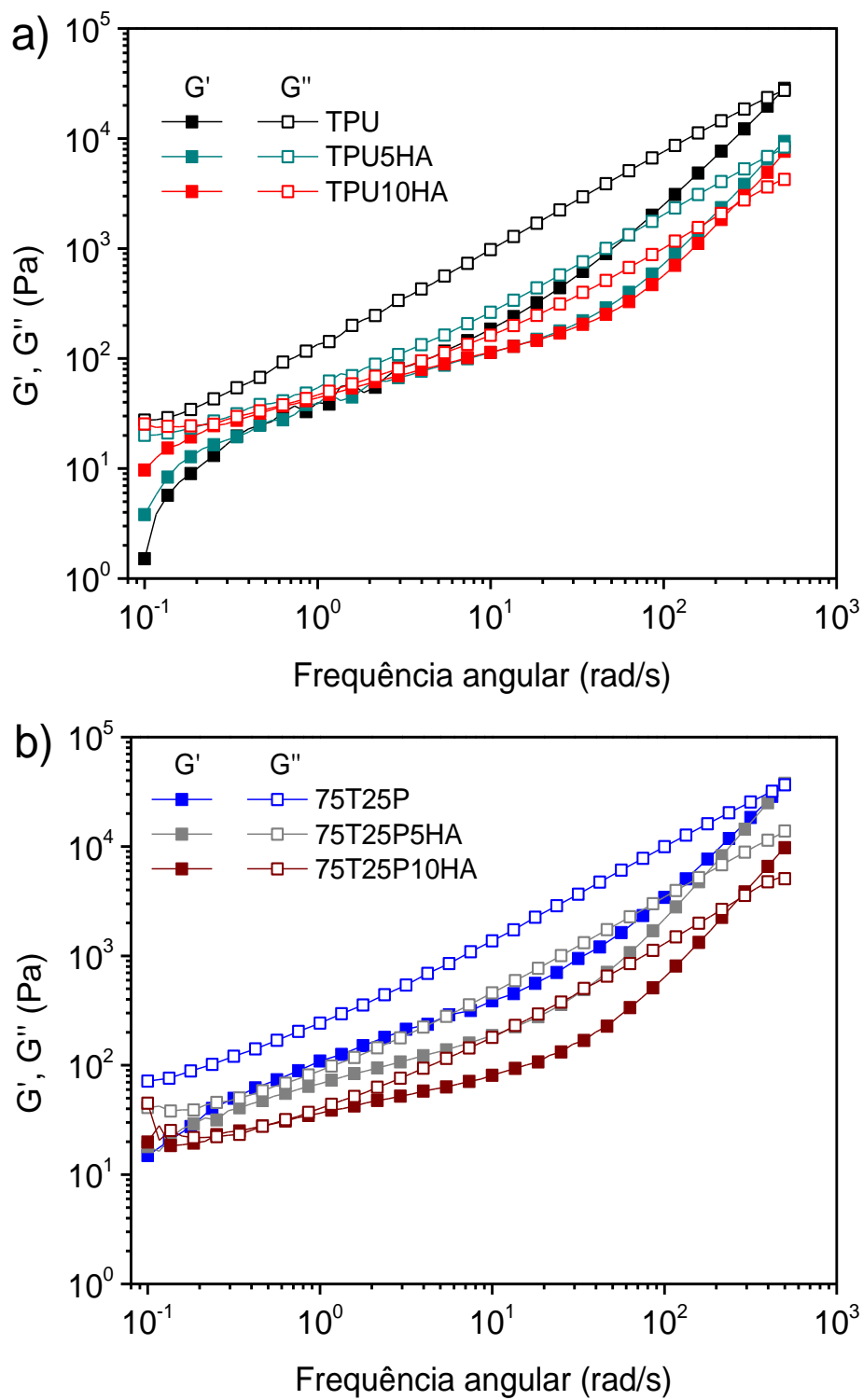


Figura E.1 – Curvas de G'' e G' versus frequência angular para (a) TPU, (b) 75T25P e seus respectivos biocompósitos.