



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**ENGENHARIA DOS MATERIAIS**

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE BLENDS DE PVA/PEG E SCAFFOLDS  
DE PVA/PEG/NB<sub>x</sub>/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL**

**Doutorando: Raimundo Miguel da Silva Júnior**

**Orientador (a): Prof.<sup>a</sup> Dra. Durcilene Alves da Silva**

**Coorientador (a): Prof. Dr. Vicente Gálber Freitas Viana**

**Teresina – Piauí**

**2021**

**RAIMUNDO MIGUEL DA SILVA JÚNIOR**

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE BLENDS DE PVA/PEG E SCAFFOLDS  
DE PVA/PEG/NB<sub>x</sub>/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito obrigatório à obtenção do título de Doutorado em Ciência e Engenharia dos Materiais.

**Orientador (a): Prof.<sup>a</sup> Dra. Durcilene Alves da Silva**

**Coorientador (a): Prof. Dr. Vicente Gálber Freitas Viana**

**Teresina-Piauí**

**2021**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco  
Serviço de Processos Técnicos

S586d Silva Júnior, Raimundo Miguel da.  
Desenvolvimento e avaliação de blendas de PVA/PEG e  
Scaffolds de PVA/PEG/NBx/HA para regeneração tecidual /  
Raimundo Miguel da Silva Júnior. – 2021.  
106 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais, Teresina,  
2021.  
“Orientadora: Profª. Drª. Durcilene Alves da Silva.”  
“Coorientador: Prof. Dr. Vicente Gálber Freitas Viana.”

1. PVA. 2. Scaffolds. 3. Biomateriais. 4. Atividade citológica.  
5. Regeneração tecidual. I. Silva, Durcilene Alves da. II. Viana,  
Vicente Gálber Freitas. III. Título.

CDD 620.112



**FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE**

**DISCENTE: RAIMUNDO MIGUEL DA SILVA JÚNIOR**

**TÍTULO DA TESE:** “DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE BLENDS DE PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NBx/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL”.

**ORIENTADORA:** Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva

**BANCA EXAMINADORA:**

**ASSINATURA**

Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva – UFDP  
(Orientadora-Presidente)

Prof. Dr. Vicente Gálber Freitas Viana – IFPI  
(Coorientador)

ACESSO REMOTO

Prof. Dr. Heurison de Sousa e Silva – UFPI  
(Examinador Externo ao Programa)

ACESSO REMOTO

Prof. Dr. Luiz Fernando Meneses Carvalho – IFPI  
(Examinador Externo à Instituição)

ACESSO REMOTO

Profa. Dra. Deuzuita dos Santos Freitas Viana – UEMA  
(Examinadora Externa à Instituição)

ACESSO REMOTO

Prof. Dr. Roosevelt Delano de Sousa Bezerra – IFPI  
(Examinador Externo à Instituição)

ACESSO REMOTO

**DATA DA AVALIAÇÃO:** 29 de Janeiro de 2021.

**HORÁRIO:** 08:30h

**LOCAL:** Comunicação remota via Webconferência

## DEDICATÓRIA

A Deus meu criador e porto seguro e a Nossa Senhora do Perpétuo do Socorro, pela sua intervenção divina.

Aos meus pais Raimundo Miguel da Silva e Meirinalva de Sousa Amorim da Silva, pelo amor e dedicação, e por sempre estarem ao meu lado, apoiando-me nos momentos difíceis e ensinando-me a perseverar nos meus sonhos.

A minha esposa pela força e confiança.

As minhas pequenas e amáveis Maria Júlia e Alicia, pela inspiração e motivação.

As minhas irmãs pelo carinho e apoio em especial a Marciane (*in memoria*).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo e por ter me dado à oportunidade de estar aqui hoje, pelo amor incondicional dispensado a mim e minha família, obrigado meu Deus, muito obrigado.

Aos meus pais pelo amor, compreensão, dedicação e apoio incondicional.

As minhas filhas pelo carinho.

A minha esposa pela motivação.

Agradeço a Profa. Dra. Durcilene Alves pela orientação, compreensão e pelos ensinamentos dedicados a mim.

Ao Prof. Dr. Vicente Gálber por sua contribuição como Co-Orientador e atribuições dedicados a essa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Heurisson pela participação nas bancas examinadoras deste trabalho e que muito contribuiu para os conhecimentos construídos.

A Profa. Dra. Deuzuita pela participação nas bancas examinadoras deste trabalho e por vários ensinamentos durante a conclusão desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Roosevelt/IFPI pelo aceite em participar da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. José Milton pelo aceite em participar da banca examinadora e por sua contribuição e crítica construtiva referente a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Meneses Carvalho/IFPI pelo aceite em participar da banca examinadora.

A Coordenação do Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados/LIMAV/CCN pelo espaço concedido para realização de grande parte da pesquisa experimental.

Ao Instituto Federal do Piauí (IFPI) pelos espaços concedidos para realização da pesquisa experimental.

Enfim, agradeço a todos que me acompanharam durante toda essa jornada e que de alguma forma contribuíram para a realização dessa pesquisa e também para o meu crescimento pessoal.

**SILVA, Raimundo Miguel da Silva Júnior, Desenvolvimento e Avaliação de Blendas de PVA/PEG e Scaffolds de PVA/PEG/NBx/HA regeneração tecidual, 2021. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Piauí, Teresina.**

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	VII
LISTA DE EQUAÇÕES .....	VIII
LISTA DE FIGURAS .....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	XI
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
INTRODUÇÃO .....	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	7

### **CAPÍTULO I: DESENVOLVIMENTO VIA INTERCALAÇÃO POR SOLUÇÃO DE BLENDS DE PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NORBIXINA/HIDROXIAPATITA: UMA REVISÃO** .....

8

<b>RESUMO</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
1. INTRODUÇÃO .....	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	17
2.1 SCAFFOLDS .....	17
2.2 REQUISITOS DE UM SCAFFOLD .....	20
2.2.1 BIOCAMPATIBILIDADE .....	20
2.2.2 BIOATIVIDADE .....	20
2.2.3 PROPRIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS E MECÂNICAS .....	20
2.2.4 BIODEGRADAVÉIS .....	21
3. TIPOS DE MATERIAIS UTILIZADOS .....	21
3.1 MATERIAIS METÁLICOS .....	22
3.2 MATERIAIS CERÂMICOS .....	24
3.2.1 HIDROXIAPATITA (HA) .....	27
3.3 MATERIAIS POLIMÉRICOS .....	29
3.3.1 POLI (ÁLCOOL) VINILICO (PVA) .....	31
3.3.2 POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) .....	35
3.4 MATERIAIS COMPÓSITOS .....	36
4. NORBIXINA (NB <sub>x</sub> ) .....	37
5. CONCLUSÃO .....	40

6.REFERÊNCIAS.....	42
--------------------	----

**CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO DE BLENDS E SCAFFOLDS FORMADOS A PARTIR DE PVA/PEG/NBx/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA ..... 52**

<b>RESUMO .....</b>	<b>54</b>
---------------------	-----------

<b>ABSTRACT .....</b>	<b>55</b>
-----------------------	-----------

1. INTRODUÇÃO .....	56
---------------------	----

2. PARTE EXPERIMENTAL .....	59
-----------------------------	----

2.1 MATERIAIS.....	59
--------------------	----

2.1.1 MATRIZ.....	59
-------------------	----

2.1.2 PLASTIFICANTE .....	60
---------------------------	----

2.1.3 NORBIXINA (NBx) .....	60
-----------------------------	----

2.1.4 REAGENTE .....	60
----------------------	----

2.1.5 REAGENTES COMPLEMENTARES .....	60
--------------------------------------	----

2.2 MÉTODOS .....	61
-------------------	----

2.2.1 SÍNTESE DA NORBIXINA .....	61
----------------------------------	----

2.2.2 SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA .....	61
---------------------------------------	----

2.2.3 PROCESSO DE PREPARAÇÃO DA BLENDAS E DOS SCAFFOLDS .....	62
---	----

2.3 CARACTERIZAÇÕES.....	62
--------------------------	----

2.3.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	62
--	----

2.3.2 Difração de Raios- X (DRX) .....	63
--	----

2.3.3 Termogravimetria (TG) .....	63
-----------------------------------	----

2.3.4 Microscopia Óptica (MO).....	63
------------------------------------	----

2.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	63
---	----

2.3.6 Propriedades Mecânicas .....	63
------------------------------------	----

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
--------------------------------	----

3.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	64
--	----

3.2 Difração de Raios- X (DRX) .....	67
--------------------------------------	----

3.3 Termogravimetria (TG).....	71
--------------------------------	----

3.4 Microscopia Óptica (MO) .....	76
-----------------------------------	----

3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	77
---	----

3.6 Propriedades Mecânicas .....	79
----------------------------------	----

4. CONCLUSÃO .....	81
--------------------	----



5. REFERÊNCIAS.....	83
---------------------	----

**CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DE HEMOCOMPATIBILIDADE DE FILMES FINOS DE POLI (ÁLCOOL VINILICO) (PVA) / POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) / NORBIXINA (NB<sub>x</sub>) / HIDROXIAPATITA PARA FINS TECIDUAIS ÓSSEOS**

.....	91
<b>RESUMO</b> .....	93
<b>ABSTRACT</b> .....	94
1. INTRODUÇÃO .....	95
2. PARTE EXPERIMENTAL .....	98
2.1 MATERIAIS.....	98
2.1.1 MATRIZ.....	98
2.1.2 PLASTIFICANTE .....	98
2.1.3 NORBIXINA (NB <sub>x</sub> ) .....	99
2.1.4 REAGENTE .....	99
2.1.5 REAGENTES COMPLEMENTARES .....	99
2.2 MÉTODOS .....	99
2.2.1 SÍNTESE DA NORBIXINA .....	99
2.2.2 SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA .....	100
2.2.3 PROCESSO DE PREPARAÇÃO DA BLENDAS E DOS SCAFFOLDS .....	100
2.3 CARACTERIZAÇÕES.....	101
2.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....	101
2.4.1 Atividade Antimicrobiana .....	101
2.4.2 Avaliação de Hemocompatibilidade .....	101
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	102
3.7 Atividade Antimicrobiana .....	102
3.8 Avaliação de Hemocompatibilidade .....	103
4. CONCLUSÃO .....	104
5. REFERÊNCIAS.....	104

## LISTA DE TABELAS

### **CÁPITULO I: DESENVOLVIMENTO VIA INTERCALAÇÃO POR SOLUÇÃO DE BLENDA DE PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NORBIXINA/HIDROXIAPATITA: UMA REVISÃO**

### **CÁPITULO II: CARACTERIZAÇÃO DE BLENDA E SCAFFOLDS FORMADOS A PARTIR DE PVA/PEG/NBx/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA**

Tabela 2.1- Reagentes .....	60
Tabela 2.2- Concentrações de PVA, PEG, NBx e HA .....	62
Tabela 3.1- Temperatura máxima de decomposição e perda de massa para PVA, NBx, PEG, HA, PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA .....	75
Tabela 3.2- Valores do módulo de elasticidade e resistência máxima a tração para PVA, PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA .....	80

### **CÁPITULO III: AVALIAÇÃO DE HEMOCOMPATIBILIDADE DE FILMES FINOS DE POLI (ÁLCOOL VINILICO) (PVA) / POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) / NORBIXINA (NBx) / HIDROXIAPATITA PARA FINS TECIDUAIS ÓSSEOS**

Tabela 2.1- Reagentes .....	99
Tabela 2.2- Concentrações de PVA, PEG, NBx e HA .....	101

## LISTA DE EQUAÇÕES

### **CÁPITULO I: DESENVOLVIMENTO VIA INTERCALAÇÃO POR SOLUÇÃO DE BLENDA DE PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NORBIXINA/HIDROXIAPATITA: UMA REVISÃO**

### **CÁPITULO II: CARACTERIZAÇÃO DE BLENDA E SCAFFOLDS FORMADOS A PARTIR DE PVA/PEG/NBx/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA**

Equação 2.1- Formulação da hidroxiapatita..... 71

### **CÁPITULO III: AVALIAÇÃO DE HEMOCOMPATIBILIDADE DE FILMES FINOS DE POLI (ÁLCOOL VINILICO) (PVA) / POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) / NORBIXINA (NBx) / HIDROXIAPATITA PARA FINS TECIDUAIS ÓSSEOS**

Equação 2.1- Formulação da hidroxiapatita..... 100

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPITULO I: DESENVOLVIMENTO VIA INTERCALAÇÃO POR SOLUÇÃO DE BLENDDAS DE PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NORBIXINA/HIDROXIAPATITA: UMA REVISÃO**

Figura 1- Esquema representativo das etapas de processamento de materiais aplicáveis na engenharia de tecidos .....	18
Figura 2- Classificação quanto ao tipo de scaffold.....	19
Figura 3- Estrutura da hidroxiapatita .....	28
Figura 4- Representação esquemática das reações de polimerização e hidrólise para obtenção do copolímero poli (álcool) vinílico (PVA .....	31
Figura 5- Estrutura química do poli (etileno) glicol .....	36
Figura 6- a) Urucuzeiro b) Fruto com sementes de urucum .....	38
Figura 7- Estrutura química a) cis-bixina b) cis-norbixina .....	38
Figura 8- Reação de saponificação em meio alcalino para obtenção da norbixina .....	39

### **CÁPITULO II: CARACTERIZAÇÃO DE BLENDDAS E SCAFFOLDS FORMADOS A PARTIR DE PVA/PEG/NBx/HA PARA REGENERAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA**

Figura 3.1- Espectros de infravermelho do PVA, PVA/PEG, NBx, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA.....	64
Figura 3.2- Difratoogramas de raios-X do HA, PVA e NBx .....	68
Figura 3.3- Difratoogramas de raios-X do PVA/PEG, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. 69	
Figura 3.4- Curvas de TG para HA, NBx, PVA e PEG.....	71
Figura 3.5- Curvas de DTG para HA, NBx, PVA e PEG .....	72
Figura 3.6- Curvas de TG para PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA .....	73

Figura 3.7- Curvas de DTG para PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	74
Figura 3.8- Micrografia óptica do PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	76
Figura 3.9- Micrografia por (SEM) para PVA, PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	77
Figura 3.10- Curvas de tensão e deformação para PVA, PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	80
Figura 3.11- Módulo de elasticidade para PVA, PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	80
 <b>CÁPITULO III: AVALIAÇÃO DE HEMOCOMPATIBILIDADE DE FILMES FINOS DE POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) (PVA) / POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) / NORBIXINA (NB<sub>x</sub>) / HIDROXIAPATITA PARA FINS TECIDUAIS ÓSSEOS</b>	
Figura 3.12- Testes microbiológicos para PVA, PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	102
Figura 3.13- Testes de hemocompatibilidade para PVA, PVA/PEG, PVA/NB <sub>x</sub> , PVA/PEG/NB <sub>x</sub> e PVA/PEG/NB <sub>x</sub> /HA .....	104

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ASTM- American Society for Testing and Materials  
CEN- Comité Européen de Normalizations  
DRX- Difração de raios-X  
TG- Termogravimetria  
DTG- Termogravimetria Diferencial  
MO- Microscopia óptica  
FTIR- Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier  
 $H_f^\circ$ - entalpia de fusão padrão  
 $H_f$ - entalpia de fusão  
IPT- Instituto de pesquisa Tecnológica  
ISSO- International Organization for Standardization  
JIS- Japanese Institute for Standardization  
MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura  
MM- massa molar  $g/mol^{-1}$   
PBS- Poli (butireno-succinato)  
PCL- Poli (caprolactona)  
PEG- Poli (etileno) glicol  
PGA- Ácido glicólico  
PGLA- Ácido (glicólico) ácido (lático)  
PHA- Poli (hidroxialcanoato)  
PHB- Poli (3-hidroxibutirato)  
PHB-PHBV- (hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)  
PHV- (Polihidroxibutirato-co-valerato)  
PLA- Poliláctideo  
PU- Poliuretano  
PVOH- Poli (álcool- vinílico)  
PEO- Poli (óxido) etileno  
CS- Quitosana  
HA- Hidroxiapatita  
NBx- Norbixina

MEC- Matriz extracelular  
PBS- Solução tampão  
TRITON-X- Controle positivo  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)- Fosfato de amônio dibásico  
Ca(OH)<sub>2</sub>- Hidróxido de cálcio  
HCl- Ácido clorídrico  
(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO- Dimetilsulfóxido  
NaOH- Hidróxido de sódio  
KOH- Hidróxido de potássio  
CHCl<sub>3</sub>- Clorofórmio  
C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>- Hexano  
E- Módulo de elasticidade  
θ(max)- Resistência máxima a tração

**SILVA, Raimundo Miguel da Silva Júnior, Desenvolvimento e Avaliação de Blendas de PVA/PEG e Scaffolds de PVA/PEG/NBx/HA para Regeneração Tecidual, 2021.** Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais) – Programa de Pós-graduação em Ciências dos Materiais, Universidade Federal do Piauí, Teresina.

## RESUMO

Nesse trabalho foi utilizado a Norbixina um carotenoide obtido pela reação de saponificação da bixina extraída das sementes do urucum (*Bixa orellana*), bastante utilizado nas indústrias alimentícias, têxteis e cosméticas, com potencial tecnológico em aplicações farmacêuticas e biomédicas. O poli (álcool) vinílico (PVA) um copolímero cujas atividades físico-químicas e biológicas são comprovadas em inúmeros estudos, porém os seus filmes são pouco resistentes à degradação e a interação celular. O objetivo desse trabalho foi desenvolver e avaliar as propriedades de filmes formados pela associação de poli (álcool) vinílico, poli (etileno) glicol, norbixina, e hidroxiapatita pela técnica de evaporação de solvente (*Casting*) em concentrações variando de 10 e 40% em peso de acordo com cada composição para ser utilizado em reparação e lesões tecidual. Os filmes foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX), termogravimetria (TG), microscopia óptica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV), propriedade mecânica, avaliação de hemocompatibilidade e atividade antimicrobiana. Os resultados por FTIR da blenda apresentaram deslocamentos satisfatórios das bandas com a inserção do PEG, assim, como na intensidade dos picos em relação à matriz de PVA. Já para os scaffolds foram observadas mudanças significativas com o surgimento e o desaparecimento de bandas de acordo com a composição. Por DRX, foi possível observar um deslocamento para ângulos maiores com a inserção do PEG e da NBx em relação à matriz de PVA e uma modificação na estrutura cristalina em relação ao PVA. Por TG foi observado que a estabilidade térmica dos sistemas variou de acordo com o tipo de material empregado. Para a microscopia óptica foi possível observar que a blenda de PVA/PEG se apresentou de forma homogênea, sem mudança de fase. Já para os scaffolds foi possível observar uma homogeneidade com exceção para a composição PVA/PEG/NBx/HA. O MEV mostrou que ambos os scaffolds apresentaram diferentes estágios de agregação que interferem na miscibilidade dos componentes. As propriedades mecânicas mostraram que os filmes de PVA/NBx e PVA/PEG/NBx/HA apresentaram módulo de elasticidade semelhante, o que os



define como estaticamente iguais. O PVA/PEG/NBx é a composição mais flexível. A avaliação de hemocompatibilidade se mostrou favorável para todos os scaffolds. Os scaffolds demonstraram atividade inibitória frente às bactérias *E. Coli* e *Staphylococcus Aureus* e o fungo *Candida Albicans* para testes *in situ*. Os scaffolds investigados apresentaram resultados promissores *in vitro*, para possíveis aplicações *in vivo*.

Palavras-chave: PVA, scaffolds, biomateriais, atividade citológica, regeneração tecidual.

**SILVA, Raimundo Miguel da Silva Júnior, Desenvolvimento e Avaliação de Blendas de PVA/PEG e Scaffolds de PVA/PEG/NBx/HA para Regeneração Tecidual, 2021. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais) – Programa de Pós-graduação em Ciências dos Materiais, Universidade Federal do Piauí, Teresina.**

## **ABSTRACT**

In this work, Norbixin was used a carotenoid obtained by the saponification reaction of bixin extracted from annatto seeds (*Bixa orellana*), widely used in the food, textile and cosmetic industries, with technological potential in pharmaceutical and biomedical applications. Poly (alcohol) vinyl (PVA) is a copolymer whose physical-chemical and biological activities are proven in numerous studies, but its films are not very resistant to degradation and cellular interaction. The objective of this work was to develop and evaluate the properties of films formed by the association of poly (alcohol) vinyl, poly (ethylene) glycol, norbixin, and hydroxyapatite by the solvent evaporation technique (Casting) in concentrations ranging from 10 and 40% in weight according to each composition to be used in repair and tissue injuries. The films were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (DRX), thermogravimetry (TG), optical microscopy (MO), scanning electron microscopy (SEM), mechanical property, evaluation of hemocompatibility and antimicrobial activity. The FTIR results of the blend showed satisfactory displacements of the bands with the insertion of PEG, as well as in the intensity of the peaks in relation to the PVA matrix. As for the scaffolds, significant changes were observed with the appearance and disappearance of bands according to the composition. By XRD, it was possible to observe a shift to greater angles with the insertion of PEG and NBx in relation to the PVA matrix and a change in the crystalline structure in relation to PVA. By TG it was observed that the thermal stability of the systems varied according to the type of material used. For optical microscopy it was possible to observe that the PVA / PEG blend was homogeneous, without phase change. For the scaffolds it was possible to observe a homogeneity with the exception of the composition PVA / PEG / NBx / HA. The SEM showed that both scaffolds showed different stages of aggregation that interfere with the miscibility of the components. The mechanical properties showed that the films of PVA / NBx and PVA / PEG / NBx / HA showed similar modulus of elasticity, which defines them as statically equal. PVA / PEG / NBx is the most flexible composition. The hemocompatibility assessment was favorable for all scaffolds. The scaffolds

showed inhibitory activity against the bacteria *E. Coli* and *Staphylococcus Aureus* and the fungus *Candida Albicans* for in situ tests. The investigated scaffolds results in promising results in vitro, for possible in vivo applications.

Key words: PVA, scaffolds, biomaterials, cytological activity, tissue regeneration.

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas, foi possível observar os progressos alcançados na área da saúde, aliados à engenharia e a outros ramos da ciência, que têm permitido uma grande evolução das técnicas de reconstituição das funções totais ou parciais de órgãos e tecidos. Neste contexto, os biomateriais têm ganhado grande importância, que se encontra associada ao desenvolvimento de técnicas cirúrgicas e de novos implantes e próteses, com efeito, em ortopedia, odontologia e outras partes do corpo (Sachico, et al. 2017).

Assim, o avanço da engenharia tecidual, área do conhecimento interdisciplinar que integra ciência e tecnologia, busca restaurar, reparar, ou manter os tecidos do corpo, a partir de biomateriais que permitam desenvolver materiais que auxiliem nos processos reconstrutivos de partes do corpo e que incrementem tratamentos, melhorando a qualidade de vida dos seres humanos (Sachico, et al. 2017; Rui-Xue Sun, et al. 2017).

O conceito de biomaterial está interligado à definição de dispositivo médico, principalmente os que são implantados no corpo humano, tendo carácter temporário ou permanente. Com isso, se busca estudar e compreender as principais propriedades e aplicações desses biomateriais, isolados ou combinados de forma a conhecer e/ou produzir scaffolds que possam se ajustar na formação de um novo tecido, simulando meios físicos e químicos equiparados aos dos seres vivos, como interações biológicas, proteicas e peptídicas, adesão celular, migração, proliferação e diferenciação como alternativa para substituir os métodos tradicionais para reparação destes defeitos (Rui-Xue Sun, et al. 2017).

Destaca-se o poli (álcool) vinílico (PVA) e o seu copolímero (PVAc) que são produzidos a partir de reações simples de hidrólise, onde a relação do percentual de hidroxilas no copolímero final, após a reação, e o número total inicial de grupos acetila determina o grau de hidrólise. Entre as várias características do PVA, tem-se que: apresenta biocompatibilidade, não toxicidade, alta hidroflicidade, boa estabilidade química, solubilidade em água (grau de

hidrolise a partir de 95% a 70 °C), capacidade de formação de filmes, propriedades de adesão, elevadas propriedades interfaciais e mecânicas, exibe adesão celular e absorção de proteínas mínimas e flexibilidade (Kamoun, 2015).

Uma das formas de se melhorar as propriedades físico-químicas e mecânicas do PVA é a incorporação de aditivos como o poli (etileno) glicol (PEG), que proporciona melhor adesão entre as fases do sistema de PVA/PEG, aumentando assim sua flexibilidade e o seu volume livre, permitindo através da troca de polaridade uma melhor interação (Mansur, Orefice & Mansur, 2004).

Além da associação polimérica é reportado na literatura a adição ao PVA de substâncias como antibióticos, antifúngicos, extratos com propriedades antioxidantes, partículas metálicas, sementes, fibras naturais, células, e argilominerais como adesão a matriz polimérica, melhorando suas propriedades aumentando, assim, futuras aplicações (Chaudhari, et al. 2016; Ahmed, et al. 2018).

O objetivo desse trabalho foi desenvolver e avaliar membranas de PVA, da blenda de PVA/PEG, e dos scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA em proporções variando entre 40 a 100% em peso. Os sistemas foram preparados pela técnica de evaporação de solvente (*casting*). A incorporação do plastificante poli (etileno) glicol (PEG), da norbixina e da hidroxiapatita propendeu à melhoria das propriedades dos filmes de PVA (flexibilidade e maciez) e direcioná-los a aplicações em cicatrização e reparação tecidual.

## REFERÊNCIAS

Ahmed, R. et. al. (2018). Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nano fibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 120, p. 385-393.

Chaudhari, A.; Vig, K.; Baganizi, D.; Sahu, R.; Dixit, S.; Dennis, V.; Singh, S.; Pillai, S. (2016). Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. **Int. J. Mol. Sci**, 17, 1974.

Kamoun, E. A. et. al. (2015). Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. **Arabian Journal of Chemistry**.v. 8, p. 1-14.

Mansur, Herman S.; Oréfice, Rodrigo L.; Mansur, Alexandra A. P. (2004). Characterization of poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) hydrogels and PVA-derived hybrids by small-angle X-ray scattering and FTIR spectroscopy. **Polymer**, [s. l.], v. 45, n. 21, p. 7193–7202.

Rui – Xue Sun, Yao Lv, Yu – RongNiu, Xiao – Hui Zhao, Dong – Shan Cao, Jian Tang, Xian – Chang SUN, Ke – Zheng Chen. ( 2017). Physicochemical and biological properties of bovine-derived porous hydroxyapatite/collagen composite and its hydroxyapatite powders. **Ceramics International** 43 16792 – 16798.

Sachiko Nittaa,b, AyakaKomatsua, Taisei Ishiia, Masatoshi Ohnishic, Atsuko Inouec,Hiroyuki Iwamoto. (2017). Fabrication and characterization of water-dispersed chitosannanofiber/poly (ethylene glycol) diacrylate/calcium phosphate-basedporous compositesCarbohydrate **Polymers** 174, p. 1034–104

**CAPÍTULO I**

**DESENVOLVIMENTO VIA INTERCALAÇÃO POR SOLUÇÃO DE BLENDA DE PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NORBIXINA/HIDROXIAPATITA: UMA REVISÃO**

**DESENVOLVIMENTO VIA INTERCALAÇÃO POR SOLUÇÃO DE BLENDS DE  
PVA/PEG E SCAFFOLDS DE PVA/PEG/NORBIXINA/HIDROXIAPATITA: UMA  
REVISÃO**

*Raimundo Miguel da Silva Júnior<sup>1</sup>, Durcilene Alves da Silva<sup>2</sup>, Vicente Gálber Freitas Viana<sup>3</sup>*

*<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Materiais  
Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI*

*<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Química/CCN e Programa de  
Pós- Graduação em Ciência dos Materiais, Campus Universitário Ministro Petrônio  
Portella, Teresina- PI*

*<sup>3</sup>Instituto Federal do Piauí – Curso de Graduação em Química/CCN e Programa de Pós-  
Graduação em Ciência dos Materiais, Campus Teresina Central, Teresina- PI*



## RESUMO

Neste trabalho apresentamos uma revisão da literatura acerca do poli (álcool) vinílico (PVA), que é um polímero sintético de estrutura simples, hidrofílico, inócuo, biocompatível, biodegradável, não carcinogênico, atóxico que apresentar boa estabilidade química e comercialmente compatível, além de possuir um grau de hidrólise variado durante o processo de copolimerização. Tem como principais aplicações o uso em sistemas de liberação controlada de drogas, adesivos, emulsificantes e matriz polimérica na engenharia de tecidos. Assim, como a norbixina (NBx) um carotenoide obtido pela reação de saponificação da bixina extraída das sementes do urucum (*Bixa orellana*), bastante utilizado nas indústrias alimentícias, têxteis e cosméticas. No entanto, suas aplicações farmacêuticas e biomédicas despertam a cada dia a comunidade científica no que tange o seu potencial tecnológico, como um biomaterial no combate a atividades anti-inflamatórias, antifúngica, antibacteriana, anticarcinogênica, antioxidante e na combinação com outros materiais para reparação tecidual. O poli (etileno) glicol (PEG) um plastificante quimicamente estável, sendo considerado alifílico, de fácil manuseio, com grande propensão à formação de complexos, podendo inclusive associar-se a eletrólitos em soluções diluídas. Associamos a estes componentes a hidroxiapatita (HA) que dentre os materiais biocerâmicos o que mais se assemelha ao mineral ósseo, sendo este bastante utilizado como biomaterial para aplicações de reposição e regeneração óssea, podendo ser aplicado para outras reposições teciduais, devido a sua excelente biocompatibilidade, bioatividade, osteocondução e não produzirem reações adversas na construção de scaffolds. Portanto, apresentamos algumas considerações sucintas acerca do potencial destes materiais, no que corresponde a novas estruturas na formação de blendas e compósitos scaffolds, permitindo a concepção de novos materiais a partir da matriz polimérica de PVA.

**Palavras-Chave:** PVA, norbixina, hidroxiapatita, scaffolds, regeneração tecidual.

## ABSTRACT

In this work, we present a literature review about poly (alcohol) vinyl (PVA), which is a simple, hydrophilic, harmless, biocompatible, biodegradable, non-carcinogenic, non-toxic synthetic polymer that has good chemical and commercially compatible stability, in addition to have a varying degree of hydrolysis during the copolymerization process. Its main applications are the use in controlled release systems for drugs, adhesives, emulsifiers and polymeric matrix in tissue engineering. Thus, like norbixin (NBx) a carotenoid obtained by the saponification reaction of bixin extracted from annatto seeds (*Bixa orellana*), widely used in the food, textile and cosmetic industries. However, its pharmaceutical and biomedical applications awaken the scientific community every day with regard to its technological potential, as a biomaterial in combating anti-inflammatory, antifungal, antibacterial, anticarcinogenic, antioxidant activities and in combination with other materials for tissue repair . Poly (ethylene) glycol (PEG) is a chemically stable plasticizer, being considered aliphilic, easy to handle, highly prone to complex formation, and may even be associated with electrolytes in diluted solutions. We associate these components with hydroxyapatite (HA) which, among bioceramic materials, is the most similar to bone mineral, which is widely used as biomaterial for bone replacement and regeneration applications, and can be applied for other tissue replacements, due to its excellent biocompatibility. , bioactivity, osteoconduction and do not produce adverse reactions in the construction of scaffolds. Therefore, we present some succinct considerations about the potential of these materials, in what corresponds to new structures in the formation of blends and scaffold composites, allowing the design of new materials from the polymeric matrix of PVA.

Key words: PVA, norbixin, hydroxyapatite, scaffolds, tissue regeneration.

## 1. INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos é um campo multidisciplinar que integra várias áreas das engenharias, assim como as mais diversas áreas da medicina clínica e genética, que interconectadas visam aprimorar terapias e/ou desenvolver métodos da engenharia e das ciências da saúde que restaurem, melhorem, dificultem ou impeçam o agravamento da função tecidual comprometida de forma a apresentar comportamento biológico e fisiológico. Para isso utilizam-se suportes, matrizes, blendas, bionanocompósitos, filmes e membranas poliméricas semeados com células e/ou fatores de crescimento que possam vir substituir o tecido lesionado (Kamoun, 2015; Sachico, et al. 2017).

O principal objetivo da engenharia de tecidos é restaurar e melhorar a função dos tecidos, preparando andaimes tridimensionais porosos e semeando-os com células e fatores de crescimento (Chaudhari, et al. 2016). Essas três coisas (andaimes, células, fatores de crescimento) são conhecidas como "a tríade da engenharia de tecidos" e esse sistema é instalado em um ambiente apropriado em um biorreator (Dlaska, et al. 2015; Stratton, et al. 2016). O termo "engenharia de tecidos", onde a engenharia e as ciências estão interconectadas, foi utilizado pela primeira vez em 1988, porém Langer e Vacanti usaram esse termo em um artigo de revisão publicado na Science in 1993.

Os crescentes avanços da engenharia tecidual apontam possíveis abordagens no que se refere ao uso e aplicações de biomateriais para regeneração da pele, de órgãos ou ossos especificamente, sejam como suporte ou através de sinais biológicos que estimulem a proliferação e diferenciação celular na substituição de tecidos ou órgãos. Além disso, esses materiais devem requerer componentes básicos de boa funcionalidade como: sinais morfogenéticos que induzam hipoteticamente a mesma função adaptativa da função original, células hospedeiras sensíveis a esses sinais, um interlocutor que leve esses sinais a sítios específicos (auto- intersticiais) e um hospedeiro compatível e viável (Meeichyn, et al. 2017).

Por sua vez, é cada vez mais comum o uso e aplicação de biomateriais em contrapartida a métodos tradicionais, tais como: autoenxertos e xenoenxertos, que embora sejam tratamentos padrões, estes podem não serem eficazes, tendo em vista que enxertos são avasculares e dependentes de difusão. Entretanto outros fatores podem ainda contribuir para a ineficiência do método como, por exemplo, o tamanho do defeito a ser reparado e a viabilidade do hospedeiro. Além disso, a reabsorção tecidual corresponde a um processo imprevisível, o enxerto pode ser reabsorvido pelo corpo antes do processo completado, isso, combinado ao tipo de doador e ao tempo de cirurgia necessário torna esse procedimento dispendioso e com grandes chances de morbidade local associada a outras complicações como dor, infecção e alterações hematológicas (O'Brien, 2011; Sachico, et. al. 2017).

Assim, os procedimentos citados muitas vezes apresentam resultados aquém do esperado o que tem se tornado um desafio a pesquisadores e estudiosos no ramo da engenharia tecidual. Por isso, se torna cada vez mais necessário a utilização de biomateriais que venham melhorar as propriedades físico-químicas e mecânicas de materiais já existentes. Por tanto, acredita-se que o uso combinado de certos biomateriais levará menos complicações relacionadas ao reparo ou substituição do tecido ou de uma possível rejeição (O'Brien, 2011; Ashraf, Henning & Michler, 2010; Stratton, et al. 2016).

Nesse sentido, é cada vez mais frequente o uso de polímeros como alternativa viável como biomateriais na construção de scaffolds por apresentarem estabilidade durante o uso, serem adaptáveis na forma e no tamanho, de fácil processabilidade, não apresentarem estresse pós-implante, ajustáveis no que se refere às propriedades mecânicas e biodegradáveis, além do baixo custo. Esses polímeros podem ser de origem natural ou sintética, e ambos podem ser utilizados na construção de scaffolds para o desenvolvimento de suportes biomédicos na engenharia tecidual (Stevens, 2008).

Dentre os vários polímeros sintéticos utilizados como suportes, géis, hidrogéis,

curativos, pinos, substitutos ósseos, suturas, ligas, lentes de contatos e órgãos para regeneração ou substituição do tecido lesionado, o poli (álcool) vinílico (PVA) tem sido um dos mais empregados na engenharia tecidual, principalmente no que se refere à construção de scaffolds para reparação e reconstrução tecidual, devido as suas propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioadesividade e atoxicidade (Pires, Bierhalz & Moraes, 2015).

A eficiência do PVA aliado a outros polímeros sintéticos ou biológicos há muito tempo vem sendo avaliado, preferencialmente os polímeros hidrofílicos como é o caso do poli (etileno) glicol (PEG), óxido de polietileno (PEO) e a quitosana dentre outros. A combinação desses polímeros na formulação de blendas ou de bionacompostos visa melhorar as propriedades mecânicas desses materiais, como flexibilidade, maciez, abrasão e bioadesividade entre outras (Kamoun, 2015). Nesse trabalho, optamos pelo poli (etileno) glicol (PEG) um poliéster diol linear, solúvel em água, sendo considerado um material imunologicamente seguro, pois é eliminado pelo corpo em tempo hábil após o seu uso, atóxico e quimicamente inerte, pois pode ser misturado tanto em meio básico quanto em meio ácido (Moghimi&Moghimi, 2008; Kouchak, et al. 2014; Sasaki, Murakami & Suzuki, 2016).

Vários são os atrativos que norteiam o poli (álcool) vinílico (PVA), e o poli (etileno) glicol (PEG). No entanto, é comum na literatura a adição do PVA e do PEG a outras substâncias como antibióticos, antifúngicos, extratos com propriedades antioxidantes, sementes, partículas metálicas e argilominerais com propriedades biológicas reconhecidas (Hamad, Hunter & Moghimi, 2008). Nesse caso adicionamos a norbixina (NBx) e a hidroxiapatita (HA) na construção de suportes para possíveis aplicações da neoformação tecidual.

A norbixina um carotenoide natural solúvel em água (ácido dicarboxílico) que apresenta fórmula molecular  $C_{24}H_{28}O_4$ , obtido naturalmente por extração das sementes de

urucum (*Bixa Orellana*) e/ou por um processo de reação de saponificação a partir da bixina (Costa & Chaves, 2005), tem como umas de suas principais características a organização molecular com 24 carbonos com ligações duplas conjugadas com capacidade de extinguir radicais livres, além de serem bastante utilizada pela indústria têxtil e alimentícia na produção de corantes e no tingimento de tecidos (Sousa Júnior, et al. 2005;Yusá-Marco, et al. 2008, Zhang & Zhong, 2013).

Por outro lado, são crescentes os estudos a cerca de suas potencialidades para fins físico-químicos e biológicos e contra determinados fungos, microorganismos e bactérias, devido suas propriedades antioxidantes, microbiana e antitumoral, que podem otimizar a recuperação do tecido lesionado (Sousa Júnior, et al. 2005; Yusá-Marco, et al. 2008; Muthukumar, et al. 2014; Zhang & Zhong, 2013).

Atualmente, a literatura aponta vários estudos acerca dos efeitos genotóxicos, teratogênicos ou mutagênicos desses materiais, que objetivam avaliar suas propriedades e interações com outros materiais (Santos, et al. 2014). Estudos feitos por Costa (2005) apontam perspectivas de que o uso da norbixina não possui efeitos tóxicos sobre células hepáticas, renais e da medula óssea.

Por fim, optou-se pela utilização da hidroxiapatita como um dos ativos na confecção do scaffold por sua capacidade de adesão ao tecido ósseo, visto que esse biocerâmicos de fosfato de cálcio é um constituinte mineral natural encontrado no osso (Costa, et al. 2009; Guastaldi & Aparecida, 2010; Rey, et al. 2007). Em decorrência dessa similaridade da hidroxiapatita (HA) com a parte mineral de ossos e dentes, observam-se características importantes como biocompatibilidade, biodegradabilidade, osteocondutividade e bioatividade para construção do *scaffold*. Além disso, o uso da hidroxiapatita (HA) pode favorecer a proliferação de células ósseas (fibroblastos e osteoblastos), o que torna seu uso em aplicações

de implantes biomédicos e regeneração óssea extremamente interessante (Guastaldi & Aparecida, 2010; Rey, et al. 2007).

Diante disso será apresentado uma revisão bibliográfica sobre as estratégias e materiais utilizados nas mais diversas terapias regenerativas e de técnicas para a engenharia tecidual, além de um breve resumo sobre os materiais que compõem esse trabalho, como o poli (álcool) vinílico (PVA), o poli (etileno) glicol (PEG), a norbixina (NBx), a hidroxiapatita (HA) e alguns trabalhos relevantes utilizados para compor os resultados.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 SCAFFOLDS

Scaffolds podem ser designados como um suporte ou matriz extracelular que auxilia as células na proliferação, diferenciação e na sua biossíntese (Prachi, et al. 2014; Ikada, 2006; Rossella, et al. 2016; Yu, Xia & Ni, 2018). Dentro desta perspectiva o uso e aplicação desses arcabouços aumentam exponencialmente a cada ano devido à analogia de vários estímulos, conectando, proteínas estruturais e materiais genéticos para várias aplicações na engenharia tecidual (Yu, Xia & Ni, 2018; Rossella, et al. 2016).

Essa gama de aplicabilidade de fato faz com que cada vez mais aumente a procura e a produção de arcabouços que apresente sinais regenerativos para as células a partir de biomateriais que possam imitar aqueles que se encontra em ambiente natural, proporcionando propriedades multifuncionais ao tecido. Os crescentes avanços nas pesquisas com células-tronco, diferenciação celular e tecidual têm permitido e impulsionado a simulação e elaboração em laboratório de tecidos combinando matrizes extracelulares, células e moléculas bioativas (Dhandayuthapani, et al. 2011; Moreno Madri, et al. 2019). Estes suportes comportam-se como moldes para a restauração de um tecido danificado ou formação de um novo tecido, seja funcionando como base para o crescimento celular ou como veículo para a entrega de substâncias biologicamente ativas (Moreno Madri, et al 2019; Varaprasad, et al. 2017).

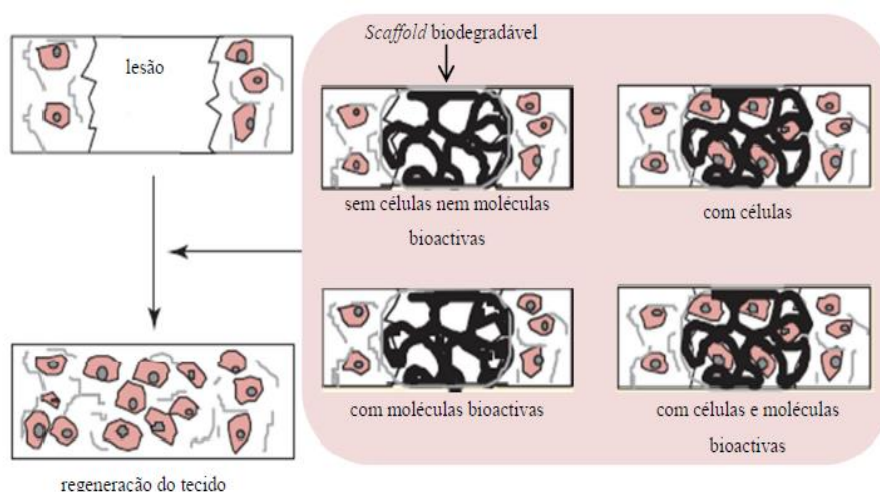
No entanto, a regulamentação para o desenvolvimento das pesquisas, aplicação e terminologia tem sido documentada a partir de normas que estabelecem os critérios necessários para uso tanto *in situ* como *in vivo*, tais como: normas ASTM (*American Society for Testing and Materials*) e ISO (*International Organization for Standardization*) dentre as quais, F2312-03, F2211-13, F2312-11e F3163-16, ISO 10993-18:2005, ISO 10993-11: 2017, ISO 10993-10: 2010, ISO 10993-4: 2017 e ISO 10993-5: 2009 (Grasemi-Mobarakeh, 2019).

Esses suportes apresentam-se como estruturas tridimensionais em dupla camada (2D) ou superfície tripla (3D), com diferentes tipos de matrizes, nos quais podem vir a ter aplicabilidades distintas dependendo do local, do tipo de tecido lesionado, bem como a degradação da matriz ao longo do tempo (Santos, 2019). Dentro desse contexto podemos classificar esses suportes em porosos, hidrogéis, fibrosos e os constituídos por microesferas, que fornecem mecanismos e propriedades bioativas e biodegradáveis, ajustando-se na formação de um novo tecido, simulando meios físicos, químicos e interações biológicas



equiparadas aos seres vivos (Fei, et al. 2014; Aochen, et al. 2018). De acordo com a figura 1 são apresentadas as etapas para a obtenção de materiais aplicáveis para engenharia tecidual.

**Figura 1:** Esquema representativo das etapas de processamento de materiais aplicáveis na engenharia de tecidos. **Fonte:** Adaptado de (Yasuhico, 2005).



Os scaffolds porosos e os constituídos por microesferas destacam-se por apresentarem uma microestrutura de maior adesão celular e elevada superfície de contato entre os constituintes do suporte, promovendo uma maior proliferação e diferenciação celular, assegurando uma rápida vascularização (Chiu, et al. 2011).

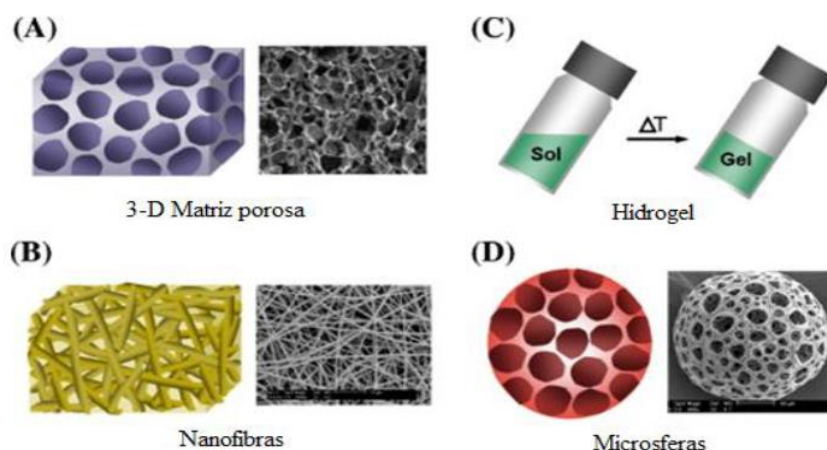
Os hidrogéis caracterizam-se por apresentar estrutura tridimensional em retículos de cadeias de polímeros que, em contato com a água, aumentam de volume, tornando-se biocompatíveis. Esses polímeros podem ser de origem natural tais como, a agarose, o alginato, a quitosana ou de matriz sintética como, os metacrilatos, ácido poliglicólico, poli(etileno) glicol, e o poli(álcool) vinílico (Chiu, et al. 2011; Kamakshi, et al. 2016).

Scaffolds fibrosos são muito utilizados na engenharia de tecidos, principalmente por possuírem aspecto parecido com a matriz extracelular nativa na sua dimensão e constituição proteica, como observado para alguns biomateriais que apresentam essas características, tais como colágeno, elastinas, fibronectina e laminina (Dhandayuthapam, et al. 2011). A ilustração da Figura 2 mostra a classificação quanto ao tipo de um scaffold.

Estes biomateriais possuem propriedades osteocondutoras, e raramente propriedades osteoindutivas ou osteogênicas, além de servir de suporte mecânico. Uma função significativa para a construção desse arcabouço é o fato de induzirem a migração de matéria viva

(proteínas e peptídeos) para o crescimento celular, proveniente do tecido adjacente, para a formação do tecido lesionado; outra função é que arcabouços carregadores de células osteogênicas autógenas podem ser colonizados em biorreatores e reaplicados na reconstrução do tecido lesionado (Tierong, et al. 2018; Rashtrapal, et al. 2017).

**Figura 2:** Classificação quanto ao tipo de scaffolds. **Fonte:** Adaptado (Chang & Park, 2007).



Estas e outras especificações levam a necessidade de construir e desenvolver suportes com características intrínsecas que atendam demandas específicas (Ahmed, et al. 2018). Estudos apontam quatro métodos utilizados na fabricação de scaffolds, sendo que cada técnica a ser utilizada depende do tipo de biomaterial adicionado ao arcabouço, levando em consideração suas potencialidades e suas respectivas desvantagens (Ahmed, et al. 2018; Huang, et al. 2018; Rao, et al. 2019), dentre os quais destacamos os por moldagem de solvente (*Solvent Casting*), moldagem de solvente com lixiviação particulada (*Solvent casting with particulate leaching*), espuma de gás (*gasfoaming*), separação de fases (*phaseseparation*), liofilização (*Lyophilisation/freeze-drying*), automontagem molecular (*molecular self-assembly*) e eletrofição (*electrospinning*) (Ahmed, et al. 2018; Huang, et al. 2018; Rao, et al. 2019).

Destacamos a técnica por intercalação do solvente (*Solvent Casting*) como sendo uma das mais aplicadas e que permite a obtenção de scaffolds a partir de soluções poliméricas na construção de filmes finos, películas ou membranas. Com o passar do tempo o solvente evapora lentamente, seja em temperatura ambiente ou em uma temperatura controlada, permitindo observar melhorias em propriedades como espessura, porosidade, flexibilidade e

maciez que podem variar de acordo com o polímero e os aditivos incorporados, que podem ser um fármaco, uma molécula bioativa, substâncias que melhorem as propriedades mecânicas e ativas dos constituintes da solução (Ahmed, et al. 2018).

## **2.2 REQUISITO DE UM SCAFFOLD**

### **2.2.1 Biocompatibilidade**

A escolha de biomateriais para ser usado na concepção de scaffolds parte do princípio de serem não tóxicos e compatíveis com todos os elementos celulares, promovendo deste modo uma interação favorável e uma boa regeneração tecidual (Daniel, et al. 2015; Cunha, et al. 2011). Os scaffolds precisam apresentar semelhanças com o tecido hospedeiro que seja substituído, além disso, necessitam ser biodegradáveis, apresentar estímulos fisiológicos e bioreabsorvíveis o que parcialmente irá diminuir o risco de rejeição ou inflamação (Cunha, et al. 2011).

### **2.2.2 Bioatividade**

Com o passar do tempo, a meta encontrada por pesquisadores para o uso de biomateriais scaffolds foi que não só pudessem substituir um tecido danificado e promover suporte mecânico, mas que pudesse oferecer um mínimo de resposta biológica ao indivíduo. Essa característica para a concepção de scaffolds é primordial, pois a partir dela se busca direcionar fatores bioquímicos, tais como fatores de crescimento, proteínas e genes entre outras moléculas bioativas auxiliando no processo de regeneração (Hernández, et al. 2010; Puppi, et al. 2010).

O andaime formado por essas biomoléculas, ainda ajudam no direcionamento para o local desejado e o controle de liberação celular dentro do arcabouço o que melhora e orienta a organização e neovascularização (Hernández, et al. 2010; Puppi, et al. 2010).

### **2.2.3 Propriedades física, químicas e mecânicas**

As propriedades físico-químicas para a montagem de scaffolds dependem irrestritamente da escolha do material a ser utilizado, sendo que estas podem ser de várias formas e estruturas dependendo do tecido a ser substituído (Chiu, et al. 2011). Os biomateriais se caracterizam por apresentar estruturas e formas versáteis, passíveis de diferentes geometrias, de forma a se adequar as mais variadas necessidades dos tecidos (Chiu, et al. 2011), destaque para as formas tubular e achatada usadas na sua maioria na regeneração de

ossos, intestino e fígado.

#### **2.2.4 Biodegradáveis**

Requisito importante de um biomaterial na montagem de um scaffold como já mencionado em várias situações anteriores. Pesquisas apontam que os materiais mais utilizados clinicamente na atualidade são bioativos, biocompatíveis e biodegradáveis, e os mais pesquisados são os bioativos, biodegradáveis e biomiméticos. Isso mostra a importância do uso de um biomaterial biodegradável na concepção de um scaffold ao serem incorporados ou absorvidos após dissolução (Holzapfel, et al. 2014; Prachi, et al. 2014).

### **3. TIPOS DE MATERIAIS UTILIZADOS**

O crescente desenvolvimento tecnológico nas áreas da saúde e em outras áreas afins torna-se essencial e avança a cada dia. No entanto, apesar do progresso alcançado, ainda há coisas totalmente rotineiras na vida humana que estão longe de ser totalmente compreendidas e manipuladas, uma delas é o nosso corpo. Assim como as áreas da saúde, a engenharia dos materiais também tem contribuído para manter nossos sistemas em bom funcionamento e ajudar-nos a lidar com os efeitos do envelhecimento, permitindo uma melhoria na qualidade de vida da população (Ji, et al. 2015).

Nesse contexto atual um dos principais desafios da área seria: compreender como são os materiais encontrados em nosso corpo e como imitá-los de forma a se obter uma melhor resposta (Ji, et al. 2015; Vukajlovic, et al. 2019; Varaprasad, et al. 2017).

O termo biomaterial pode ser compreendido como sendo qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou sintéticas, que possam ser utilizados e aplicados nas ciências da saúde e que interajam biologicamente, com o objetivo de tratar, expandir e/ou substituir quaisquer partes do corpo humano (Langer & Vacanti, 1993; William, 1988; Ratner, et al. 2013; Tierong, et al. 2018; Vukajlovic, et al. 2019). Os mecanismos de ação e classificação dos biomateriais estão correlacionados podendo ser osteocondutores, osteoindutores, osteogênicos ou osteopromotores dependendo da combinação e do tipo de material (Grasemi-Mobarakeh, 2019; Ratner, et al. 2013; Vukajlovic, et al. 2019).

A abordagem adotada no desenvolvimento e aplicação dos biomateriais na última década mostrou-se mais sistematizada, saindo de um foco onde no início buscava-se os materiais bioinertes (foco no material em si), onde a preocupação era obter materiais compatíveis que substituíssem o tecido danificado e promover suporte mecânico, sem nenhum

estímulo biológico. Com o passar do tempo, a meta passou a ser a bioatividade e biodegradabilidade e mais recentemente, a regeneração do tecido no âmbito biológico e celular, ou seja, aumentar a vida útil do implante por sua interação com a interface do tecido hospedeiro (Ratner, et al. 2013; Holzapfel, et al. 2013; Vukajlovic, et al. 2019).

Nesse contexto evolutivo no desenvolvimento e utilização da bioengenharia tecidual, propõem-se desenvolver biomateriais com estrutura tridimensional que sirvam de suporte físico estrutural e que interajam fisiologicamente com características desejáveis para que o mesmo seja considerado um scaffold ideal para uma neoformação tecidual (Liu, et. al. 2009; Stevens, 2008; Ratner, et al. 2013; Chauddhari, et al. 2016).

O uso de biomateriais está segmentado com base em dois critérios: O primeiro refere-se aos tipos de compostos a partir dos quais esses biomateriais são constituídos, como metais, cerâmicas, polímeros, compósitos e materiais de origem natural. O segundo critério baseia-se na forma de aplicação do biomaterial, dependendo da especialidade como de uso (ortopédico, cardiovascular, odontológico, oftalmológico, cirurgia plástica, engenharia tecidual, tratamento de lesões, patologias neurológicas, distúrbios gastrointestinais e urinários, sistemas de liberação de fármacos, cirurgias bariátrica, além de outras aplicações) (Stevens, 2008; Ratner, et al. 2013). Tal evolução no desenvolvimento e utilização de biomateriais permite que estes possam variar não somente em composição química ou origem, mas também em propriedades mecânicas e espaciais (Abukama, et al. 2006).

### **3.1 MATERIAIS METÁLICOS**

Diante de diferentes tipos de matérias - primas disponíveis para a obtenção de biomateriais, a classe dos metais, destaca-se por apresentar condições favoráveis no uso desses materiais como: boa resistência mecânica, conformabilidade adequada, alta resistência à fadiga a tração, a fratura, além disso, possui alta resistência à corrosão, todas essas propriedades aliadas ao custo benefício fazem desses biomateriais ainda nos dias de hoje como um dos mais indicados na substituição, reforço ou estabilização óssea (Poinern, Brundavanam &Fawcett, 2012; Babuska, et al. 2015; Tumbull, et al. 2018).

Neste contexto, são muitas as aplicações desses biomateriais, dentre os mais comuns podemos inserir o uso como fios, parafusos e placas para fixação de fraturas e implantes, sejam ortopédicos ou dentários (Babuska, et al. 2015; Tumbull, et al. 2018; Rodney, et al. 2016). Outras aplicações merecem destaque, porem com grau de complexidade maior em relação aos componentes estruturais mencionados, como a confecção de válvulas cardíacas e

próteses expansíveis (*stents*) que possam ser duráveis e que apresentem boa resistência mecânica aliada à boa condutividade elétrica, e que por sua vez favoreça a obtenção de estímulos indispensável para esse tipo implante (Rodney, et al. 2016).

A grande versatilidade dos metais deve-se também, à possibilidade de polimento, abrasão bem como a esterilização, sendo essa última característica a grande responsável pela extensa aplicabilidade dos metais (Pezzoti, et al. 2014).

Os primeiros relatos de biomateriais metálicos utilizados como reparos ou substituintes na reconstrução óssea foram através do aço inoxidável e as ligas de cobalto e cromo. Atualmente novas combinações com o aço inoxidável ganharam destaque, bem como outros tipos de ligas, como, por exemplo, as ligas de titânio e titânio comercialmente puro (Pezzoti, et al. 2014; Babuaka, et al. 2015; Turnbull, et al. 2018).

Para os aços inoxidáveis percebemos boas propriedades mecânicas, baixo custo em relação a outros metais, fácil processamento e alta disponibilidade. Porém as ligas de aço podem variar em componentes e percentuais dependendo da aplicação, o que pode direcionar uma maior resistência ou não da liga em relação à corrosão, conseqüentemente, levando a uma maior toxicidade, o que pode ocasionar problemas como alergias, câncer e atividades genotóxicas e mutagênicas (Turnbull, et al. 2018; Cha, et al. 2013; Liu, Ruan& Yang, 2017).

Dentre as principais aplicações desses materiais estão à fixação de dispositivos biomédicos. O titânio e suas ligas têm sido largamente utilizados por apresentarem elevada biocompatibilidade, baixa densidade, baixo módulo de elasticidade e corrosão superior aos aços inoxidáveis, além de terem como vantagem adicional uma maior tendência a ossointegração (Babuska, et al. 2015; Ji, et al. 2015; Cha, et al. 2013). Uma possível desvantagem desse material seria a mínima interação do titânio com os tecidos que circundam o implante. No caso do titânio puro a desvantagem pode esta diretamente relacionada ao desgaste por uso o que a torna inviável em procedimentos duradouros. São comumente aplicados em próteses, dispositivos para uso cardiovascular e para fixação de fraturas. Porém no caso das ligas as limitações e uso do material dependem da sua composição, do tratamento térmico e das condições de processamento, sendo que estes materiais são indicados em aparelhos ortodônticos, fios, *stents*, cateteres e grampos ortopédicos (Liu, Ruan& Yang, 2017; Talha, et al. 2013).

As ligas de cobalto e cromo apresentam alta resistência ao desgaste, calor e a corrosão os que lhe possibilitam a implantes por longos períodos sem correr riscos, superando assim as ligas de aços inoxidáveis e de titânio (Paital & Dahotre, 2009). As desvantagens na aplicação

desses biomateriais na reconstrução óssea esta relacionada à baixa plasticidade e usinabilidade. Suas aplicações estão associadas aos mais variados tipos de próteses, implantes ortopédicos e dentários (Paital & Dahotre, 2009; Babuska, et al. 2015).

Para que biomateriais metálicos possam ser aplicados com segurança no corpo humano deve-se procurar melhorar ou extinguir os riscos de corrosão, tenacidade e desgaste acentuado provocado por atrito direto desses materiais, que por sua vez em contato com o tecido libera íons metálicos seja por dissolução, desgaste ou corrosão (Talha, et al. 2013; Babuska, et al. 2015).

No caso de implantes dentários, os cuidados devem ser ainda maiores, pois, as ligas estão suscetíveis a variações de pH, presença de agentes microbianos e a propriedades físicas e químicas dos alimentos (Talha, et al. 2013).

Como resultado destes mecanismos de desgastes e corrosão, a integridade mecânica e estrutural do implante pode ser comprometida, levando a sua falha prematura ou à fratura, ou ainda, ao descarte e resíduos oriundos da degradação do implante, ocasionando varias complicações como osteólise, inflamações ou até mesmo a perda de órgãos (Turnbull, et al. 2018; Pimentel, et al. 2013; Bosbach, 2015).

Desta forma, para que se possa conferir uma melhor adesão conformacional ou estética ao uso de materiais metálicos como implantes no reparo ou reconstrução óssea, esses devem sofrer modificações em suas superfícies e se associarem a outros materiais que possam lhe conferir maior estabilidade, bioatividade e biodegradabilidade. Uma dessas possibilidades seria a inserção de polímeros.

### **3.2 MATERIAIS CERÂMICOS**

A necessidade de se obter novos materiais que pudessem substituir ou melhorar a aplicação dos metais conduziu os cientistas e pesquisadores das mais diversas áreas a investigar outros tipos de materiais, como exemplo os materiais cerâmicos em meados dos anos 70, o que na época gerou desconfiança e ao mesmo tempo esperança (Smith & Hashemi, 2012; Turnbull, et al. 2018).

As cerâmicas estão incluídas em uma vasta gama de compostos que foram e são essenciais no desenvolvimento dos biomateriais. Suas aplicações englobam as mais diversas áreas, sendo na área da biomedicina uma das mais importantes, sendo utilizada na confecção da reintegração e/ou reconstrução do tecido ósseo (Kamachi, et al. 2000; Dorozhkin, 2010; Liu, et al. 2017; Turnbull, et al. 2018). As vantagens de se utilizar esse tipo de material se

devem, em grande parte, às suas propriedades de compactação e à superior compatibilidade química com o tecido fisiológico e com tecidos rígidos, se assemelhando com o tecido inorgânico do osso, além de levarem mais tempo para se degradar permitindo uma maior remodelação óssea, e mais eficiente em relação aos metais, porém em contrapartida com menores propriedades mecânicas (Hench, et al. 2013).

Do ponto de vista químico, diríamos que as diferenças nas propriedades de materiais metálicos e cerâmicos estariam diretamente ligadas ao tipo de interação entre esses dois tipos de compostos, ligações metálicas (metais) e ligações iônicas e/ou covalentes (cerâmicos), porém sabemos que as diferenças vão, além disso, (Afzal, 2014; Miguez-Pacheco, Hench & Boccaccini, 2015).

No entanto, essa particularidade dos materiais cerâmicos não permite que seus elétrons/átomos circulem livremente como ocorre para os metais, com isto, as cerâmicas tendem a formar estruturas cristalinas com alto grau de compactação, tornando-se materiais com baixa rigidez estrutural, o que os torna inviáveis em regiões de tensões elevadas e que requeiram sustentação em aplicações de reparo ou reconstrução óssea (Tumbull, et al. 2018; Afzal, 2014; Hu, Tong & Chen, 2016).

Outra desvantagem da utilização desses materiais seria o alto teor de porosidade, tornando-os suscetíveis a fraturas, rachaduras e outros defeitos, além da baixa condutividade térmica e elétrica. (Afzal, 2014). O emprego desses materiais é amplamente indicado na manutenção ou no reparo de defeitos ósseos que não exponham o material em regiões de alto impacto, tanto na ortopedia quanto na ortodontia (Piconi, 1999; Afzal, 2014; Miguez-Pacheco, Hench & Boccaccini, 2015).

Os materiais cerâmicos podem ser classificados de acordo com sua interação com o tecido do hospedeiro como bioinertes, bioativos e bioreabsorvíveis. As cerâmicas bioinertes, e aqui se destacam a alumina e a zircônia, não apresentam praticamente nenhuma interação com os tecidos do hospedeiro, ao ponto de serem tolerados pelo organismo. Podemos ainda subdividir a alumina em (policristalinas e monocristalinas), ambas apresentam características semelhantes na estrutura cristalina, elevada dureza, resistência à abrasão e compressão, elevada estabilidade fisiológica e corrosiva (Tierong, et al. 2018), sendo que a principal diferença entre as duas está na resistência mecânica que pode resultar em maior intensidade na estrutura monocristalina.

Em relação às desvantagens de se utilizar esses materiais podemos relacionar o baixo índice a impactos e em alguns procedimentos dentários, com possibilidades de fratura e



fricção durante o procedimento, gerando desconforto ao paciente (Tierong, et al. 2018; Best, 2008; Stevens, 2008).

As aplicações também se tornam semelhantes como na confecção de acetábulos e cabeças femorais, próteses dentárias e coroas (Bucholz, et al. 1987; Miguez-Pacheco, Hensch & Boccaccini, 2015; Stevens, 2008).

A zircônia tem como principal característica as diversas estruturas cristalográficas: monoclinica, cúbica e tetragonal, sendo que estas sofrem modificações dependendo da temperatura, e conseqüentemente de propriedades (Barham, et al. 2016). Em comparação com a alumina, esse material apresenta maior força, porém menor dureza e elasticidade. Suas principais aplicações são como material alternativo ou reforço à alumina em cabeças femorais e os mais diversos tipos de próteses.

Outra classe de biomateriais cerâmicos que também tem chamado atenção são os bioreabsorvíveis por possuírem boas qualidades metabólicas e degradantes por ações químicas e biológicas no organismo, o fosfato tricálcio e o gesso fazem parte dessa classe. Apresentam as mesmas limitações de cerâmicas bioinertes e bioativas, sendo aplicados no caso do fosfato de tricálcio na confecção de scaffold na área de engenharia tecidual (Wan, et al. 2006; Bucholz, et al. 1987; Turnbull, et al. 2018).

Já as cerâmicas bioativas conseguem interagir com o tecido circundante, promovendo a adesão de vários tipos de fosfatos de cálcio, como por exemplo, a hidroxiapatita (HA) estimulando células (osteoblastos) na cura do tecido (Barham, et al. 2016; Kattimani, Kondaka & Lingomaneni, 2016).

As diferentes formas desses fosfatos se destacam por apresentar excelente biocompatibilidade, bioatividade e não produzem reações tóxicas possibilitando elevados níveis de osseointegração e osteocondução (Barham, et al. 2016).

Estas propriedades somadas à capacidade de absorção e/ou adsorção tornam a hidroxiapatita um biomaterial importante na confecção de um scaffold supostamente desejável para recuperar ou substituir tecidos ósseos danificados.

Suas aplicações abrangem praticamente todo o sistema esquelético, seja na reconstrução ou no tratamento de defeitos ósseo. Podem ainda atuar como suporte na liberação de diferentes compostos neles incorporados, como vacinas, hormônios, antibióticos e agentes anticancerígenos (Bucholz, et al. 1987; Tierong, et al. 2018).

No século passado, precisamente por volta dos anos 80, pesquisadores descobriram que misturando percentuais de alguns fosfatos em solução aquosa obtinha-se uma pasta viscosa

que quando implanta endurecia no organismo formando hidroxiapatita, porém deficiente em cálcio, mas por outro lado materiais extremamente biocompatíveis e reabsorvíveis pelo organismo dando origem a um novo tecido ósseo (Dorozhkin, 2008; Turnbull, et al. 2018).

### 3.2.1 HIDROXIAPATITA (HA)

A hidroxiapatita é um fosfato de cálcio constituído de três elementos químicos, sendo estes o cálcio (Ca) em maior proporção, o fosforo (P) e o oxigênio (O) (Cavalcanti, Lage e Fabris, 2008; Miguez-Pacheco, Hench & Boccaccini, 2015). Apresenta uma estrutura cristalina hexagonal com parâmetros de rede iguais a ( $a_1=a_2=a_3 \neq c$  e  $\alpha=\beta=90^\circ$  e  $\gamma=120^\circ$ , com uma célula unitária formada por 10 íons de cálcio situados em dois sítios cristalográficos não equivalentes sendo um destes denominado de sitio 1 e organizado com quatro íons de cálcio. O sitio 2 apresenta seis íons de cálcio organizados na forma de um triangulo equilátero. Existem ainda quatro sítios cristalinos distintos 16 de oxigênio e os demais equivalentes do fósforo e de fosfatos formando uma unidade compacta, fortemente covalente como ilustrado na quadro 2 (Terra, et al. 2009; Miguez-Pacheco, Hench & Boccaccini, 2015).

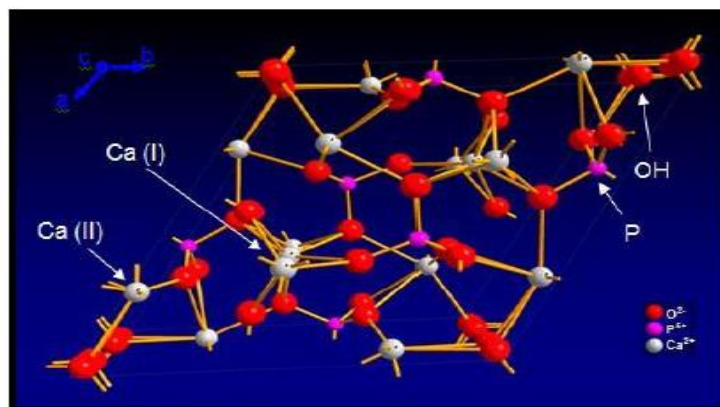
**Quadro 1:** Fosfatos de cálcio, fórmulas químicas e razões Ca/P. **Fonte:** Adaptada (Guastaldi & Aparecida 2009)

Fosfato de cálcio	Fórmula química	Ca/p
Fosfato tetracálcio (TeCp)	$Ca_4O(PO_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (Acp)	$Ca_3(PO_4)_2 nH_2O$	1,5
Fosfato tricálcio (TCP)	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcio (OCP)	$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	1,0
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	$CaHPO_4$	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$Ca_2P_2O_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD)	$C_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$	1,0
Fosfato heptacálcio (HCP)	$Ca_7(P_5O_{16})_2$	0,7
di-hidrogênio fosfato tetracálcio (TDHP)	$Ca_4H_2P_6O_2$	0,7
Fosfato monocálcio mono-hidratado (MCPM)	$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$	0,5
Metafosfato de cálcio (CMP)	$Ca(PO_3)_2$	0,5

Sua estrutura cristalina permite ocorrer varias substituições o que conseqüentemente implica possíveis trocas entre íons (catiônico-aniônicas), no qual possibilita incorporar muitos outros elementos na sua estrutura, preferencialmente por íons metálicos monovalentes, bivalentes e trivalentes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ), além de possíveis substituições com elementos de transição, como os lantanídeos, no entanto mais raras de ocorrer por causa da escassez desses elementos em tecidos biológicos (Rey, et al. 2007; Turnbull, et al. 2018; Liu, et al. 2017). Podemos observar para sua célula unitária uma forma compacta do cristal de apatita, distribuída entre os grupos Ca,  $\text{PO}_4$  e OH empacotados e juntos como pode ser visto na figura 3.

De fato, todas essas substituições levam a uma desorganização estrutural da hidroxiapatita, e que conseqüentemente a mudanças físico-químicas e morfológicas. Contudo nos organismos vivos, essas substituições atuam como reserva de Ca e P em sistema regulador de diferentes íons presentes em líquidos corporais por meio de excreção ou armazenamento, e isso tem como impacto o aumento da massa óssea sobre o implante (Rey, et al. 2007; Turnbull, et al. 2018; Liu, et al. 2017).

**Figura 3:** Estrutura da hidroxiapatita. **Fonte:** (Costa, et al. 2009)



Giácomo et al (2014) apresentou resultados acerca do uso combinado de hidroxiapatita a um tipo específico de creme dental como método adicional a escovação diária no combate a lesões iniciais de carie radicular. Foi possível observar também a eficácia do material em relação a diminuição da placa bacteriana.

Rui Xiu-Sun et al (2016) estudaram um material a base de hidroxiapatita e colágeno com características semelhantes a dos ossos naturais. Os pós de Hap-colágeno foram

preparados a partir de um osso de fêmur bovino cortado em pedaços e tratados em solução alcalina e em surfactante varias vezes, no final foram lavadas e liofilizadas. Para os pós de (Hap) puro foram utilizados dois métodos diferentes de tratamento um em solução alcalina e outro em calcinação em forno elétrico. Os pós foram analisados por MEV, DRX, FTIR, e testes de Citoxidade. Os resultados apontaram o material como promissor na construção de suportes na reconstrução do tecido ósseo.

Meskinfam et. al (2016) desenvolveram um andaime de poliuretano em (3D)/hidroxiapatita para regeneração do tecido ósseo com taxa de biodegradação lenta e porosidade adequada. O processo de polimerização consistiu em uma mistura com polipropileno e poli-éter-poliol. A síntese foi realizada utilizando uma razão não estequiométrica de OH/NCO de 100/133 respectivamente. Os andaimes foram analisados por FTIR, DRX, morfologia, propriedades mecânicas e teste de citocompatibilidade *in vitro*. De acordo com os espectros de FTIR foi possível identificar a presença de grupos funcionais atribuídos a hidroxiapatita. Foi possível observar no DRX os picos característicos da hidroxiapatita em estrutura monofásica de baixo cristalinidade semelhante à encontrada no osso. Micrografias mostraram poros com tamanho e distribuição homogênea; também foi possível observar o crescimento da camada de apatita na superfície da espuma. As curvas de tensão-deformação para o PU puro e os tratados obtiveram um baixo valor de deformação (0 - 0,2 mm/mm), sendo que a curva de tensão-deformação obtida para os PU tratados foi maior. O teste de citocompatibilidade *in vitro* mostrou que ambos os andaimes promoveram viabilidade celular, sendo que o valor encontrado para as espumas tratadas foram superior as amostras não tratadas PU puro com aumento de ate 115% com o passar de dias, onde atinge o máximo em 14 dias. No entanto, a biomineralização de espumas de PU pode ser muito útil no desenvolvimento de materiais para substituição óssea.

### **3.3 MATERIAIS POLIMÉRICOS**

Os biopolímeros estão entre os materiais mais empregados no âmbito da engenharia tecidual. Entre as vantagens de se utilizar esses materiais em relação a metais e cerâmicas incluem a facilidade de fabricar e produzir formas variadas, podendo ainda sofrer modificações secundárias, ao um custo razoável e disponibilidade de matéria-prima, bem como propriedades físicas e químicas desejáveis para aplicações específicas (Tabata, 2009; Majid, et al. 2018; O`brien, 2011).

Estes podem ser obtidos a partir de reações de polimerização (hidrólise simples) ou por meio de organismos vivos, classificando-se assim respectivamente, em sintéticos e naturais (Majid, et al. 2018).

Porém outras vantagens podem ser destacadas a essa classe de biomateriais, como fácil controle de síntese, não sofrerem degradação por células, apresentam-se como hidrofílicos e/ou hidrofóbicos, ilimitados e ainda biocompatíveis e biodegradáveis. Entretanto, de forma geral suas limitações de uso se baseiam na pouca resistência mecânica, acrescido de sua interação com o tecido hospedeiro com possibilidades de reações tóxicas provenientes de reações ácidas liberadas durante a degradação (Sachico, et al. 2017; Reddy, et al. 2003; Gómez, et al. 2014).

Os polímeros biodegradáveis são aqueles que degradam segundo a ação de microorganismos (bactérias, fungos e algas) de ocorrência natural, gerando CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e água em ambientes aeróbicos, sendo CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> e componentes celulares em ambientes anaeróbicos (Pandey, 2015; Fu, 2001). Entre os mais utilizados destacam-se o poli (3-hidroxi butirato) (PHB), poli (3- hidroxi valerato) (PHV) e o poli (hidroxi butirato-covalerato) (PHB-V), sendo que estes se assemelham em vantagens e limitações aos biopolímeros sintéticos (Lepoitteven, et al. 2002; Francis, et al. 2011; Gómez, et al. 2014).

Outros materiais poliméricos que tem chamado atenção por sua diversificação na confecção de suportes como biomateriais em aplicações biomédicas são às proteínas como (colágeno, elastina e fibroína) e os polissacarídeos (quitosana, alginato, goma xantana, ácido hialurônico e pectina), sendo todos estes de origem natural, associados com a habilidade de formar blendas e compósitos, utilizados pela engenharia tecidual para o desenvolvimento de moldes como scaffolds para as mais diversas aplicações (Rossella, et al. 2016; Stevens, 2008).

No entanto, a classe dos biopolímeros sintéticos se torna a cada dia mais relevante em uso biomédico, sejam na confecção de cápsulas na liberação de fármacos, ou como fixadores de cirurgias (grampos, suturas, pinos para ossos, clips) dentro de sistemas *in vivo*. Os biopolímeros sintéticos mais utilizados têm sido o poli (álcool) vinílico (PVA), poli (etileno) glicol (PEG), poli (ácido lático) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido glicólico-ácido lático) (PGLA) e o poli (copraloctona) (PCL) (Lee, 1996; Rossella, et al. 2016; O'brien, 2011; Asti, 2014).

Apesar das adequadas propriedades funcionais esses polímeros geralmente não apresentam grupos químicos favoráveis para interação celular, o que pode desencadear reações inflamatórias ao paciente ao longo de sua utilização. Porém, combinados aumentam

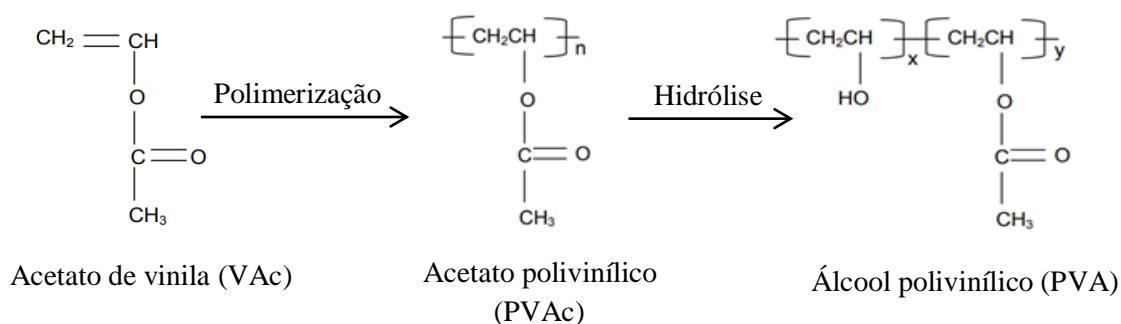
suas possibilidades de interação proporcionando um ambiente satisfatório, tanto para a formação de scaffolds, como para confecção de suturas e enxertos vasculares (Rhim, et al. 2009; Sachico, et al. 2017).

### 3.3.1 POLI (ÁLCOOL) VÍNILICO (PVA)

O poli (álcool) vinílico (PVA) é conhecido por sua alta escala de aplicações e combinações nos mais variados campos alimentícios, farmacêuticos e biomédicos (Kumar, et al. 2004). Foi obtido pela primeira vez em 1924, pelos cientistas Herrman e Haehnel pela hidrólise do acetato polivinílico (PVAc) (Marten, 1985). Quatro décadas depois, aproximadamente por volta 1962, Staudinger estudou a transformação reversível entre o álcool poli vinílico (PVA) e o acetato polivinílico (PVAc) por meio das reações de esterificação e saponificação.

É um copolímero obtido a partir da polimerização, por adição de monômeros de acetato de vinila por um processo de hidrólise simples, transformando-se em acetato polivinílico (PVAc), e que por eliminação desses grupos acetatos finais diferenciam no grau de hidrólise, o que interfere diretamente na polimerização, sendo esta uma característica importante do uso desse material na conformação de várias estruturas para engenharia tecidual. Vejamos o esquema na Figura 4 que mostra detalhadamente a polimerização do acetato de vinila em poli (álcool) vinílico (Queli, et al. 2015; Sunders, 1973).

**Figura 4:** Representação esquemática das reações de polimerização e hidrólise para obtenção do copolímero álcool polivinílico (PVA). **Fonte:** Adaptado de (Finch, 1973; Scotter, 1995).



As propriedades básicas do poli (álcool) vinílico dependem rigorosamente dessas duas características mencionadas acima, o grau de hidrólise (GD) e da polimerização. Por essas excelentes propriedades o PVA é um dos polímeros mais utilizados pela indústria no que se

refere à produção de adesivos, óleos e graxas, boa resistência à passagem de solvente e a passagem de oxigênio (Marten, 1985; Stephanie, et al. 2017; Chaudhuri, et al. 2016).

Estudos mostram que poli (álcool) vinílico apresenta boa estabilidade térmica e baixo custo, sendo assim um material de fácil manuseio (Alfaro, et al. 2015; Queli, et al. 2015). Relatos apontam como uma de suas principais formas de utilização é por meio de solução, onde possui bastante afinidade por solventes polares como a água, seu principal solvente, o dimetilsulfóxido (DMSO), as acetamidas, os glicóis e o dimetilformamida (DMF). Estudos reportados por Finch (1973) descrevem misturas água/DMSO para soluções de PVA, onde se formam soluções de PVA turvas e instáveis após certo período em repouso. Esse grau de turvação seja possivelmente proporcional ao grau de polimerização dos grupos acetatos terminais e da regularidade estrutural do polímero.

Destaca-se ainda por ser um dos poucos polímeros semicristalinos solúvel em água, com boas características interfaciais e mecânicas, o que lhe credencia a um importante desempenho na formação de filmes e fibras, como estabilizante de emulsão, como protetor de colóide, na obtenção de membranas anfifílicas para imobilização de enzimas, na obtenção do poli (vinil butiral) e mais recentemente como carreador de medicamento, devido às suas propriedades de biodegradabilidade e não toxicidade (Batyrbekov, Iskakov&Zhubanov, 1998; Liu, Cheng& Li, 1995; Okaya, Suzuki &Kikuchi, 1999).

Algumas aplicações visam alterar a permeabilidade a gases, aumentar a processabilidade e a resistência térmica, a capacidade de estabilização de dispersões, a biocompatibilidade, a permeabilidade e a biodegradabilidade, controle da cristalinidade e, pela introdução de grupos funcionais, para melhorar ou conferir propriedades específicas como, por exemplo, na construção de um scaffolds supostamente viável para reformulação óssea (Finch, 1973; Sunders, 1973; Wang, et al. 1996).

Morgado et. al. (2017) relata estudos para a produção de filmes de PVA/Quitosana/Ibuprofeno utilizando dióxido de carbono supercrítico para liberação controlada de Ibuprofeno destinados à regeneração de tecido cutâneo. Os resultados do estudo de liberação de Ibuprofeno *in vitro* mostraram que as  $\beta$ -Ciclodextrinas permitiram uma liberação controlada do fármaco a partir dos filmes, o que é crucial para a sua aplicação no tratamento de feridas. Por sua vez, os ensaios *in vivo* revelaram que a presença dos filmes de PVA/quitosana contendo transportadores de IBP- $\beta$ -ciclo dextrinas evitou a formação de sarna e uma inflamação excessiva, permitindo uma cicatrização precoce da pele.

Yeathad et al (2012) estudaram a obtenção de scaffolds porosos a partir dos

biomateriais de PVA/HA. Os scaffolds compósitos foram preparados a partir de uma suspensão híbrida. As propriedades térmicas e químicas foram investigadas, onde revelaram a formação de um composto compacto com uma excelente estabilidade térmica na reconstrução tecidual do osso.

Sergio et. al. (2018) estudaram e caracterizaram compósitos scaffolds para os mais variados tipos de tratamento na regeneração do tecido ósseo. Misturas de PVA/quitosana/ HA em diferentes proporções foram utilizados para sintetizar scaffolds via liofilização. Os scaffolds foram analisados por FTIR, DSC, propriedades mecânicas, solubilidade, morfologia e viabilidade celular. A solubilidade mostrou que os andaimes absorveram 5 vezes mais água do que a estrutura de partida durante o tempo em exposição, com melhores características hidrofílicas. Apresentaram excelentes propriedades mecânicas, tamanho de poros uniforme para todos os filmes, citotoxicidade insignificante, indicando um material compatível para ser usado em organismos vivos e promissor na construção de compósitos andaimes na reparação e reconstituição óssea.

Roopali et. al. (2013) estudaram e desenvolveram blendas e scaffolds a base de PVA/PEO/CMC (carboximetil celulose), por fundição de solvente e liofilização para várias aplicações biomédicas. As amostras de PVA/PEO/CMC foram preparadas em diferentes proporções de 90/10/20, 80/20/20, 70/30/20, 60/40/20 e 50/50/20 e revestidos com poliéster (PET). As amostras foram caracterizadas por FTIR, DRX, morfologia e atividade antimicrobiana. Os resultados morfológicos apontaram uma estrutura altamente porosa com poros interconectados. A atividade antimicrobiana demonstrou uma inibição satisfatória do scaffolds para todas as composições. Os estudos demonstraram boa capacidade para futuras aplicações do tecido ósseo.

Gang Wu et al (2008) estudaram a composição de compósitos scaffolds formados de PVA/HA contendo entre 2 e 5% de HA para avaliações *in vitro*. As amostras foram caracterizadas por DRX, FTIR, e SEM. Os resultados da SEM mostraram que a apatita se formou em um curto intervalo de tempo, após sua imersão em SBF, demonstrando alta bioatividade do composto. Foram encontrados picos característicos da apatita na composição do compósito. Foram também observadas bandas novas com a inserção da HA no polímero.

Song et al (2012) estudaram e avaliaram uma matriz extracelular (scaffold) formada a partir de PVA/col-HA) pela técnica de eletrofição para restauração ou substituição de superfícies protéticas ortopédicas. As amostras foram investigadas por morfologia, biodegradabilidade, propriedades mecânicas e biocompatibilidade. Os resultados mostram que



as nanofibras são biodegradáveis e biocompatíveis para testes *in vitro*. O scaffold demonstrou boa estabilidade mecânica e também um aumento na proliferação de células *in vitro*. A matriz demonstrou ser compatível e promissora para sua utilização em superfícies ósseas para futuras aplicações ortopédicas.

Chaudhuri et al (2016) estudaram e avaliaram scaffolds formados a partir de PVA/HA/PVP (polivinilpirrolidona), em diferentes concentrações. Os filmes demonstraram máxima condutividade elétrica e excelente biocompatibilidade. Esses andaimes compósitos podem vir a serem utilizados na engenharia tecidual no que corresponde a restauração óssea e em outras aplicações biomédicas.

Ahmed et al (2018) estudaram nanofibras de PVA/quitosana/ZnO, onde foram avaliadas quanto as propriedades bactericidas contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* e de cicatrização de ferimentos em coelhos. Os resultados mostraram que tanto a matriz quitosana/PVA quanto as fibras adicionadas de ZnO apresentam atividade bactericida significativo. Os estudos de cicatrização *in vivo* mostram que as nanofibras aceleram o processo de cicatrização, sendo eficazes na utilização na reparação tecidual.

Pierpaoli et al (2017) estudaram e avaliaram a função bactericida de daptomicina suplementada com extratos de *Bixa Orellana* contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina para lesões infectadas. Os resultados mostraram que a carga bacteriana em camundongos que receberam os extratos do urucum não associados ao antibiótico foi menor em comparação ao grupo infectado não tratado. Quando associados à daptomicina a redução da carga bacteriana tornou-se mais acentuada. Foram relatadas ainda alterações imunológicas como a expressão de marcadores biológicos de cicatrização de ferimentos, tornando o uso adequado para tratamento de infecções.

Muthukumar et al (2014) estudaram e avaliaram microesferas de colágeno de peixe carregadas de extratos de urucum (*Bixa orellana*). Os resultados mostraram a zona de inibição variando de 9,5 a 8,0 mm para concentrações de 100 a 50 µl do extrato contra *Staphylococcus aureus* contra a *Escherichia coli*, apresentando inibição moderada, com valores que variam de 6,0 a 5,0 mm para as mesmas concentrações. Dessa forma, a incorporação do extrato melhorou o efeito antibacteriano das microesferas. A atividade contra as células cancerosas (linhas celulares MCF-7) apresentaram 83% de morte celular a 1000 µg/poço. Concluíram que as microesferas colágeno/*Bixa Orellana* podem ser usados como agentes anticancerígenos e que a eficácia terapêutica foi aumentada com a adição do extrato do urucum.

### 3.3.2 POLI (ETILENO) GLICOL (PEG)

Adicionalmente, várias estratégias podem ser adotadas com o intuito de obter sistemas de liberação apropriados para uma dada aplicação terapêutica. No que tange ao prolongamento da liberação, a utilização de blendas de polímeros com outros materiais têm-se mostrado uma importante estratégia para a modulação do perfil de liberação de fármacos, construção de scaffolds e degradação das micropartículas, pois modifica as propriedades físico-químicas das microesferas, tais como porosidade e taxa de erosão (Moghimi & Hunter, 2001; Zhang, et al. 2012).

Por outro lado, as nanoestruturas, além de permitirem a encapsulação e o controle da liberação de fármacos, assim como de andaimes satisfatórios podem ainda apresentar a superfície modificada com polímeros hidrofílicos, como, por exemplo, o poli(etileno glicol) (PEG) ou funcionalizada com unidades de oligo e polissacarídeos para fins de reconhecimento celular ou que sejam aptos a responder a estímulos externos (Mano, 2004; Zhang, et al. 2012). Esta grande variedade de materiais e estruturas oferece um amplo espectro de possibilidades no desenvolvimento de sistemas a que venha promover uma alternativa para uma perfeita ossointegração para pacientes com patologias do tecido ósseo.

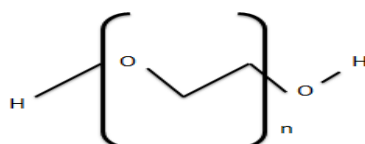
O poli (etileno) glicol (PEG) tem sido bastante explorado com o intuito de obter partículas que escapam do reconhecimento e captura pelas células fagocitárias, após administração *in vivo*, permanecendo por um maior tempo na circulação sistêmica. A estratégia que tem sido mais bem sucedida para obter sistemas de liberação “furtivos” consiste em preparar nanoestruturas a partir de copolímeros sintéticos (Moghimi & Hunter, 2001; Utracki, 2004; Bhattacharya, Gupta & Kamal, 2008).

Outra função do PEG é a ação como plastificante no processo de mistura. Os plastificantes são compostos, não voláteis, de alto ponto de fusão e de moderado a baixo peso molecular, que aumentam a flexibilidade e o escoamento e, conseqüentemente, a processabilidade dos polímeros (Moghimi & Hunter, 2001).

A adição de plastificantes reduz as forças intermoleculares e aumenta o volume livre do polímero. Esses aditivos possuem três funções básicas: diminuir a temperatura de processamento do polímero para valores menores do que sua temperatura de decomposição modificando as propriedades do produto final (flexibilidade) e com isso alterando as propriedades de processamento. A outra função corresponde à disponibilidade, a permanência, a baixa volatilidade, a compatibilidade e a miscibilidade com o polímero, enquanto que o baixo custo, a ausência de cor, ser inodor, atóxico, não migrar, não ser

inflamável, resistente ao calor e à luz, e de fácil dispersão são características desejadas a esses aditivos (Mano, 2004). Sua fórmula química é  $C_2H_{4n+2}O_{n+1}$ , e sua estrutura química é representada de acordo com a figura 5.

**Figura 5:** Estrutura química do poli (etileno) glicol (PEG). **Fonte:** (Moghimi & Hunter, 2001).



### 3.4. MATERIAIS COMPÓSITOS

Os compósitos são uma classe de materiais constituídos por uma fase contínua (matriz) e uma fase dispersa (reforço) separada por interfaces, onde pode se observar propriedades combinadas de constituintes individuais. Contudo, esses foram desenvolvidos para solucionar ou minimizar certas limitações na utilização de materiais cerâmico e poliméricos, porém com melhores taxas de reabsorção após a implantação e melhor resistência mecânica (Sachico, et al. 2017; Guastaldi, et al. 2010).

Várias intervenções cirúrgicas são utilizadas diariamente para a regeneração ou reconstrução óssea, a partir de materiais compósitos, seja do tipo autoenxerto ou aloenxerto, esta última denominação dada às variações de (biomateriais), onde se acredita reparar o sítio lesionado em vários estágios. No entanto, nenhuma das técnicas utilizadas na prática remanescente (autoenxerto ou aloenxerto) reúne condições ou características ideais para uma boa ossointegração, tais como: bons níveis de osteoindução, potencial angiogênico, biologicamente seguro, baixa morbidade ao paciente, quantidade irrestrita e preço acessível (Bahram, et al. 2016).

Por sua vez, vários estudos têm sido aplicados a partir de compósitos dos mais variados materiais, que aliados à técnica adequada demonstram capacidade para osteogênese, seja por osteoestimulação, osteoindução e ossointegração na reconstrução óssea, como, por exemplo, vários tipos de implantes ortopédicos, odontológicos e recobrimentos visando um ambiente condutivo com potencial antimicrobiano (Meskinfam, et al.2018).

Nota-se, portanto, que vários tipos de compósitos vêm sendo amplamente pesquisados a fim de melhorar propriedades que possam limitar a aplicação de um dado biomaterial. A

formação dos biomateriais compósitos pode se dar de diversas formas, sendo que as mais empregadas são do tipo polímero-cerâmica e metal-cerâmica (Meskinfam, et al.2018).

Assim, a perspectiva da engenharia tecidual é combinar os avanços recentes no campo dos biomateriais e da biologia celular, de modo que os enxertos ósseos possam abranger a maioria de todas as características citadas.

Majid et al (2016) estudaram diferentes quantidades de hidroxiapatita com polimetilmetacrilato (PMMA) na formação de um cimento ósseo para aplicações ortopédicas. O cimento de (PMMA)/HA foram preparados na proporção de 5, 10 e 15% de HA, através de um moinho de bolas planetário em álcool etílico. Os compósitos foram analisados por propriedades mecânicas e morfologia. De acordo com os ensaios mecânicos foi possível observar que com a adição de 5% de HA na matriz de cimento ósseo diminuiu a resistência á fratura do compósito em comparação com HA puro. Com o aumento de nano-HA foi possível observar um aumento na tenacidade da fratura. No entanto, esse aumento é seguido por um declínio na resistência á fratura, onde esse comportamento pode está atribuído ao método utilizado para se fazer a mistura. As micrografias mostraram um aumento de porosidade do cimento com o aumento da adição de nano-HA. Um efeito negativo observado é que esse aumento de porosidade gera o crescimento de fissuras. Por outro lado, o número e os diâmetros dos poros na superfície do cimento puro foram insignificantes em relação às nano-HA puros, como resultado, HA apresentou menor tenacidade em relação ao cimento puro. Foi possível observar para as nano-HA que com o aumento de HA na superfície, aumenta a dissipação de energia o que pode superar o efeito adverso da porosidade e, portanto, aumentar à resistência a fratura do cimento.

#### **4. NORBIXINA (NBx)**

Dentre os diferentes materiais empregados para formação de scaffolds tendo como matriz o poli (álcool) vinílico (PVA), poucos são os estudos que apontam a combinação desse material a norbixina, o que representa uma condição favorável no desenvolvimento desse estudo.

A norbixina (NBx) é um corante natural extraído do pericarpo das sementes do urucuzeiro (Silva, 2007) e, que após sua extração são trituradas produzindo um pó vermelho bastante utilizado como colorífico (colorau), muito utilizado na indústria têxtil e alimentícia (Giuliano, et al. 2003), também tendo destaque nas indústria de cosméticos, farmacêuticas e recentemente voltadas para áreas biomédicas (atividade anti-inflamatória, antibacteriana,

antifúngica, anticarcinogênica, anticonvulsivas, antioxidante, tratamento de diabetes mellitus) (Armad, et al. 2006; Inês, et al. 2018; Roohbakhsh, Karimi & Iransmai, 2017; Tao, et al. 2015).

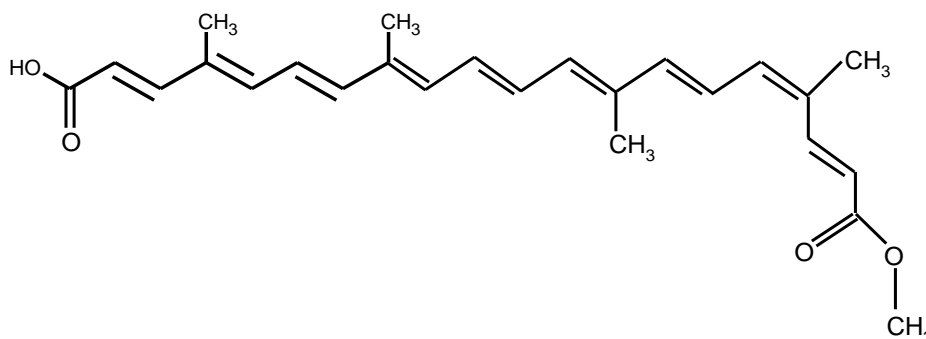
Pertence à família *Bixaceae* e ao gênero *Bixa*, apresentando como espécie mais comum a *Bixa orellana* L, uma árvore nativa da América Central e do Sul, porém podemos também encontra em países mais distantes como na Indonésia, Índia, Quênia e África Oriental (Bautista, et. al. 2004; Vilar, et. al. 2014). possui um caráter aniônico, devido a grupos carboxílicos ligados a sua estrutura (Kohno, et. al. 2014) essa característica o torna um material interessante para que seja intercalado com outros materiais via adsorção eletrostática, como proposto por Decher (1992). Podemos ilustrar de acordo com a figura 6 (a) e (b) *Bixa orellana* L(urucuzeiro) e o fruto com a semente de urucum.

**Figura 6:** (A) Urucuzeiro e (B) Fruto com sementes do urucum. **Fonte:** (Silva, 2006).

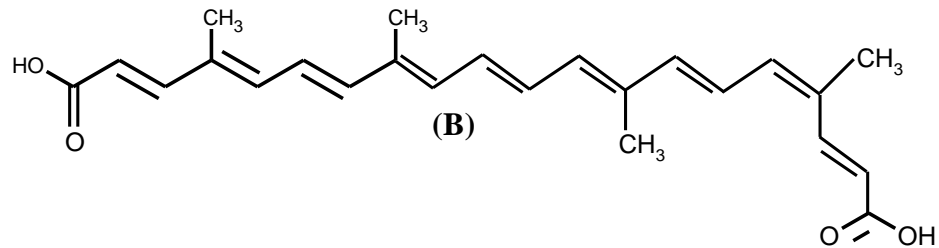


Das sementes de urucum extraem-se os pigmentos *cis*-bixina e *cis*-norbixina, sendo que a *cis*-bixina corresponde a 80% dos corantes totais (Silva, 2006). A norbixina pode ser obtida de forma natural, porém uma estratégia para aumentar a produção de norbixina tem sido através da hidrólise alcalina da bixina, seguida de precipitação em meio ácido (Luis & Costa, 2005; Stringheta, Silva & Costa 2018; Vilar, et al. 2014). A Figura 7 (a) e (b) corresponde às estruturas dos pigmentos *cis*-bixina e *cis*-norbixina.

**Figura 7:** Estrutura química (A) *cis*-bixina e (B) *cis*-norbixina. **Fonte:** (Silva, 2006).

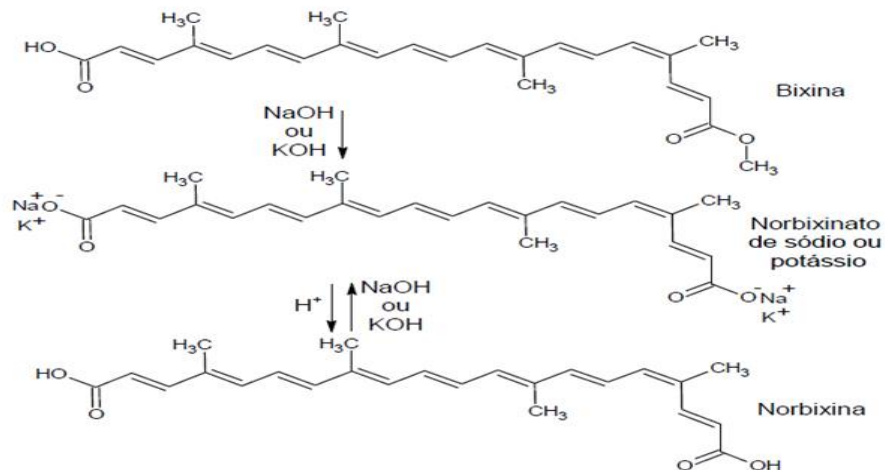


(A)



A bixina apresenta fórmula molecular  $C_{25}H_{30}O_4$  proveniente de uma cadeia isoprênica de 24 carbonos contendo um ácido carboxílico e um éster metílico nas extremidades (Luis & Costa, 2005; Da Roz, et al. 2015). Quando esse grupo éster é solubilizado em soluções concentradas de NaOH e/ou KOH forma o sal de norbixina, o norbixinato de sódio ou de potássio, respectivamente (Scotter, 2009; Stringheta & Costa 2018). Com a adição de um ácido forte, como por exemplo, (HCl ou  $H_2SO_4$ ) a norbixina é precipitada conforme mostra o esquema apresentado na figura 8 abaixo:

**Figura 8:** Reação de saponificação em meio alcalino para obtenção da norbixina. **Fonte:** Adaptado de (Stringheta, Siva & Costa 2018).



Parize et al (2008) estudaram o encapsulamento de microcápsulas formadas a partir de quitosana/norbixina pela técnica spray drying para diferentes solventes. O material foi caracterizado por FTIR, TG-DTG, DSC e MEV. Foi possível observar resultados satisfatórios

para todas as caracterizações físico-químicas e morfológicas, além de uma boa interação entre a matriz de quitosana e a norbixina.

Monte et al (2016) estudaram a genotoxicidade de membranas compósito de poliestireno/colágeno/norbixina em ratos, através de testes de micronúcleo e ensaios de cometa. Os resultados para o teste de micronúcleo mostraram que com o passar do tempo em exposição à membrana não apresentou mutagenicidade quando comparado ao controle negativo. Por outro lado, os resultados por ensaio de cometa mostraram um aumento de danos nas primeiras horas de contato e durante as 24 horas em que a membrana ficou em exposição, sugerindo que a membrana apresentou resultado positivo frente à toxicidade do material, tornando-o apto para aplicações futuras na reconstrução e reparação de tecidos.

## 5. CONCLUSÃO

O objetivo desse trabalho visa introduzir em um futuro próximo processos e tecnologias existentes na área clínica para melhorar o atendimento ao paciente. Diante dessa perspectiva existe uma tendência em aperfeiçoar terapias e combinar abordagens na engenharia de tecidos para que possam crescer previsivelmente o tecido danificado. A engenharia de tecidos é um ramo em rápido desenvolvimento, e os pesquisadores estão se concentrando no desenvolvimento e melhoria de novos materiais para imitar o ambiente biológico do corpo como autenticamente possível. Estes materiais isolados ou combinados desempenham um papel importante nos processos regenerativos do tecido. Já foi possível obter muitos resultados promissores *in vitro*, mas, infelizmente, apenas alguns deles foram bem sucedidos. Houve uma melhoria considerável nas estruturas de andaimes pela introdução da impressão 3D e sua aplicação a células e produtos biológicos. No futuro tecnologias de bioimpressão parecem muito promissoras para uma ampla gama de aplicações em medicina de transplante e tratamentos. Foi realizada uma pesquisa bibliográfica adotando-se os procedimentos cientificamente recomendados, isto é, com consulta às principais bases de dados referentes à área de biomateriais para formação de scaffolds precedida de uma escolha criteriosa de palavras-chave. Também pela internet foram consultados sites nacionais e internacionais referentes à: periódicos especializados no tema; associações relacionadas com matérias-primas e com produtos poliméricos; principais sites de busca via palavras-chave, porém não encontramos trabalhos na literatura com ambas as palavras chaves juntas descritas PVA/PEG/NBx/HA. Todavia alguns trabalhos relacionados com esses materiais foram

abordados. Nesta revisão bibliográfica encontram-se presentes apenas alguns dos trabalhos considerados mais relevantes para a realização do nosso estudo.



## 6. REFERÊNCIAS

- Abukawa, H. *et al* (2006). The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: a review of biomaterials for scaffolds and implant coatings. *Dental Clinics of North America*, 50, 205-216.
- Ahmad, J. *et. al.* (2006). Preliminary pharmacological screening of *Bixa orellana L.* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 108, p. 264-271.
- Ahmed, R. *et. al.* (2018). Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nano fibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 120, p. 385-393.
- Albach, B. da Silva, T. A.; Barbosa, R. V.(2016). Síntese do Eval-g-norbixina: Aplicação como um Pigmento em Polímeros. *Rev. Virtual Quim.* |Vol XX|.ISSN 1984-6835.
- Asti, A.; Gioglio, L. (2014). Natural and synthetic biodegradable polymers: Different scaffolds for cell expansion and tissue formation. *Int. J. Artif. Organs*, 37, 187–205.
- Babuska, V.; Dobra, J.; Kulda, V.; Kripnerova, M.; Moztarzadeh, A.; Bolek, L.; Lahoda, J.; Hrusak, D. (2015). Comparison of fibroblast and osteoblast response to cultivation on titanium implants with different grainsizes. *J. Nanomater*, 1–9.
- Babuska, V.; Dobra, J.; Kulda, V.; Kripnerova, M.; Moztarzadeh, A.; Bolek, L.; Lahoda, J.; Hrusak, D. (2015). Comparison of fibroblast and osteoblast response to cultivation on titanium implants with different grain sizes. *J. Nanomater*, 1–9.
- Bahram Amiri, Marzieh Ghollasi, Mohsen Shahrusvand, Mehdi Kamali, Ali Salimi (2016). Osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells on modified PES-PEG electrospun fibrous composites loaded with Zn<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub> bioceramic nanoparticles, 148–158. 92.
- Batyrbekov, E. O.; Iskakov, R. & Zhubanov, B. A. (1998). *Makromol. Symp.*, 127, p.25.
- Bautista, A. R. P. L.; Moreira, E. L. T.; Batista, M. S.; Miranda, M. S.; Gomes, I. C. S. (2004). Subacute toxicity assessment of annatto in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 625–629.
- Berthiaume, F.; Maguire, T.J.; Yarmush, M.L. (2011). Tissue Engineering and Regenerative Medicine: History, Progress, and Challenges. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 2, 403–430.
- Best, S. M.; Porter, A. E.; Huang, J.; J. (2008). *Eur. Ceram. Soc.*, 28, 1319.
- Bhatthacharya, S. N.; Gupta, R. K.; Kamal, M. R. (2008). *Polymeric Nanocomposites. Theory and Practice*. Hanser, Munich.
- Bosbach, W. A. (2015). The Elastic Behavior of Sintered Metallic Fibre Networks: A Finite Element Study by Beam Theory. *Plas One* 10.E 014311.
- Bulchoz, R. W.; Carlton, A.; Holmes, R. E. (1987). Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone grafts substitute. *The Orthopedics Clinics of North America*, Philadelphia, v.18, p.323-334.
- Burg, K. J. L.; Porter, S.; Kellam, J. K. (2000) Biomaterial developments for bone tissue

engineering. **Biomaterials**, Surrey, v.21, n.23, p.2347- 2359.

Carlo, E. C.; Borges, A. P.; Del Carlo, R. J.; Martinez, M. M.; Oliveira, P. M.; Morato, G. O.; Eleoterio, R. B.; Reis Junior, M. S. (2009). Comparison of in vivo properties of hydroxyapatite polyhydroxybutyrate composites assessed for bone substitution. *The Journal of Craniofacial Surgery*, Boston, v. 20, n.3, p.853-859.

Cha, P. R. .; Han, H. S.; Yang, G. F.; Kim, Y. C.; Hong, K. H. .; Lee, S. C. .; Jung, J. Y. .; Ahn, J. P. .; Kim, Y. Y.; Cho, S. Y.; Byun, J. Y.; Lee, K. S.; Yang, S. J.; Seok, H. K.; (2013). **Mater Sci. Eng. Rep**, 3, 2367.

Chan, W. D.; Perinpanayagam, H.; Goldberg, H. A.; Hunter, G. K.; Dixon, S. J.; Santos, G. C. ; Rizkalla, A. S. (2009). Tissue 25 engineering scaffolds for the regeneration of craniofacial bone. *Journal(Canadian Dental Association)*, Ottawa, v.75, n.5, p.373-377.

Chao Wanga,b, WenfengLuoa, Puwang Li b, Sidong Li c, Ziming Yang b, Zhang Huc, YangyangLiub, NingjianAoa. (2017). Preparation and evaluation of chitosan/alginate porous microspheres/Bletilla striata polysaccharide composite hemostatic sponges. *Carbohydrate Polymers* 174.432–442.

Chen, K. Y.; Shyu, P. C.; Dong, G. C.; Chen, Y. S.; Kuo, W. W.; Yao, C. H. (2009). Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins cross-linked gelatin composite. **Biomaterials**, Surrey, v.30, n.9, p.1682-1688.

Chen, Q, Leong, S, e Thomas, G. (2013). Elastomeric Biomaterials For Tissue Engineering. *Progress in Polymer Science*, 31, pp. 584-671.

Chung, H. e Park.T. (2007). Surface Engineering and drug releasing pre-fabricated Scaffolds for Tissue Engineering. *Advanced Drug Relivery Review*, 59, pp. 249-262.

Costa, C.L.S.; Chaves, M.H. (2005).Extração de pigmentos das sementes de Bixa orellana L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**. v. 28, p. 149-152.

Cunha, C. Panseri. S. e Antonini. S. (2011). Emerging Nanotechnology approaches in Tissue Engineering for Peripheral Nerve Regeneration. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 7, pp. 50-59.

Da Roz, A. L.; Leite, F. L.; Ferreira, M.; Oliveira Jr., O. N. (2015). *Nanoestruturas: princípios e aplicações*. Coleção Nanociência e Nanotecnologia, vol. 1. (1st ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.

Daoyong Mao, Qing Li, Ningning Bai, Hongzhou Dong, Daikun Li. (2018). Porous stable poly(lactic acid)/ethyl cellulose/hydroxyapatite composite scaffolds prepared by a combined method for bone regeneration *Carbohydrate Polymers* 180 104–111 Dorozhkin, S. V.; **Biomaterials**, 21, 1465.

Decher, G. F.; Hong, J. D.; Schmitt, J. (1992). Buildup of ultrathin multilayer films by a selfassembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic

polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**, 210/211, 831-835.

Dhandayuthapani, B.; Yoshida, Y.; Maekawa, T.; Kumar, D.S. (2011).polymeric scaffolds in tissue engineering application: A review. *Int. J. Polym. Sci*, 2011, 1–19.

Finch, C. A.(1973). "Poly Vinyl Alcohol, Properties and Applications", John-Wiley, New York.freeze-cast hydroxyapatite ceramics. **Materials Science and Engineering C** 30.283–287.

Fu, X, S. Q.; (2001). Polymer-clay nanocomposites: exfoliation of organophilic montmorillonite nanolayers in polystyrene, **Polymer**, v. 42, p.807-813.

Ghasemi-Mobarekh, L. et. al. (2019). Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. v. 10, p. 45-50.

Giuliano, G.; Rosati, C.; Bramley, P. M. (2003).To dye or not to dye: biochemistry of annatto unveiled. **Trends in Biotechnology**, 21 (12), 513-516.

Gómez-Mascaraque, L.G.; Méndez, J.A.; Fernández-Gutiérrez, M.; Vázquez, B.; San Román, J. (2014). Oxidized dextrans as alternative crosslinking agents for polysaccharides: Application to hydrogels of agarose–chitosan. **Acta Biomater**, 10, 798–811.

Guastaldi, A. C., Aparecida, A. H., (2010). “Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos”, **Química Nova**, v. 33, n. 6, pp. 1352-1358.

Hamad I, Hunter AC, Szebeni J, Moghimi SM. (2008). Poly(ethylene glycol)s generate complement activation products in human serum through increased alternative pathway turnover and a MASP-2-dependent process. **Mol Immunol**; 46: 225-232.

Hernandez, R. M., Cunha, C. James, S. L. (2010). Microsules and Microcarriers for in situ cell Delivery.*Advanced Drug Delivery. Reviews*, 62, pp. 711-730.

Holzapfel,B. M. Reichert, J. C. Schantz, J, T. Gburek, U, Rackwith,L. Noth, U, Jakob, Rudert, M, GROLL. J, Hutmacher,. D. W. (2013). Adv. **Drud Delivery**.Rev. 65, 581.

Hu, J.; Zhu, Y.; Tong, H.; Shen, X.; Chen, L.; Ran, J.A (2016).detailed study of homogeneous agarose/hydroxyapatite nanocomposites for load-bearing bone tissue. *Int. J. Biol. Macromol.* 82, 134–143.

Huan Yi ,Fawad Ur Rehman , Chunqiu Zhao , Bin Liu , e Nongyue He. (2016). Recent advances in nano scaffolding for bone repair 10.1038 / boneres.50.

Huang, C. et. al. (2018). Controlled molecular self-assembly of complex three-dimensional structures in soft materials. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v. 115, n. 1, p. 70-74.

Huang, J.-C.*et al.* (1990).Biodegradable Plastics: A Review.*Advances in Polymer Technology*, New York, v.10, n.1, p. 23-30.intercalation. **Journal Thermal Anallysis and Calorimetry**, 87, 783.

Inês, J. et. al. (2018). Hematology and biochemistry of *Colossoma macropomum* co-infected

with *Aeromonas hydrophila* and monogenean *Anacanthorus spathulatus* after treatment with seed extract of *Bixa orellana* L. **Aquaculture journal**. v. 495, n. June, p. 452-457.

Ikada, Y. (2006). Challenges in Tissue Engineering. **The Royal Society Interface**, 3, pp. 589-599.

Jell, G.; Stevens, M.M. (2006). Gene activation by bioactive glasses. **J. Mater. Sci. Mater. Med**, 17, 997–1002.

Ji J, Tong X, Huang X et al. (2015). Nano-hydroxyapatite / chitosan / gelatin-shaped porous scaffolds increase the proliferation and osteogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells from gingival fibroblasts. **Biomed Mater**.10; 045005.

Kamoun, E. A. et. al. (2015). Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. **Arabian Journal of Chemistry**. v. 8, p. 1-14.

Kang Hw, Lee SJ, Ko IK et al. (2016). A 3D bioprinciple system to produce human scale tissue constructs with structural integrity. **Nat Biotechnol**; 34: 312-319.

Kattimani, V.S.; Kondaka, S.; Lingamaneni, K.P. (2016).Hydroxyapatite—Past, present, and future in bone regeneration. **Bone Tissue Regen. Insights** , 7, 9–19.

Kim, S. S.; Sun Park, M.; Jeon, O.; Yong, C. C.; Kim, B. S. (2006). Poly (lactide-co-glycoside)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, Surrey, v.27, n.8, p.1399-1409.

Kohno, Y.; Asai, S.; Shibata, M.; Fukuhara, C.; Maeda, Y.; Tomita, Y.; Kobayashi, K. 65 (2014). Improved photostability of hydrophobic natural dye incorporated in organo-modified hydroxycalcite. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, 75, 945-950.

Kouchak, Maryam et al. (2014). Chitosan and polyvinyl alcohol composite films containing nitrofurazone: Preparation and evaluation. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 14–20.

Langer, R.; Vacanti, J.P. (1993).Tissue engineering. **Science**, 260, 920–926

Lee, S.Y. (1996). Bacterial- Polyhydroxyalkanoates. **Biotechnol. Bioeng.**, New York, v.49, p.1-14.

Legeros, R. Z. (2002). Properties of osteoconductive biomaterials: Calcium phosphates. **Clinical Orthopedics and Related Research**, Philadelphia, v.395, p.81-98.

Lepoittevin B, Devalckenaere M, Alexandre M, Pantoustier N, Calberg C, Jerome R, Dubois PH; (2002). Poli (caprolactona)/clay nanocomposites by in-situ intercalative polymerization catalyzed by dibutyltin dimethoxide; **Macromol.**, v. 35, 8385-8390.

Liu, C.; Han, Z.; Czernuska, J. T.; (2009). Gradient collagen/nanohydroxyapatite composite scaffold: Development and characterization. **Acta Biomaterialia**, Killington, v.5, n.2, p.661-669.

Liu, J. H.; Chung, Y. C. & Li, M. T. (1995). J. Appl. **Polym. Sci.**, 55, p.1441.

Liu, J.; Ruan, J.; Chang, L.; Yang, H.; Ruan, W. (2017). Porous Nb-Ti-Ta alloy scaffolds for bone tissue engineering: Fabrication, mechanical properties and in vitro/vivo biocompatibility. **Mater. Sci. Eng. C**, 78, 503–512.

Liu, X. e Ma, P. (2004). Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, 32, 477-486.

Luis, Charlyton; Costa, S. (2005). Extração de pigmentos das sementes de Bixa Orellana L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 149–152.

M. Meskinfama,<sup>b</sup> S. Bertoldia,<sup>c</sup> N. Albanesea, A. Cerria, M.C. Tanzic, R. Imanid, N. Baheiraie, M. Farokhif, S. Farè. (2018). Polyurethane foam/Nano hydroxyapatite composite as a suitable scaffold for bone tissue regeneration **Materials Science & Engineering C** 82 130–140.

Majid Reza Ayatollahi, SeyedAlireza Mirmohammadi, Hadi Asgharzadeh Shirazi. (2018). The tension-shear fracture behavior of Polymeric bone cement modified with hydroxyapatite nano-particles **archives of civil and mechanical engineering** 18 50 – 59.

Mano, E.B. (2004). Química Experimental de Polímeros. 1ed. São Paulo: Ed. Edgard Blucher. Marten, F. L. (1985). "Vinyl alcohol polymers", in: Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, vol. 17, H. F. Mark, N. M. Bikales, C. G. Overberger & G. Menges (eds.), John-Wiley, New York.

Md. Yeathad Hossai, Md. Ashrafur Islam Molla, Md. Shahidul Islam, Ashequl Alam Rana, Md. Abdul Gafur and Mohammad Mainul Karim, (2012). Fabrication and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Hydroxyapatite Biomimetic Scaffold by Freeze Thawing in Situ Synthesized Hybrid Suspension for Bone Tissue Engineering. **International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering**. ISSN 2250-2459, ISO 9001:2008 Certified Journal, Volume 2, Issue.

Meeichyn Goh, Younghee Kim, Kihak Gwon, Kiyoon Min, Young Min Hwang, Giyoong Tae (2017). In situ formation of injectable and porous heparin-based hydrogel Carbohydrate **Polymers** 174.990–998.

Miguez-Pacheco, V.; Hench, L.L.; Boccaccini, A.R. (2015). Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues. **Acta Biomater**, 13, 1–15.

Moghimi M, Moghimi SM. (2008). Lymphatic targeting of immuno-PEG-liposomes: evaluation of antibody-coupling procedures on lymph node macrophage uptake. **J Drug Target**; **16**: 586-590.

Moghimi, S.M.; Hunter, A.C. (2001). Capture of stealth nanoparticles by body's defenses. **Critical Reviews in Therapeutic Carrier Systems**. v. 18, p. 527-550.

Monte, Samylla Miranda et al. (2016). Genotoxicity Evaluation of Polystyrene Membrane

with Collagen and Norbixin by Micronucleus Test and Comet. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 7–11.

Moreno Madrid, A. P. et. al. (2019). Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. **Materials Science and Engineering C**. v. 100, n. July, p. 631-644.

Muthukumar, T.; et al. (2014). Preparation, characterization, and *in vitro* bioactivity of Bixa Orellana extract-impregnated collagen microspheres. **J. Mater. Sci.** v. 49, p. 5730-5737.

Navarro, M.; Michiardi, A.; Castano, O.; Planell, J. A. (2008). Biomaterials in orthopaedics. **Journal of the Royal Society Interface**, London, v.5, p. 1137-1158.

O'Brien, F.J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Mater. Today**, 14, 88–95.

Okaya, T.; Suzuki, A. & Kikuchi, K. (1999). Coll. And Surf. A: **Physicochem and Eng. Asp.**, 153, p.123.

Oliveira, L. S. A.; Oliveira, C. S.; Machado, A. P. L.; Rosa, F. P. (2010). Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – Métodos de análise e perspectivas futuras. *Revista de ciências médicas e biológicas, Rio Grande do Sul*, v.9, n.1, p.37-44.

Oliveira, S. M.; Mijares, D. Q.; Tumer, G.; Amaral, I. F.; Barbosa, M. A.; Teixeira, C. C. (2009). Engineering endochondral bone: in vivo studies. **Tissue Engineering. Part A**, New York, v.15, n.3, p.635- 643.

Paital, S. R.; Dahotre, N. N. B.; (2009). **Mater. Sci. Eng. R**, 66, 1.

Parize, Alexandre Luis et al. (2012). Evaluation of chitosan microparticles containing curcumin and crosslinked with sodium tripolyphosphate produced by spray drying. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 35, n. 6, p. 1127–1132.

Pengwu Xu, Qingtao Zeng, Ying C ao, Piming Ma\*, Weifu Dong, Mingqing Chen (2017). Interfacial modification on polyhydroxyalkanoates/starch blends by grafting in-situ. **Carbohydrate Polymers** 174.716–722.

Pezzoti, G.; Yamamoto, K.; J. (2014). *Mech. Behave.* **Biomed. Mater.** 31, 3.

Pimentel, R. F.; Oliveira, R. S. M.F.; Chaves, M. G. A. M.; Elias, C. N.; Gravina, M. A.; (2013). **Dental Press Journal of Orthodontics**, 18, 121.

Pires, A. L. R.; Bierhalz, A. C. K.; Moraes, Â. M. (2015). Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Quim. Nova**. v. 38, n. 7, p. 957-971.

Pires, A. L.R.; Moraes, A. M.; J. (2015). *Appl. Polym. Sci*, 132, 41686.

Pierpaoli, E. et. al. (2017). Phytomedicine supplementation with tocotrienols from *Bixa orellana* improves the in vivo efficacy of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse model of infected wound. **Phytomedicine journal**. v. 36, n. May, p. 50-53.

Pinheiro, L. et. al. (2018). Norbixin extracted from urucum (*Bixa orellana L.*) for the formation of conductive composites with potential applications in electrochemical sensors. **Surfaces and Interfaces**. v. 13, n. April, p. 92-100.

Poinern, G. E. J.; Brundavanam, S.; Fawcett, D.; (2012).Am. J. **Biomed.Eng**, 2, 218.

Precheur, H. V. (2007). Bone graft materials. Dental Clinics of North American, **Philadelphia**, v.51, p.729-746.

Prachi Kakkar, Sudhanshu Verma , I.Manjubala, B. Madhana (2014). Development of keratin–chitosan–gelatin composite scaffold for soft tissue engineering **Materials Science and Engineering**. C 45, pp. 343–347.

Rao, F. et. al. (2019). Expanded 3D nanofibre sponge scaffolds by gas-foaming technique enhance peripheral nerve regeneration. Artificial cells, nanomedicine, and **biotechnology**. v. 47, n. 1, p. 491-500.

Reddy, C. S. K.; Ghai.R; Rashimi; Kalia. V. C.; (2003). Polyhydroxyalkanoates: an overview. **Bioresource Technology**. V. 87, p. 137-146.

Rey, C, Combes, C, Drouet, C, *et al.*, (2007). “Physico-chemical properties of nanocrystallineapatites: implications for biominerals and biomaterials”, **Materials Science and Engineering: C**, v. 27, n. 2, pp. 198-205.

Rhim, J. W.; Hong, S. I.; Ha, C. S. (2009).Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films.**LWT - Food Science and Technology**. V. 42, n. 2.

Rodney, D., Gadot, B., Martinez, O. R. , du Roscoat, S. R. e Orgéas, L. (2016). Reversible dilatancy in entangled single wire materials. **Nature Materials** 15, 72-77.

RoopaliAgarwal, M. SarwarAlam,Bhuvanesh Gupta. (2013). Polyvinyl Alcohol-Polyethylene Oxide-Carboxymethyl Cellulose Membranes for Drug Delivery. J. Appl. **polym. SCI**, DOI: 10.1002/APP.39144.

Roohbakhsh, A.; Karimi, G.; Iranshahi, M. (2017). Carotenoids in the treatment of diabetes mellitus and its complications: A mechanistic review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 91, p. 31-42.

Rossella Dorati a, c, Antonella De Trizio a, Ida Genta a, c, AlessiaMerelli b, Tiziana Modena a, Bice Conti. (2016). Formulation and in vitro characterization of a composite biodegradable scaffold as antibiotic delivery system and regenerative device for bone Journal of Drug Delivery **Science and Technology** 35 124e133.

Rui – Xue Sun, Yao Lv, Yu – RongNiu, Xiao – Hui Zhao, Dong – Shan Cao, Jian Tang, Xian – Chang SUN, Ke – Zheng Chen. ( 2017). Physicochemical and biological properties of bovine-derived porous hydroxyapatite/collagen composite and its hydroxyapatite powders. **Ceramics International** 43 16792 – 16798.

Sachiko Nittaa,b, AyakaKomatsua, Taisei Ishiia, Masatoshi Ohnishic, Atsuko Inouec,

Hiroyuki Iwamoto. (2017). Fabrication and characterization of water-dispersed chitosannanofiber/poly (ethylene glycol) diacrylate/calcium phosphate-based porous composites Carbohydrate **Polymers** 174 1034–1040.

Sachlos, E.; Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffolds work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. **European Cells and Materials**, Glasgow, v. 5, p.29-40.

Santos, J. A. A.; et al. (2014). Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Rev. Bras. Pl. Med.* v. 16, p. 637-643.

Sasaki, S.; Murakami, T.; Suzuki, A. (2016). Frictional properties of physically cross-linked PVA hydrogels as artificial cartilage. **Biosurface and Biotribology**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 11–17.

Saunders, K. J. (1973). "Organic Polymer Chemistry", **Chapman and Hall, London**.

Scotter, M. (2009). The chemistry and analysis of annatto food colouring: a review. *Food Additives and Contaminants*, 26 (8), 1123–1145.

Scotter, M. J. (1995). Characterisation of the coloured thermal degradation products of bixin from annatto and a revised mechanism for their formation. *Food chemistry*. v. 53, p. 177-185.

Sergio Pineda-Castillo, Andrés Bernal-Ballén, Cristian Bernal-López, Hugo Segura-Puello, Diana Nieto-Mosquera 2, Andrea Villamil-Ballesteros 2, Diana Muñoz-Forero and Lukas Munster. (2018). Synthesis and Characterization of Poly(Vinyl Alcohol)-Chitosan Hydroxyapatite Scaffolds: A Promising Alternative for Bone Tissue Regeneration. **Molecules**, 23, 2414; doi:10.3390/molecules23102414.

Silva, G. S. (2006). Obtenção e avaliação dos parâmetros cinéticos do pigmento norbixina obtido das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.) por termogravimetria. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal da Paraíba.

Silva, P. I. (2007). Métodos de extração e caracterização de bixina e norbixina em sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa.

Sousa Júnior, A. C. T.; et al. (2005). Antigenotoxic and antimutagenic potential of an annatto pigment (norbixin) against oxidative stress. **Genetics and molecular research**. v. 4, n. 1, p. 94-99.

Stephanie T. Bendtsen<sup>1</sup>, Sean P. Quinnell,<sup>2</sup> Mei Wei. (2017). Development of a novel alginate-polyvinyl alcohol-hydroxyapatite hydrogel for 3D bioprinting bone tissue engineered scaffolds. **J Biomed Mater Res Part A**:105A:1457–1468.

Stevens, M.M. (2008). Biomaterials for bone tissue engineering. **Mater**. Today, 11, 18–25.

Stringheta, Paulo C.; Silva, Pollyanna I.; Costa, G. V. (2018). Annatto / Urucum — *Bixa orellana*. Chapter Outline, [s. l.], p. 23–30.



Tabata, Y. (2009) Biomaterial technology for tissue engineering applications. *Journal of the Royal Society Interface*, London, v.6, n.3, p.311-324.

Tao, S. et. al. (2015). Free radical biology and medicine systemic administration of the apocarotenoid bixin protects skin against solar UV-induced damage through activation of NRF2. *Free Radical Biology and Medicine*. v. 89, p. 690-700.

Talha, M.; Behera, C. K.; Sinha, O. P; (2013). *Mater.Sci. Eng.*, C. 33, 3563.

Tierong Bian , Kang Zhao , QingnanMeng , Hua Jiao , Yufei Tang , Jing Luo (2018). Preparation and properties of the calcium phosphate / submucosal coffin of the small intestine, composite constructed imitating bone components and Haversian microstructure *Materials Letters* 212 73-77.

Turnbull, G.; Clarke, J.; Picard, F.; Riches, P.; Jia, L.; Han, F.; Li, B.; Shu,W. (2018). 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioact.Mater.*, 3, 278–314.

Utrackl, L. A. (2004). Clay-Containing Polymeric Nanocomposites. *Rapra Technology*, Shawbury UK.

Vacanti, J.P.; Langer, R. (1999). Tissue engineering: The design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation. *Lancet*, 354, S32–S34.

Vilar, Daniela De Araújo et al. (2014). Traditional Uses, Chemical Constituents, and Biological Activities of *Bixa orellana* L.: **A Review**. [s. l.], v. 2014.

Wan, D. C.; Nacamuli, R. P.; Longaker, M. T. (2006).Craniofacial bone tissue engineering. *Dental Clinics of North American*, Philadelphia, v.50, n.2, p.175-190.

Wang, Y. F.; Chen, T. M.; Li, Y. J.; Kitamura, M. & Nakaya, T. (1996). *Macromolecules*, 29, p.5819.

Yifan Ma, Wenjing Zhang, Zihao Wang, Zi Wang, Qing Xie, HaoyiNiu, Han Guo, Yuan Yuan, Changsheng Liu. (2016) PEGylated poly (glycerol sebacate)-modified calcium phosphate scaffolds with desirable mechanical behavior and enhanced osteogenic capacity *Acta Biomaterialia* 44 110–124.

Yusá-Marco, D.J.; et al. (2008). Characterization of colouring compounds in annatto (*Bixa orellana* L.) used in historic textiles by means of UV-Vis spectrophotometry and FT-IR spectroscopy. *Publicación del Instituto Universitario de Restauración del Patrimonio de La UPV*. v. 3, p. 153-158.

Yasuhiko, T, (2005) Significance of Release Technology in Tissue Engineering. *Drug Discovery Today*. 10, PP, 1639-1646.

Zhang, Y.; Zhong, (2013). Q. Probing the binding between norbixin and dairy proteins by spectroscopy methods. *Food Chemistry*. v. 139, p. 611-616.

Zhang, H. J.; Xia, H. S.; Zhao, Y. (2012). Poly (vinyl alcohol) Hydrogel Can Autonomously Self-Heal. *ACS Macro Lett*, 1, 1233-1236.

Stevens, M.M. Biomaterials for bone tissue engineering. **Mater. Today** **2008**, 11, 18–25. [CrossRef]

Rahman, S.; Nagrath, M.; Ponnusamy, S.; Arany, P. Nanoscale and macroscale scaffolds with controlled-release polymeric systems for dental cranio maxillo facial tissue engineering. **Materials** **2018**, 11, 1478.

Jahangirian, H.; GhasemianLemraski, E.; Rafiee-Moghaddam, R.; Webster, T.A review of using green chemistry methods for biomaterials in tissue engineering. *Int. J. Nanomed.* **2018**, 13, 5953–5969.

Dlaska, C.E.; Andersson, G.; Brittberg, M.; Suedkamp, N.P.; Raschke, M.J.; Schuetz, M.A. Clinical translation in tissue engineering—The surgeon’s view. *Curr. Mol. Biol. Rep.* **2015**, 1, 61–70.

Langer, R.; Vacanti, J.P. Tissue engineering. **Science** **1993**, 260, 920–926.

Stratton, S.; Shelke, N.B.; Hoshino, K.; Rudraiah, S.; Kumbar, S.G. Bioactive polymeric scaffolds for tissue engineering. *Bioact.Mater.* **2016**, 1, 93–108.

Chaudhari, A.; Vig, K.; Baganizi, D.; Sahu, R.; Dixit, S.; Dennis, V.; Singh, S.; Pillai, S. Future Prospects for Scaffolding Methods and Biomaterials in Skin Tissue Engineering: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2016**, 17, 1974.

Yu, J.; Xia, H.; Ni, Q.Q. A three-dimensional porous hydroxyapatite nanocomposite scaffold with shape memory effect for bone tissue engineering. *J. Mater. Sci.* **2018**, 53, 4734–4744.

Varaprasad, K.; Raghavendra, G.M.; Jayaramudu, T.; Yallapu, M.M.; Sadiku, R.A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, 79, 958–971.

Ullah, F.; Othman, M.B.H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H.M. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, 57, 414–433.

Turnbull, G.; Clarke, J.; Picard, F.; Riches, P.; Jia, L.; Han, F.; Li, B.; Shu, W. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioact.Mater.* **2018**, 3, 278–314.

Liu, J.; Ruan, J.; Chang, L.; Yang, H.; Ruan, W. Porous Nb-Ti-Ta alloy scaffolds for bone tissue engineering: Fabrication, mechanical properties and in vitro/vivo biocompatibility. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, 78, 503–512.

Miguez-Pacheco, V.; Hench, L.L.; Boccaccini, A.R. Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues. *Acta Biomater.* **2015**, 13, 1–15.

Hu, J.; Zhu, Y.; Tong, H.; Shen, X.; Chen, L.; Ran, J. A detailed study of homogeneous agarose/hydroxyapatite nanocomposites for load-bearing bone tissue. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, 82, 134–143.

## **CAPITULO II**

### **CARACTERIZAÇÃO DE BLENDA E SCAFFOLDS FORMADOS A PARTIR DE PVA/PEG/NB<sub>x</sub>/HA PARA REPARAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA**

**CARACTERIZAÇÃO DE BLENDA E SCAFFOLDS FORMADOS A PARTIR DE PVA/PEG/NBx/HA PARA REPARAÇÃO TECIDUAL ÓSSEA**

*Raimundo Miguel da Silva Júnior<sup>1</sup>, Durcilene Alves da Silva<sup>2</sup>, Vicente GálberFreitas*

*Viana<sup>3</sup>*

*<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Materiais Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI*

*<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Química/CCN e Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Materiais, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina- PI*

*<sup>3</sup>Instituto Federal do Piauí – Curso de Graduação em Química/CCN e Programa de Pós- Graduação em Engenharia dos Materiais, Campus Teresina Central, Teresina- PI*

## RESUMO

O avanço tecnológico de biomateriais tem aumentado significativamente, o que permite o desenvolvimento de materiais que podem ser usados para reparar partes do corpo, aumentar tratamentos e melhorar a qualidade de vida humana. O poli (álcool) vil (PVA) é um polímero biocompatível e biodegradável amplamente estudado para aplicações médicas devido às suas propriedades. Assim, o presente estudo teve como objetivo caracterizar e avaliar dispersões estáveis de PVA e PEG combinados com norbixina e hidroxiapatita, a fim de simular um arcabouço promissor para a reestruturação tecidual. Os filmes foram obtidos pela técnica de diluição em solvente (casting), para se obter um filme total em peso de 0,5 g. Posteriormente, o material foi caracterizado por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX), termogravimetria (TG), microscopia óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Propriedade Mecânica. Os resultados de FTIR obtidos na blenda mostraram deslocamentos satisfatórios das bandas com a inserção do PEG, bem como na intensidade dos picos em relação à matriz do PVA. Em relação aos scaffolds, foram observadas mudanças significativas como o aparecimento e desaparecimento de bandas de acordo com a composição do material. Por DRX, foi possível observar um deslocamento para ângulos maiores com a inserção do PEG e NBx em relação à matriz de PVA. No caso dos scaffolds de forma geral houve uma modificação na estrutura cristalina em relação ao PVA e a blenda. A estabilidade térmica dos sistemas variou de acordo com o tipo de material empregado. Por MO foi possível observar uma homogeneidade para a blenda de PVA/PEG. Do mesmo modo, os scaffolds demonstraram uma superfície lisa e homogênea, com exceção da composição de PVA/PEG/NBx/HA. O MEV mostrou que ambos os scaffolds apresentaram diferentes estágios de agregação que interferem na miscibilidade dos componentes. As propriedades mecânicas mostraram que os filmes de PVA/NBx e PVA/PEG/NBx/HA apresentaram módulo de elasticidade semelhante, o que os define como estaticamente iguais. O PVA/PEG/NBx é a composição mais flexível.

**Palavras-chave:** PVA, biomateriais, scaffolds, atividade citológica, regeneração óssea.

## ABSTRACT

The technological advance of biomaterials has increased, which allows the development of materials that can be used to repair body parts, medicines and improve the quality of human life. Poly (alcohol) vile (PVA) is a biocompatible and biodegradable polymer widely studied for medical applications due to its properties. Thus, the present study aimed to characterize and evaluate stable dispersions of PVA and PEG combined with norbixin and hydroxyapatite, in order to simulate a promising framework for tissue discount. The films were obtained by the technique of dilution in solvent (casting), to obtain a total film in weight of 0.5 g. Subsequently, the material was developed by Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (FTIR), X-ray diffraction (DRX), thermogravimetry (TG), optical microscopy (MO), Scanning Electron Microscopy (SEM), Mechanical Property. The FTIR results obtained in the blend distanced satisfactory displacements of the bands with the insertion of the PEG, as well as in the intensity of the peaks in relation to the PVA matrix. Regarding scaffolding, relevant changes were observed, such as the appearance and disappearance of bands according to the composition of the material. By XRD, it was possible to observe a shift to greater angles with the insertion of PEG and NBx in relation to the PVA matrix. In the case of scaffolds in general there was a change in the crystalline structure in relation to the PVA and the blend. The thermal stability of the systems varied according to the type of material used. By MO it was possible to observe a homogeneity for a PVA / PEG blend. Likewise, the scaffolds demonstrated a smooth and homogeneous surface, with the exception of the composition of PVA / PEG / NBx / HA. The SEM shows that both scaffolds have different stages of aggregation that interfere with the miscibility of the components. The distinct mechanical properties that the films of PVA / NBx and PVA / PEG / NBx / HA dissipator modulus of similar elasticity, or which define them as statically equal. PVA / PEG / NBx is a more flexible composition. Antimicrobial tests in situ unchanged that scaffolds inhibitory thermal activity against E. Coli and Staphylococcus Aureus bacteria and the fungus Candida Albicans. The hemocompatibility assessment was favorable for all scaffolds. The results show a promising material for future applications in the field of regenerative engineering.

**Key words:** PVA, Biomaterials, scaffolds, cytological activity, bone regeneration.

## 1. INTRODUÇÃO

Com o aumento de defeitos ósseos causados por doenças, traumas e anormalidade congênita há aumento da demanda de substitutos ósseos que possibilitassem acelerar a restauração ou substituição de tecidos e/ou órgãos lesionados ou defeituosos (Prachi, et al. 2014; Sachiko, et al. 2017).

Um dos grandes desafios da engenharia tecidual é aprimorar terapias e/ou desenvolver métodos que visem à restauração de um órgão ou tecido ou ainda que dificultem ou impeçam o agravamento da função tecidual comprometida de forma a apresentar comportamento biológico e fisiológico específico para aplicações como material constituinte de aparelhos protéticos ou materiais de enxerto ósseo. (Abukama, 2006; Kumar, et al. 2011; Sachico, et al. 2017; Munro & Mcgrath, 2012).

Diante dessa perspectiva é cada vez maior o número de polímeros que são direcionados para regeneração e recuperação de tecidos ósseos de forma eficaz. Notavelmente os polímeros poli (ácido) láctico (PLA), poli (álcool) vinílico (PVA), poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), policaprolactona (PCL), polihidroxibutirato (PHB), poli (óxido) de etileno (PEO), poli (etileno) glicol (PEG) quitosana (CS) e outros têm sido amplamente utilizados, seja por uma abordagem simples, operacionalidade e/ou eficiência para melhorar propriedades físico-químicas e mecânicas de scaffolds a base de materiais metálicos, compósitos e biocerâmicos (Zhan, Yang & Weng, 2008; Kim, Knowles & Kim, 2004).

O PVA é um polímero sintético, neutro em pH fisiológico, que possui propriedades físicas úteis tais como elasticidade e boa formação de filmes. Apresenta-se ainda como hidrofílico, inócuo, biocompatível, biodegradável, não carcinogênico e atóxico apresentando boa estabilidade química, baixa adesão celular e biorreabsortividade podendo ser usado em modelos de membranas biológicas, além de uma excelente estrutura de rede cristalina para

incorporação de outros materiais (Dias, Mansur & Donnici, 2011; Brandelero, Almeida & Alfaro, 2015; Queli, et al. 2015).

Infelizmente, assim como outros compósitos formados a partir de materiais poliméricos, esses exercem diretamente efeitos negativos no que corresponde a mineralização e vascularização óssea, devido a sua alta viscosidade e uma significativa redução de porosidade em contato com o implante (Studart, 2013; Wintermantel, 1996; Mastrogracomo, et al. 2006) restringindo a aplicação desses materiais isoladamente. Para abordar essas desvantagens, é crescente o número de combinações de polímeros com fosfatos, com o intuito de minimizar características desfavoráveis desses materiais poliméricos na busca por melhores propriedades.

Como alternativa eficiente para regeneração de tecidos ósseos a implantação de fosfatos de cálcio, material dominante na configuração do osso (60-70%), tem sido usada para aplicações correspondentes a reparação óssea na construção de scaffolds, devido ao fácil manuseio em laboratório e a sua disponibilidade como aloplásticos (Wu, et al. 2014).

Dentre os fosfatos de cálcio utilizados como biomateriais ativos na formação de scaffold destaca-se a hidroxiapatita (HA)  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$  que entre outros materiais constituintes do tecido ósseo apresenta-se como sendo o mineral mais abundante entre as apatitas, e apresenta propriedades como biocompatibilidade, bioatividade, osteocondução e osteointegração, não produzem reações adversas ao paciente, somadas à sua capacidade de absorção e adsorção tornam-na um dos materiais mais promissores na construção de suportes, permitindo a alteração das propriedades do polímero e o aumento da sua processabilidade (Costa, et al. 2009; Chandrasekhar & Saxena, 2009; Conz, et al. 2005).

No entanto, a fragilidade intrínseca e a osteoatividade descontrolada dos fosfatos em geral, limita suas aplicações integralmente, especialmente como implantes de suporte de carga para regeneração óssea. Portanto, a busca por novos materiais e alternativas que possam ser



eficientes e de fácil estratégia são abordados para construção de arcabouços (scaffolds) que possam ser assimilados pelo tecido para uma regeneração óssea adequada, onde seja bioativo, biodegradável, biocompatível e biomimético (Larsson, 2011).

Como materiais de suporte e biologicamente ativo para confecção de scaffolds pode-se citar, respectivamente, o poli (etileno) glicol (PEG) e a norbixina (NBx), esses materiais têm despertado interesse da comunidade científica no que corresponde à melhoria da proliferação e diferenciação celular, e que possam ser biocompatíveis, bioinertes, biodegradáveis e osteocondutivos com estrutura tridimensional (3D), que mimetiza a matriz extracelular natural (MEC) (Kumaret, et al. 2011; Sachico, et al. 2017).

Assim, promovem a condução de osteoblastos, osteoclastos ou de células precursoras de osteoblastos (osteocitos) para o sítio lesado e de fatores regulatórios que promovam esse recrutamento, assim como o crescimento celular neste sítio surgindo como alternativa para substituição de métodos tradicionais para reparação destes defeitos como os procedimentos de autoenxertos e xenoenxertos que convencionalmente são os mais utilizados. (Kumar, et al. 2011; Liu & Ma, 2004; Wan, Nacamuli & Longaker, 2006; Chen, et al. 2009).

O poli (etileno) glicol (PEG) apresenta propriedades físico-químicas interessantes para a construção de scaffolds, assim como boa resistência mecânica e de fácil processabilidade com outros materiais. Comparado a outros polímeros, sejam naturais e/ou sintéticos biodegradáveis incluindo o PLA, PVA, PLGA, PEO, PGA e QS dentre outros, o PEG possui capacidade mecânica elástica semelhante aos tecidos biológicos (Garlotta, 2001; Wang & Mi, 2003) e degradação linear *in vivo* através de mecanismos de erosão na superfície, resultando em uma melhor estabilidade permitindo uma maior facilidade em fabricar e modificar arcabouços (scaffolds) (Wang & Mi, 2003).

Possui ainda excelente biocompatibilidade com outros materiais, é hidrofílico e possui grande capacidade de incorporar outros polímeros sintéticos e/ou biológicos, tornando-se um

material promissor para suprir as desvantagens dos andaimes formados por hidroxiapatita e poli (álcool) vinílico (PVA) (Garlotta, 2001; Wang & Mi, 2003).

A norbixina um carotenoide extraído do urucum (*Bixa orellana L.*), uma planta nativa da América Tropical, que alguns anos vêm se notabilizando em testes com vários tipos de materiais poliméricos e apresentando grande potencial para serem usados na reconstrução óssea (Jr & Ribani, 2015; Vilar, et al. 2014; Luis & Costa , 2005; Scotter, 2009).

Esse biomaterial apresenta-se como sendo, biodegradável, biocompatível e biorreabsorvível na confecção de scaffolds devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antitumorais, inclusive, estudos diversos que objetivaram avaliar suas propriedades em animais por meio de interações biológicas, têm relatado ausência de efeitos genotóxicos, teratogênicos ou mutagênicos por parte desses materiais (Mageste, et al. 2012, Muthukumar, et al. 2010; Santos, et al. 2014; Yusà –Marco, et al. 2008; Zhang & Zhong, 2013; Stringueta, Silva & Costa, 2018).

Diante do exposto, este estudo teve como objetivo preparar, caracterizar e avaliar filmes de PVA e PEG estáveis, com norbixina e hidroxiapatita, para diversas aplicações versáteis que simulam a interação antígeno-anticorpo para a reformulação e reconstrução para engenharia de tecidos. Os sistemas foram preparados via intercalação por solução (*Casting*) e a avaliação dos respectivos sistemas foi realizada por meio das técnicas de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difração de raios-X (DRX), termogravimétrica (TG), microscopia óptica (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV), propriedades mecânicas.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1 Materiais**

#### **2.1.1 Matriz Polimérica**

Foi utilizado, nessa pesquisa, o PVA - (álcool polivinílico) (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub> como matriz polimérica, adquirido pela Dinâmica Produtos Químicos Ltda.

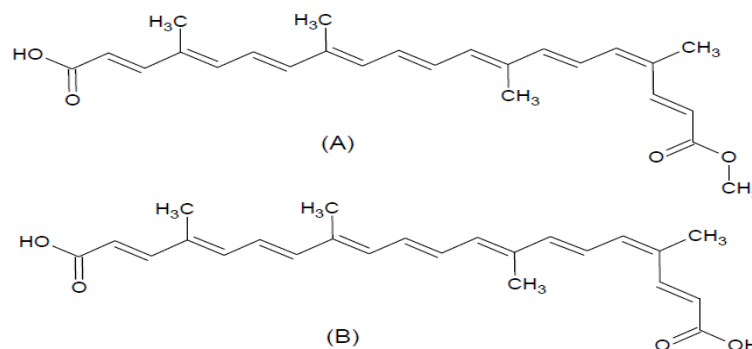
### 2.1.2 Plastificante

O poli (etileno) glicol (PEG) foi adquirido pela Dinâmica Produtos Químicos Ltda, com massa molar numérica média entre 1350 e 1650 g/mol, com ponto de fusão -65°C e densidade 1,127 g/cm<sup>3</sup>.

### 2.1.3 Norbixina

A norbixina (NBx) utilizada neste estudo foi extraída a partir das sementes do urucum (*Bixa orellana* L.) coletadas na cidade de Presidente Dutra no estado do Maranhão. A estrutura da norbixina é ilustrada na Figura 2.1.

**Figura 2.1:** Estrutura química da (A) *cis*-bixina e (B) *cis*-norbixina.



Fonte: (Silva, 2006; Moreira, 2013).

### 2.1.4 Reagentes

**Tabela 2.1:** Reagentes usados no procedimento metodológico.

Reagente	Especificações	Fornecedor
Hexano P.A. C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	PM: 86,19; Teor: 99%	Dinâmica®
Clorofórmio P.A. CHCl <sub>3</sub>	PM: 119,38; Teor: 99,80%	Dinâmica®
Hidróxido de Potássio P.A. KOH	PM: 56,11; Teor: 85%	Dinâmica®
Hidróxido de Sódio P.A. NaOH	PM: 40,00; C mín.: 98%	Dinâmica®

Ácido Clorídrico P.A. HCl	PM: 36,46; Densidade: 1,181g/cm <sup>3</sup>	Dinâmica®
Dimetilsulfóxido P.A. (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO	PM: 78,13; Densidade: 1,1g/cm <sup>3</sup>	Dinâmica®

**Fonte:** Autoria própria.

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Síntese da Norbixina (NBx)

A extração da bixina foi realizada conforme Barbosa-Filho (1998). Inicialmente 200 g de sementes de urucum foram previamente selecionadas, limpas e secas, foram mantidas em refluxo num soxhlet com hexano por um período de oito horas. Após esse período as sementes foram separadas do extrato obtido. Em seguida, foi adicionado clorofórmio ao soxhlet, e o sistema foi deixado sobre refluxo por mais 08 horas. O extrato obtido no processo foi rotavaporizado, o sólido obtido neste processo é constituído principalmente de bixina, com aproximadamente 98% de pureza (Barbosa-Filho, 1998). Foi lavado com água destilada e posteriormente seco em estufa de circulação de ar e armazenado em frasco âmbar protegido da luz.

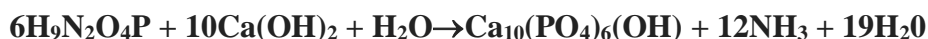
A bixina obtida no processo de extração foi saponificada numa solução de hidróxido de potássio 4% sobre aquecimento e agitação constantes a 70 °C por 1 hora. Ao sal de norbixina obtido na saponificação foi adicionado ácido clorídrico concentrado gota-a-gota após a solução atingir a temperatura ambiente. Em seguida a norbixina (precipitado avermelhado) foi filtrada, lavada com água destilada até pH = 5 e seca em estufa a 60 °C, por 24 horas. O sólido foi armazenado em frasco âmbar.

### 2.2.2 Síntese da Hidroxiapatita (HA)

O pó de HA foi obtido por precipitação química utilizando hidróxido de cálcio Ca(OH)<sub>2</sub> e fosfato de amônio (dibásico) (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(HPO<sub>4</sub>), a reação ocorre conforme descrito pela equação 2.1 (Afshar et al 2003). Inicialmente, os reagentes foram dissolvidos em água deionizada e misturados. A mistura permaneceu sob agitação constante em temperatura ambiente. Em seguida, o precipitado foi lavado com água destilada. A suspensão foi seca em estufa a 100 °C por 24h. O pó obtido foi analisado em DRX em aparelho XRD-6000 Shimadzu, utilizando-se radiação K $\alpha$  do cobre, tensão de 40kV, corrente de 30mA, varredura

entre 10 a 90°C e velocidade de varredura de 2°/min para comparação dos picos obtidos com os característicos da hidroxiapatita (HA) de acordo com a literatura.

**Equação (2.1):** Formulação da hidroxiapatita (HA). **Fonte:**(Afshar et al 2003).



### 2.2.3 Processo de preparação dos filmes

Todos os filmes de PVA de poli (álcool) vinílico foram preparados por *casting* utilizando dispersões de PVA a 0,5g em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 25 mL. Para o preparo da blenda de PVA/PEG obtido pelo mesmo método, foi adicionando a solução padrão acima descrita 0,05g de PEG. Para a produção dos filmes de PVA/Norbixina, (PVA/NBx), PVA/PEG/Norbixina, (PVA/PEG/NBx) e PVA/PEG/Norbixina/Hidroxiapatita (PVA/PEG/NBx/HA). Foram adicionadas à solução padrão as concentrações abaixo descritas de acordo com a Tabela 2.2. Todas as misturas permaneceram em agitação e aquecimento constante a 80°C. Cada componente foi adicionado em intervalos de 30 minutos entre cada adição. A solução final de cada formulação foi filtrada para retirada de impurezas, vertida em placa de petri e mantida em capela de exaustão de gases a 70°C por 24 horas para evaporação do solvente. Após esse período os filmes foram levados à estufa a vácuo a 30°C por 24 h e posteriormente armazenados em dessecadores. Após esse período os filmes foram acondicionados em papel cirúrgico até serem levados à análise.

**Tabela 2.2:** Concentrações de PVA, PEG, NBx e HA para formação dos scaffolds. **Fonte:** Dados da pesquisa.

PVA	PEG	NORBIXINA	HIDROXIAPATITA
0.45g	–	0.05g	–
0.3g	0.1g	0.1g	–
0.2g	0.1g	0.1g	0.1g

## 2.3 Caracterizações

### 2.3.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia no infravermelho (FTIR) é utilizada para a verificação e determinação dos grupos funcionais presentes nos sistemas. As análises de PVA, da blenda de PVA/PEG e dos scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA foram

realizadas em equipamento da marca SPECTRUM 400 (FT-IR/FT-NIR) da Perkin Elmer com varredura de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ .

### **2.3.2 Difração de Raios-X (DRX)**

A matriz de PVA, a blenda de PVA/PEG e os scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA foram caracterizados por difração de raios-X em um difratômetro da marca Shimadzu XDR 6000, operando na faixa angular ( $2\theta$ ) entre  $1,5^\circ$  a  $30^\circ$ , utilizando  $K\alpha$  de Cu como radiação incidente.

### **2.3.3 Termogravimetria (TG)**

Este método foi utilizado com o objetivo de identificar a temperatura de degradação dos filmes preparados de PVA, da blenda PVA/PEG e dos scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. As análises foram feitas sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 ml/min, taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  e com variação térmica de  $32^\circ\text{C}$  a  $1000^\circ\text{C}$ , em equipamento de marca SDT Q600 V 20.9 Build 20.

### **2.3.4 Microscopia Ótica (MO)**

A análise de microscopia ótica foi realizada nos filmes de PVA, da blenda PVA/PEG e dos scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. Este é um método para observação do grau de dispersão da norbixina e da hidroxiapatita na matriz e a qualidade dos filmes. O equipamento utilizado foi o estereomicroscópio LEICAN ICC50 HD operando no modo transmissão.

### **2.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas para avaliar as estruturas dos filmes. Neste ensaio, foram analisadas e comparadas as imagens obtidas dos scaffolds PVA, PVA / PEG e PVA / NBx, PVA / PEG / NBx e PVA / PEG / NBx / HA. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura - MEV acoplado a EDS, modelo SSX-500, Shimadzu.

### **2.3.6 Propriedades Mecânicas**

As propriedades mecânicas foram medidas por ensaios de tensão-deformação com triplicatas das amostras. Os corpos de prova retangulares com dimensões de 30 x 10 cm foram fixados ao equipamento com cliques específicos. As amostras foram aplicadas a uma taxa de 1

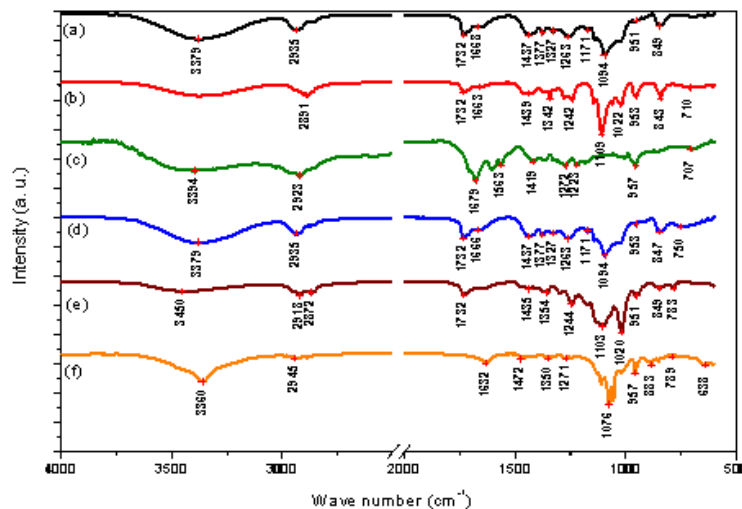
mm / min usando um texturômetro (TA.XT plus, Stable Micro Systems Ltda Vienna, UK). O módulo de elasticidade foi obtido a partir da região linear da curva tensão X deformação, sempre entre 0 e 5% de deformação.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi realizada a fim de identificar possíveis interações químicas e verificar indícios de interações físico-químicas entre o PVA, PEG, norbixina e a hidroxiapatita como mostra a Figura 3.1.

**Figura 3.1:** Espectros de infravermelho do (a) PVA (b) PVA/PEG (c) NBx (d) PVA/NBx (e) PVA/PEG/NBx e (f) PVA/PEG/NBx/HA.



A banda que se encontra em  $3379\text{ cm}^{-1}$  corresponde às vibrações de estiramento O-H de grupos hidroxilas característicos do PVA, pertencentes às ligações fortes de hidrogênio intermolecular e intramolecular, devido a forte interação hidrofílica, onde esses resultados mostram aspectos típicos para membranas de PVA com diferentes graus de hidrólise. Interações semelhantes foram observadas por (Mansur, 2004; Mansur, Sadahira & Mansur, 2008; Padil, et al. 2014).

Em  $2935\text{ cm}^{-1}$  uma banda associada às vibrações de estiramento simétricas e assimétricas de grupos alquila (C-H) de alcanos ( $\text{sp}^3$ ). Em  $1732\text{ cm}^{-1}$  referente a vibrações de estiramento de carbonila (-C=O) dos grupos acetatos residuais da carbonila PVA/PVAc. A intensidade dessa banda entre  $1730$  e  $1750\text{ cm}^{-1}$  pode ser considerada fraca para o PVA com alto grau de hidrólise, indicando que somente poucos grupos acetatos estão presentes na cadeia polimérica e intensa para o PVA com baixo grau de hidrólise corroborando com os

resultados de (Mansur, et al. 2007 ; Aruldass, et al. 2019). Em  $1437\text{ cm}^{-1}$ ,  $1328$ ,  $1377$  e  $1263\text{ cm}^{-1}$  ocorrem às vibrações de dobramento C-O-H normalmente sobreposta aos dobramentos de ligações  $\text{Csp}^2\text{-H}$  e  $\text{Csp}^3\text{-H}$ . As vibrações em  $1171$  e  $1094\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramento C-O-C de álcoois primários saturados. Em  $951\text{ cm}^{-1}$  aparecem às bandas referentes às vibrações de deformação de  $\text{Csp}^2\text{-H}$  em  $849\text{ cm}^{-1}$  a banda referente a vibrações do tipo C-C de cadeia saturada corroborando com os resultados observados por (Mansur, et al. 2007; Wang, et al. 2019).

Para a blenda de PVA/PEG foi possível observar as bandas que representam os modos vibracionais dos respectivos grupos, como a banda em  $1732\text{ cm}^{-1}$  referente a vibrações de estiramento de carbonila (C=O) tanto de PVA como do PEG. Um ombro em  $1439\text{ cm}^{-1}$  e uma banda em  $1342\text{ cm}^{-1}$  referente à deformação do grupo (OH), e outra banda em  $2891\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento do grupo (OH) envolvido em interação intermolecular/intramoleculares do tipo ligação de hidrogênio caracterizando a copolimerização, visto que o PVA pode formar ligações de hidrogênio entre seus próprios grupos (OH), enquanto a blenda de PVA/PEG pode formar ligações extras de grupos (OH) tanto do PVA quanto do PEG (Chen, Chen & Wang, 2018; Chran, et al. 2011; Ping liu, et al. 2019).

Com a inserção do PEG as bandas atribuídas ao PVA diminuem de intensidade e outras desaparecem. Tal comportamento se deve provavelmente, a redução das forças das ligações intra/intermoleculares entre as cadeias de PVA, passando a existir concorrência entre a matriz polimérica e o plastificante, tornando-o menos cristalino, resultados semelhantes foram reportados por (Ping liu, et al. 2019; Chen, Chen & Wang, 2018; Mansur, Sadahira & Mansur, 2018).

O espectro de infravermelho da norbixina apresenta bandas de absorção referentes a estiramento de ligação de (O-H) dos grupamentos dímeros de ácidos carboxílicos entre  $3394\text{ cm}^{-1}$ . Em  $2923\text{ cm}^{-1}$  apresenta absorção referente às vibrações de estiramento de C-H simétricos e assimétricos (Chol, et al. 2018; Liu, et al. 2013).

Em  $1679\text{ cm}^{-1}$  absorção referente à vibração de estiramento de C=O do grupo carboxílico, característica da norbixina. Em  $1543\text{ cm}^{-1}$  vibrações de estiramento de ligações C=C de alenos. Em  $1419\text{ cm}^{-1}$  de vibrações de dobramento de C-H ( $\text{sp}^3$ ). Em  $1270$ ,  $1223$  e  $1109\text{ cm}^{-1}$  pertencentes às vibrações das ligações C-O de ácido carboxílico (Chol, et al. 2018; Liu, et al. 2013).

As vibrações que se encontram abaixo de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , correspondem aos dobramentos



fora do plano, pertencente ao grupo (CH=CH-C), como a que se encontra em  $957\text{ cm}^{-1}$  com maior intensidade. Pode-se ainda observar a não existência de bandas abaixo de  $600\text{ cm}^{-1}$  o que indica um forte indicio de uma precipitação de natureza *trans*, o que pode ser importante na obtenção da norbixina para a síntese de reações estereo reativas, resultados semelhantes foram reportados por (Fontana, et al. 2016; Costa & Chaves, 2005; Ramamoorthy, et al. 2010; Zongo, et al. 2015; Chol, et al. 2018; Liu, et al. 2013).

Para o scaffold contendo PVA/NBx foram observadas modificações significativas em relação ao alargamento, deslocamento e o desaparecimento de algumas bandas em  $3379\text{ cm}^{-1}$ ,  $2939\text{ cm}^{-1}$ ,  $1732\text{ cm}^{-1}$ ,  $1666\text{ cm}^{-1}$  e  $1437\text{ cm}^{-1}$  em relação aos constituintes isolados de PVA e norbixina respectivamente, visto que as bandas características desses materiais foram observadas.

Já em relação à blenda de PVA/PEG, observa-se que com a inserção da norbixina sem a presença do PEG na matriz de PVA, acarretou em mudanças na estrutura química do polímero e que possíveis interações entre o PVA e a norbixina podem não ter sido identificadas devido à sobreposição de algumas bandas de norbixina e PVA e, inclusive uma ligeira redução na intensidade dessas bandas em comparação com o PVA puro e norbixina.

Verifica-se também que os grupos das ligações duplas da norbixina  $1543\text{ cm}^{-1}$  não aparecem nos espectros das membranas, provavelmente por conta da sua sobreposição ou da sua baixa concentração na membrana (10%) e pode estar relacionado com o estiramento ou deformação dos grupos O-H e C=O (Zongo, et al. 2015).

Para o scaffold de PVA/PEG/NBx foi possível observar um comportamento semelhante ao de PVA/NBx, porém ficou evidenciado uma discreta redução na largura das bandas, sugerindo que com a presença do PEG ocorreu uma menor disponibilidade de grupos hidroxilas da mistura para reagir com os grupos da norbixina. Assim, podemos supor que a norbixina interage mais com o PEG do que com o PVA, apontando para uma diminuição das bandas para essa composição. Resultados semelhantes foram reportados por (Roopali, Sawar & Bhuvanesh, 2013).

Foi possível observar para o scaffold obtido a partir de PVA/PEG/NBx/HA uma diminuição no número de onda de bandas específicas quando comparado aos espectros de PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx. A banda de estiramento O-H é mostrada em torno de  $3369\text{ cm}^{-1}$ , porém com maior intensidade, assim, como a banda referente a estiramentos de vibrações C=C de alcenos em torno de  $1632\text{ cm}^{-1}$ , sugerindo um forte indicador da interação da hidroxiapatita a matriz de PVA, bem como aos outros elementos da estrutura de

PVA/PEG/NB<sub>x</sub>/HA (Yafan Ma, et al. 2016; Yesthad, et al. 2012).

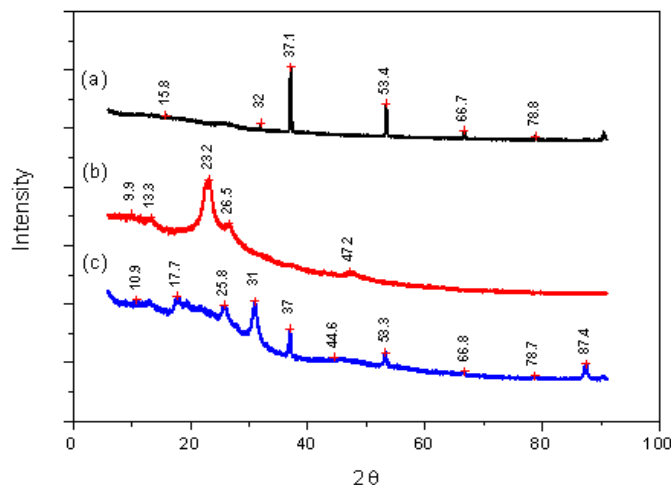
Entretanto, podemos atribuir os diferentes comportamentos dos scaffolds a concorrência e a compactação dos materiais na matriz de PVA, proporcionando a busca por uma melhor interface de grupos e íons no rearranjo da estrutura, ocasionando a exposição dos grupos hidroxilas e carboxílicos em diferentes variações na formação de novos sítios de (Bronsted-Lowri). Assim, estes resultados indicam que dependendo da proporção combinada entre os materiais houve mudanças significativas, o que deve ter contribuído para uma diminuição ou aumento da cristalinidade (Mansur, 2007). Resultados semelhantes foram reportados por Chaudhuria et al (2016) na formulação de scaffolds a partir de poli (álcool) vinílico (PVA)/polivinilpirrolidone (PVP)/(HA).

Deve-se ainda considerar outro fator importante na diferenciação da estrutura de alguns scaffolds, o grau de hidrólise GH, que refere-se ao percentual final de hidroxilas (O-H) presentes após a hidrólise e eventualmente após uma polimerização. Dependendo do GH pode ocorrer a diminuição da solubilidade do PVA na água. Essa redução da solubilidade está associada à estabilização energética promovida pelas ligações de hidrogênio inter/intramoleculares nas cadeias do PVA bem como ao aumento das adesões em superfícies hidrofílicas. Esta correlação pode se estender aos biomateriais, pois nas formulações PVA/NB<sub>x</sub>, PVA/PEG/NB<sub>x</sub> e PVA/PEG/NB<sub>x</sub>/HA, o sinal da banda referente à carbonila aparece com a intensidade reduzida, sugerindo que poucos grupos acetatos estão presentes na cadeia polimérica, isto é, o PVA apresenta alto grau de hidrólise. Resultados semelhantes foram reportados por Mansur et al (2007) com blendas e biomateriais de poli (álcool) vinílico, quitosana e glutaraldeído.

### **3.2 Difração de Raios - X (DRX)**

Na figura 3.2, são apresentados os valores encontrados para o difratograma de hidroxiapatita HA, PVA e NB<sub>x</sub>.

**Figura 3.2:** Difração de raios - X (DRX) (a) HA (b) PVA e (c) NBx



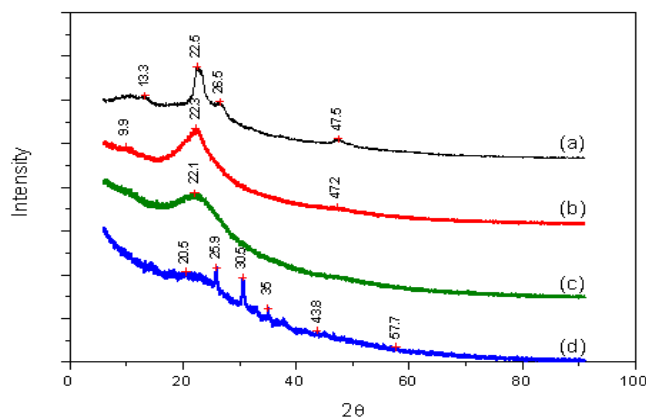
Para a HA foi possível observar picos característicos em  $2\theta$  para valores iguais  $15,8^\circ$ ,  $32^\circ$ ,  $37,1^\circ$ ,  $53,4^\circ$ ,  $66,7^\circ$  e  $78,8^\circ$ . Os índices de cristalinidade encontrados foram comparados aos da ficha cristalográfica com o código (ICDD 00-001-1008), e mostram de acordo com os parâmetros abordados que este material se enquadra como sendo cristalino. Corroborando com resultados propostos por Aquino (2015), onde observou picos cristalográficos similares.

Os perfis de difração do PVA apresenta os picos nas posições  $2\theta$  em  $9,9^\circ$ ,  $13,3^\circ$ ,  $23,2^\circ$ ,  $26,5^\circ$  e  $47,2^\circ$ , esses picos tem sido considerados pela literatura como sendo os picos característicos da fase cristalina do PVA corroborando com (Mansur, et al. 2004; Hechenleitner, et al. 2013; Queli, et al. 2015; Ping Liu, et al. 2019). A partir das curvas de difração podemos observar que o plano de difração (posição  $2\theta$ ) que possui maior intensidade  $2\theta = 23,2$  e este esteve presente em todas as membranas, porém com intensidades diferentes, sugerindo de acordo com a Figura 3.2 que este foi deslocado para ângulos menores com a inserção do PEG, NBx e da HA, tanto para a blenda de PVA/PEG quanto para os scaffolds. Relatos similares foram reportados por Roopali, Sawar & Bhuvanesh, (2013) caracterizando scaffolds a partir de PVA/PEO/CMC por *casting* para regeneração óssea.

O difratograma da norbixina apresentou os picos nas posições ( $2\theta$ ) de aproximadamente,  $10,9^\circ$ ,  $13,2^\circ$ ,  $17,7^\circ$ ,  $25,8^\circ$ ,  $31^\circ$ ,  $37^\circ$ ,  $53,3^\circ$  e  $87,4^\circ$ . foram observados picos estreitos e intensos, e um pico amplo e difuso em  $13,2^\circ$ , característico de composto amorfo com picos representando a presença de regiões cristalinas. Picos semelhantes foram identificados por (Yusá-Marco, et al. 2008; Zongo, et al. 2015; Scotter, 1995; Stringheta, Silva & Costa, 2018; Silva, 2005).

A Figura 3.3 ilustra os difratogramas das membranas de PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA.

**Figura 3.3:** Difração de raios - X (DRX) (a) PVA/PEG (b) PVA/NBx (c) PVA/PEG/NBx e (d) PVA/PEG/NBx/HA



Para a blenda de PVA/PEG foi possível observar os picos característicos dos dois polímeros para os planos de difração (posição  $2\theta$ ), entretanto com os picos apresentando menos intensidade em relação à matriz de PVA. Esse comportamento aponta para uma interface entre os polímeros através de ligações de hidrogênio e de Van der Waals para a reação de esterificação. Resultado semelhante foi observado por Ping Liu et al (2019) em filmes obtidos por intercalação por solução de PVA/PEG em concentrações de 90 a 70% de PVA.

A blenda de PVA/PEG de acordo com o difratograma sugere um efeito harmonioso em cadeias de PVA/PEG, onde se encontra previsto a contribuição de ambos em suas constituições moleculares. Efeitos parecidos foram retratados por (Sahlin&Peppas, 2007; Chaker, 2000; Mansur, 2004) trabalhando com blendas de PVA/PEG.

Além disso, pode-se observar que esse pequenos desvios dos valores dos picos de maior intensidade, comum aos scaffolds de PVA/NBx e PVA/PEG/NBx desaparecem na região em torno de  $2\theta$  igual a  $30^\circ$ , quando comparado com os valores obtidos para os componentes puros, indicando que esse comportamento estão associados à inserção das cadeias de PEG na estrutura do PVA, e da interferência causada pelo PEG na estrutura do PVA e da intercessão da norbixina entre as camadas de PVA e PEG. Esses desvios são semelhantes aos relatados pela literatura por (Pavaloiu, et al. 2014; Tripathi, Mehrotra & Duttra, 2009).

Outra hipótese seria que com a inserção do PEG acarretou uma separação de fases,

surgindo regiões amorfas na matriz de PVA, assim como na estrutura da norbixina corroborando com os resultados apresentados na literatura como no estudo da compatibilidade de blendas quitosana e PVA obtidos em soluções aquosas de ácido acético a 2% realizados por (Kumar, et al. 2010).

Para o scaffold de PVA/PEG/NBx/HA foi observado para os planos de difração (posição  $2\theta$ ) uma diferença na intensidade e deslocamento dos picos com adição da hidroxiapatita (HA) em relação aos demais scaffolds, a blenda e a matriz. É notória a presença de picos característicos de hidroxiapatita na rede cristalina do scaffold, sugerindo um preenchimento da estrutura cristalina da HA, provavelmente por sítios não preenchidos pela norbixina ou PEG na matriz de PVA, aumentando assim a nucleação dessa composição, possivelmente por pares de elétrons de cálcio combinando-se com oxigênios da hidroxila do PVA, o que reflete em uma maior compactação entre os materiais mesmo que de forma desorganizada (Yeathad, et al. 2012). Resultados semelhantes em relação ao tamanho dos picos foram relatados por Wu et al (2008) conforme o tempo de exposição para compósitos de PVA/HA.

Ainda sobre os difratogramas de PVA em relação à blenda de PVA/PEG e aos scaffolds formados de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA foi possível observar que o plano de difração em  $2\theta = 23,2$  sofrem deslocamentos significativos, porém com menos intensidade, que sugere que com a adição da norbixina e do PEG houve mudança na rede cristalina, para a blenda e para os scaffolds, sendo um forte indicativo de interação entre as moléculas de PVA, PEG e norbixina, uma vez, que não havendo a interação entre eles seria possível identificar a rede cristalina de cada componente individualmente (Roopali, Sawar & Bhuvanesh, 2013; Kumar, et al. 2007).

Adicionalmente, o pico na posição  $2\theta = 23,2^\circ$  também pode ter contribuído, uma vez que esse valor representa a difração (101) e refere-se à interferência intermolecular entre as cadeias de PVA (Roopali, Sawar & Bhuvanesh, 2013), que leva ao aumento do espaçamento interplanar em (101). O aumento do espaçamento interplanar pode formar uma ligação mais fraca auto-hidrogênio entre as cadeias de PVA, propiciando a formação de ligação de hidrogênio com as moléculas de PEG. A incorporação da norbixina também proporcionou o aumento da distancia interplanar basal do PVA e PVA/PEG, conseqüentemente reduziu o grau de cristalização e acelerou o processo de fusão da blenda e dos scaffolds, que passou a ser preenchido com a inserção da norbixina, aumentando a distancia interplanar basal do PVA, assim, o grau reduzido de cristalização é a favor do processo de fusão do PVA (Ping Liu, et

al. 2019). Resultados semelhantes foram reportados por Chaudhuria et al (2016) na formulação de scaffolds a partir de poli (álcool) vinílico (PVA)/polivinilpirrolidone (PVP)/ (HA).

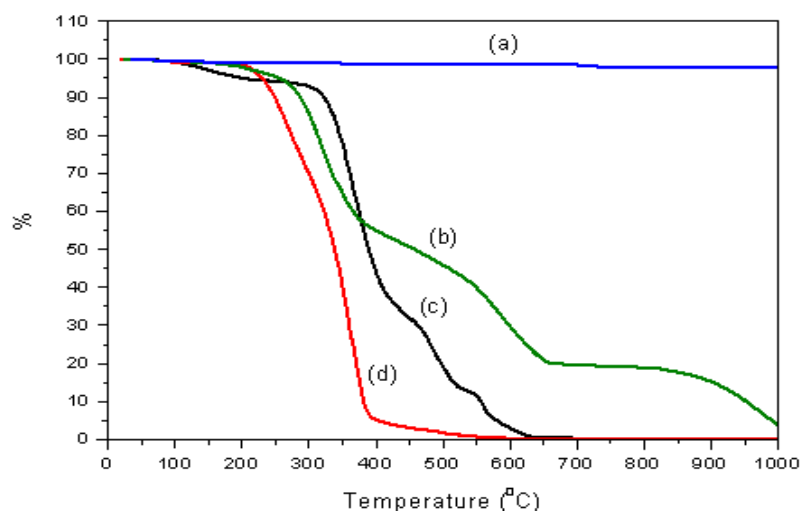
Nota-se que com os resultados obtidos por DRX que apontam diferenças na estrutura de formação dos scaffolds (Paul et al 2003) e que somente por microscopia eletrônica de transmissão (MET), poderíamos certificar qual o tipo de intercalação/estrutura. Porém, essas diferenças na estrutura podem estar relacionadas ao tipo de material empregado, uma vez que foram utilizados quatro componentes diferentes em estruturas cristalinas e geometrias espaciais, embora apresentem alguns grupos funcionais idênticos.

Essas diferenças podem está relacionadas: a carga superficial, a miscibilidade, diferença de polaridade, o tipo de interação intermolecular, assim como o tipo de solvente empregado na construção no preparo dos scaffolds e na obtenção da norbixina e da HA.

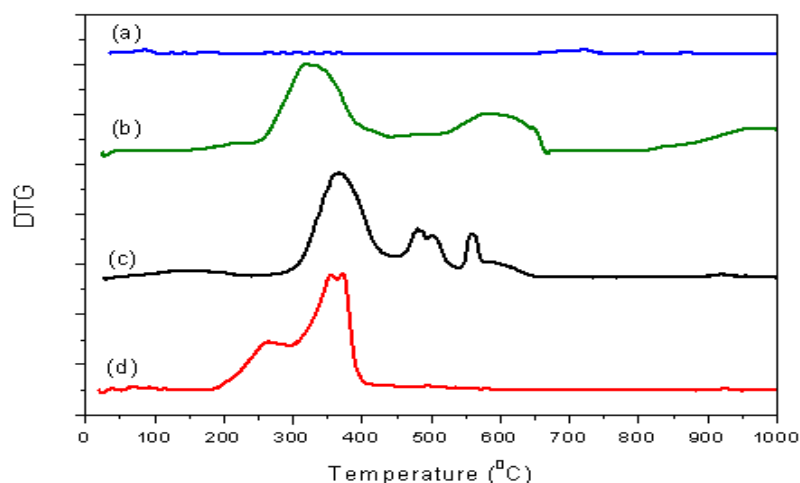
### 3.3 Termogravimetria (TG) e (DTG)

As Figuras 3.4 e 3.5 representam as análises de TG e DTG, respectivamente, dos filmes de HA, NBx, PVA e PEG.

**Figura 3.4:**Curvas TG para (a) HA (b) NBx (c) PVA e (d) PEG



**Figura 3.5:**Curvas de DTG para (a) HA (b) NBx (c) PVA e (d) PEG



Em toda a faixa de temperatura, o HA perdeu aproximadamente apenas 2% da massa, demonstrando ser um material estável a temperaturas inferiores a 1000°C, resultados semelhantes foram reportados por Shakir et al 2014 trabalhando com scaffolds formados a partir de PEG/CS/HA.

As curvas de TG e DTG da norbixina mostraram quatro estágios de degradação. O primeiro estágio ocorre com temperatura máxima de decomposição em 55,7 °C, e é atribuído à evaporação de água adsorvida à superfície do material devido ao seu caráter higroscópico e correspondendo a uma perda de massa de 3,3%. O segundo estágio ocorre com temperatura máxima de decomposição em 298,9 °C, apresentando percentual em perda de massa de 45,6%. O terceiro evento surge com temperatura máxima em 511,1 °C, e cuja perda de massa é 31,5%. O quarto evento é observado em 625°C e percentual de perda de massa de 15,5%. As perdas ocorridas após 625°C devem esta relacionadas à carbonização de resíduos carbonáceos. Esses resultados são muito próximos aos reportados por (Matos, 2017; Silva, 2017; Stringheta, Silva & Costa, 2018).

Estudos realizados por Scotter (1995) relatam da extração e caracterização de produtos derivados da semente de urucum, e afirma que independente da metodologia empregada pode ocorrer durante a degradação à eliminação de vários tipos de substâncias com diferentes massas moleculares, como por exemplo, tolueno, xileno e dimetil-dihidronaftaleno originados a partir da quebra das ligações duplas da cadeia hidrocarbônica dos carotenoides (Scotter, 1995).

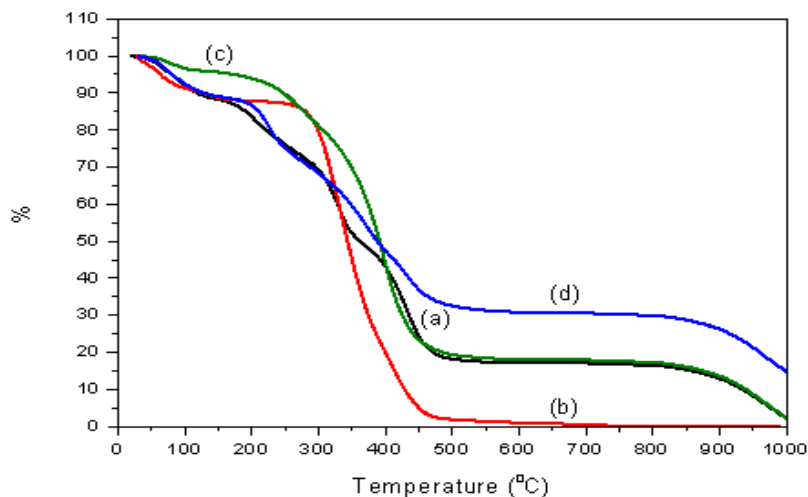
Verifica-se que o PVA possui quatro estágios de degradação iniciando a primeira temperatura máxima de degradação em torno de 72,3°C com 5,8% em perda de massa, sendo

atribuída a quebra das ligações de hidrogênio formadas entre água e PVA. O segundo estágio possui temperatura máxima em 310 °C com 62,00% em perda de massa, atribuído a degradação das ligações do tipo (C-OH), de grupos acetatos residuais. O terceiro e quarto estágios ocorrem com temperaturas máximas de decomposição em torno de 434°C e 558°C com perda de massa em torno de 20,1 e 12,1% respectivamente caracterizada pela quebra de ligações do tipo (C-C) da cadeia hidrocarbônica, tendo 100% de sua massa decomposta. Valores similares são apresentados na literatura por (Restrepo, et al. 2018; Bonilla, et al. 2014; Mansur, Sadahira & Mansur, 2008).

Para o PEG foi observado uma perda de massa considerável na faixa de temperatura entre 25 – 200 °C devido à evaporação da água. Verificam-se ainda outros estágios de decomposição acima de 200 °C provenientes da decomposição de grupos ésteres (Jung & Song, 2013).

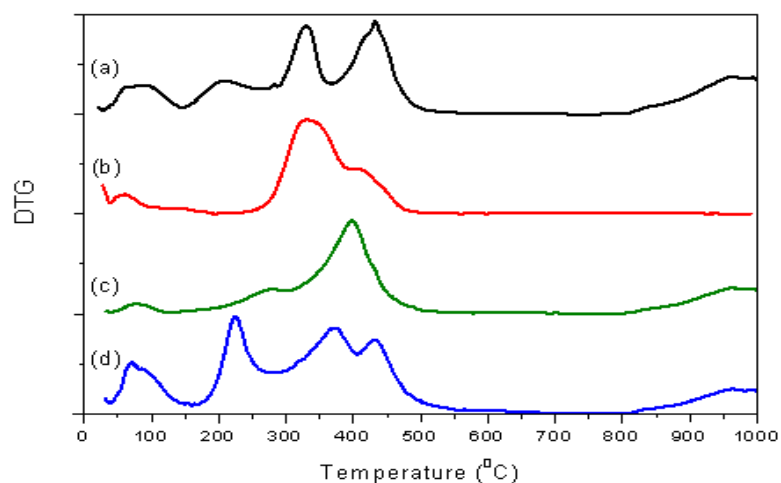
As Figuras 3.6 e 3.7 representam as análises de TG e DTG, respectivamente, dos filmes de PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA.

**Figura 3.6:** Curvas de TG para (a) PVA/PEG (b) PVA/NBx (c) PVA/PEG/NBx e (d) PVA/PEG/NBx/HA



**Figura 3.7:** Curvas de DTG para (a) PVA/PEG (b) PVA/NBx (c) PVA/PEG/NBx e (d) PVA/PEG/NBx/HA





Para a blenda PVA/PEG foi possível observar os mesmos quatro estágios de degradação observados para o PVA, contudo percebe-se uma diminuição na temperatura inicial de degradação máxima que se apresentou em torno de 61°C com perda de 11,00% em massa. Isso indica que a adição do PEG, por ser um polímero semicristalino, afeta as ligações moleculares do PVA, assim como sua estrutura, dificultando seu arranjo cristalográfico (Zhou, 2009; Chen, Chen & Wang, 2018; Abu & Dahman, 2015).

É possível observar pela TG e confirmar pela DTG, que acima de 400°C ocorreu uma perda de massa de 24% correspondente à degradação do PEG.

Fahad et al (2018) obteve resultados semelhantes, onde o teor de PEG proporcionou variações com relação à cristalinidade da blenda PHB/PEG. As amostras se encontravam nas concentrações de 70/30, 80/20, 90/10 e 95/5.

A composição de PVA/NBx apresentou um pico máximo inicial de decomposição em aproximadamente 83 °C com final em 483°C com 100% em perda de massa no final dos seus estágios de decomposição.

Para a composição de PVA/PEG/NBx foi observado uma decomposição de pico máximo inicial muito próximo da observada para PVA/NBx em torno de 80,0 °C com final em 424,8°C para um percentual em perda de massa total em torno de 92,69%. Já para o sistema contendo PVA/PEG/NBx/HA esse valor inicial de decomposição girou em torno de 85°C com final em 444,5°C para um percentual em perda de massa total em torno de 85,96%.

Foi possível observar para os scaffolds comportamentos distintos em relação ao PVA e a blenda de PVA/PEG com a adição de norbixina, sugerindo interações coligativas entre estes, como observado nos valores apresentados na tabela 3.1, houve inicialmente um aumento da

temperatura de degradação máxima do PVA/NBx em relação à matriz de PVA e do PVA/PEG/NBx em relação ao PVA/PEG. Resultados semelhantes foram reportados na literatura no estudo da degradação térmica de filmes de PVA/NBx/CS descritos por (Koosha & Hamed, 2019).

Verifica-se que os sistemas PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA tornaram-se menos estáveis termicamente quando comparados à matriz de PVA e a blenda de PVA/PEG, isso está relacionado à adição de norbixina e HA que apresentam um perfil de degradação ocorrendo em várias etapas. Além disso, a combinação dos materiais pode desestabilizar as estruturas dos scaffolds, sugerindo uma maior concorrência entre os materiais Lima et al (2001) corroborando com os resultados de DRX. Comparando ainda os dados dos scaffolds PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA em relação a matriz de PVA e a blenda PVA/PEG, foi observado no início que os scaffolds apresentaram melhora das propriedades de barreira, que se deve à boa miscibilidade entre os componentes, como mostra as temperaturas de evaporação da água,  $T_{(pico)} = 83,0, 80,0$  e  $85,0$  para PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA, respectivamente.

**Tabela 3.1:** Temperaturas máximas de decomposição (T) e variação de percentagem de massa para as amostras de NBx, HA, PVA, PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA.

Amostra	Temperaturas Máximas de decomposição (°C)					Variação da massa (%)				
	1°	2°	3°	4°	5°	1°	2°	3°	4°	5°
PVA	72.3	310	434	538	-	5.8	62	20.1	12.1	-
PVA/PEG	61	222	330	454	-	11	65	24	11	-
NBx	55.7	298.9	511.1	625	-	3.3	45.6	31.5	15.5	-
HIDROXIAPATITA	53.5	121.3	743.0			-	-	-	-	-
PVA/NBx	83	228.8	337.2	421	483	12.38	18.14	23.05	31.03	7.7
PVA/PEG/NBx	80	271.3	365.9	424.8	-	4.22	16.40	41.99	30.08	-
PVA/PEG/NBx/HA	85	220.4	395.1	444.5	-	10.73	20.23	28.00	27.00	-

**Fonte:** Dados da pesquisa.

### 3.4 Microscopia Óptica (MO)

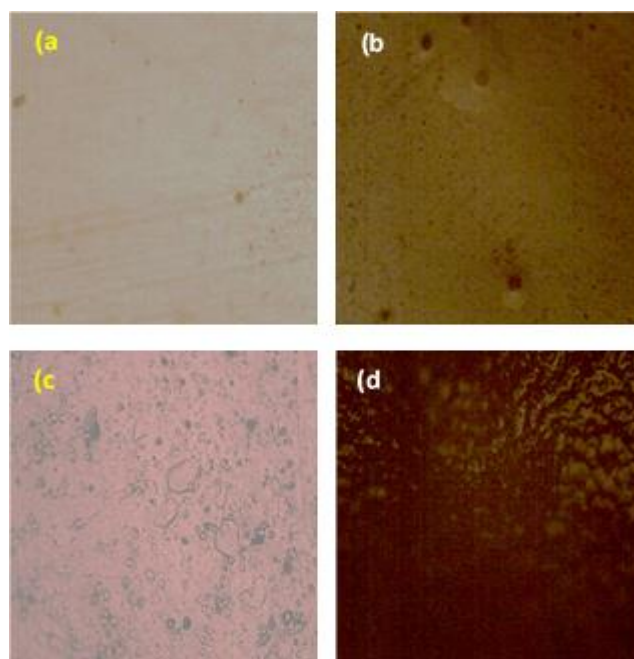
A microscopia óptica foi utilizada para verificar a morfologia, formação de fissuras, vazios, aglomerados e alterações na blenda de PVA/PEG, e nos scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. A Figura 3.8 ilustra as micrografias dos sistemas submetidos ao teste.

Para a blenda de PVA/PEG, observa-se que com a adição do plastificante ocorre uma mudança de coloração com a inserção do PEG na matriz polimérica de PVA, evidenciando uma interferência interlamelar. Pode-se ainda observar aglomerados ou pequenas manchas escuras por toda a extensão do filme, algo já evidenciado para o filme de PVA, porém em menores proporções sem a presença de (vesículas).

Para os scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA pode-se observar micrografias homogêneas, assim como uma mudança de coloração com a presença da norbixina para ambos os sistemas.

Isso, pode se apresentar como sendo a coloração da norbixina, que esteve presente nas membranas mesmo após a sua purificação. Essa característica mostra que o processo de esterificação não degradou o pigmento do carotenoide, uma vez que se isso tivesse acontecido o material teria uma coloração amarelada e não vermelho (Barbosa, Borsarelli & Mercadante, 2005).

**Figura 3.8:** Micrografia óptica do (a) PVA/PEG (b) PVA/NBx (c) PVA/PEG/NBx e (d) PVA/PEG/NBx/HA.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

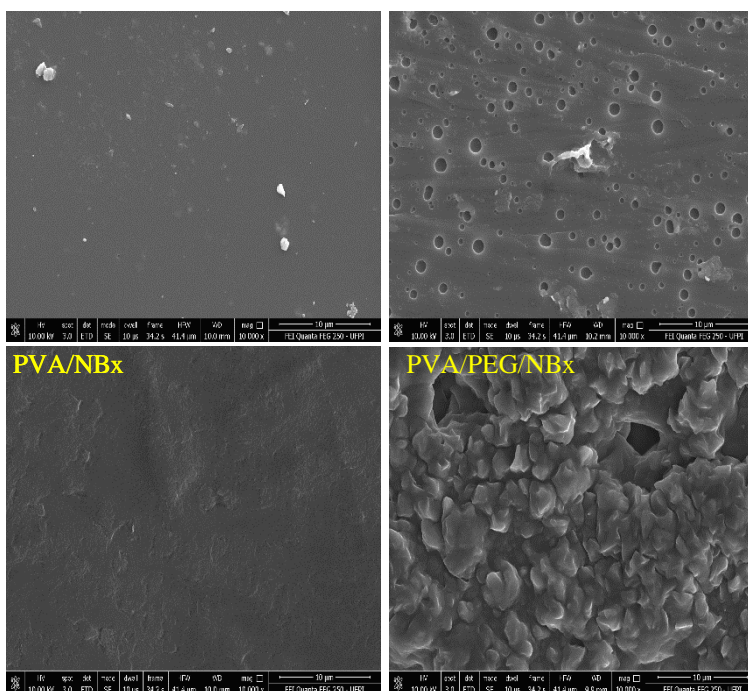
Foi possível também observar a presença de pontos (escuros) ao longo dos filmes PVA/NBx, PVA/PEG/NBx, porém sem a presença de vazios, fissuras ou (vesículas) com maior predominância para os filmes de PVA/NBx, sugerindo que com a presença do PEG houve maior interação/compactação entre os componentes corroborando com os resultados das análises térmicas.

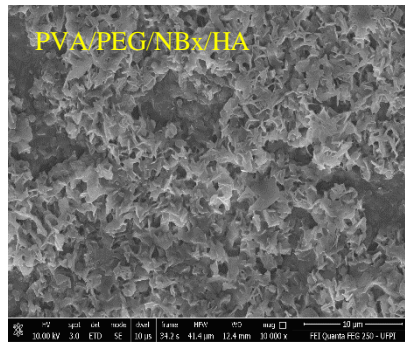
Em contrapartida, a amostra PVA/PEG/NBx/HA não apresenta mudança de coloração em relação as amostras de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx, porém ficou evidenciado a presença de nuvens (manchas) bastante acentuadas e nítidas, sugerindo uma dispersão com a inserção da hidroxiapatita por toda a extensão do filme.

### 3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 3.9 ilustra as micrografias obtidas com o ensaio. A microscopia foi utilizada para caracterizar os filmes de PVA, a blenda PVA/PEG, e os scaffolds de PVA/PEG,PVA/NBx, PVA/PEG /NBx e PVA/PEG/NBx/HA.

**Figura 3.9:** As micrografias dos filmes observados por SEM são ilustrados com uma superfície em ampliação de 10000x e uma barra de escala de 10 µm para o a) PVA, b) PVA/PEG c) PVA/NBx/ d) PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA.





**Fonte:** Dados da pesquisa.

Para o filme de PVA, observa-se uma micrografia mais homogênea, sem mudanças bruscas de cor, vazios e fissuras, sem indicação de separação de fases e com boa integridade estrutural. Porém, foi observada a presença de alguns resíduos ou cristais que não derreteram durante o aquecimento e outras impurezas não removidas durante a filtração. Essas observações sugerem uma boa dissolução do PVA (Farad, et al. 2018; Ma, et al. 2018).

Para a mistura PVA / PEG, observa-se uma fase homogênea sem a ocorrência de separação de fases. Essas observações são devidas à adição do plastificante e indicam excelente miscibilidade de PVA e PEG nesta proporção de mistura (Farad, et al. 2018). Além disso, observam-se resíduos, o que também é evidenciado para o filme de PVA, mas em proporções menores. Vácuos e buracos ao longo do comprimento do filme também podem ser observados, provavelmente causados por uma porosidade específica associada à rápida evaporação do solvente durante o processo de desenho do filme (Ma, et al. 2018).

Em relação à composição do PVA / NBx, mostrada na figura 3.9, observa-se uma superfície moderadamente plana, compacta e sem trincas. Essas observações indicam boa compatibilidade entre os dois componentes (Koosha, et al. 2019). Pode-se observar também que a superfície torna-se rugosa, o que indica uma possível separação de fases entre o PVA e a norbixina. Além disso, as moléculas de norbixina podem interromper a estrutura compacta da matriz do PVA devido ao seu maior caráter amorfo em relação ao PVA, que afeta a cristalinidade da matriz.

Sousa et. al. encontraram resultados semelhantes para a caracterização de filmes PHB / NBx em diferentes proporções 5% e 10%. Os autores associaram a estrutura rugosa do filme às propriedades intrínsecas da norbixina, que, por oferecer uma área de superfície maior, permite uma absorção mais rápida do solvente. Outra hipótese é o teor de norbixina utilizado no desenho da membrana, que indica que quanto menor o percentual aplicado, menor a miscibilidade entre os materiais, e o resultado é um material com superfície mais rugosa.

A imagem para a composição de PVA / PEG / NBx parece áspera, semelhante à relatada por PVA / NBx. Essa observação se deve à separação de fases entre o PVA e o NBx. Além disso, não possui ranhuras ou rachaduras e mostra-se moderadamente plano. Esses resultados indicam compatibilidade entre os materiais. Resultados semelhantes foram relatados por Koosha, et al. 2019 projetos de filmes de PVA / quitosana. A partir da imagem, pode-se inferir que a incorporação do PEG na formulação do PVA / NBx altera o formato da estrutura rugosa, resultando em elevações mais elevadas, bem como declives semelhantes aos vazios encontrados para a blenda PVA / PEG. Esses resultados indicam separação de fases entre os componentes.

Em relação à composição PVA / PEG / NBx / HA, observou-se que a incorporação da hidroxiapatita permite a obtenção de um material com aspecto rugoso, superfície irregular com presença de poros, aglomerados e canais distribuídos por toda a superfície. Além disso, foi observada uma nítida mudança de cor, o que sugere uma mudança de fase entre os componentes, refletida diretamente em sua miscibilidade (Omer, et al. 2014; Ali, Mahmoud & Masoud, 2011; Shakira, et al. 2014).

Resultados semelhantes foram observados por Chaudhuri et al caracterizando andaimes de poli (álcool) vinílico (PVA)/polivinilpirrolidona (PVP)/hidroxiapatita (HA), o autor afirmou que dependendo do teor de hidroxiapatita foi possível observar poros, aglomerados e canais por toda a superfície do filme.

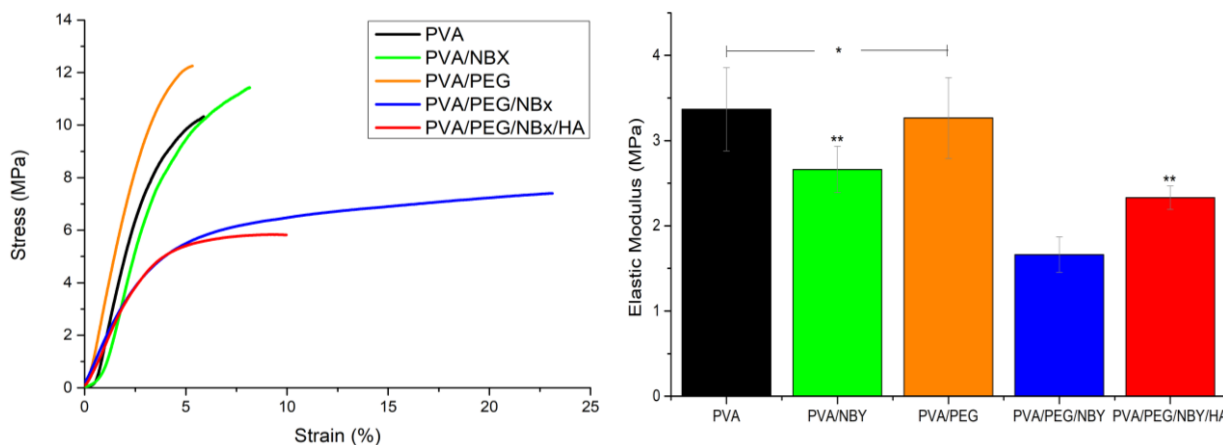
Assim, pode-se afirmar que a composição PVA/PEG/NBx/HA apresentou variações no tamanho dos poros e nos poros abertos e interligados, características essenciais para o crescimento tecidual de acordo com a literatura Mizuno, et al. 2005. A presença de poros de tamanhos diferentes é muito importante, pois o tecido ósseo cresce por poros interconectados na faixa de 100 a 200  $\mu\text{m}$ , enquanto a adesão celular e a formação vascular ocorrem em poros menores que 100  $\mu\text{m}$  (Shakira, et al. 2014).

### **3.6 Propriedades Mecânicas**

O módulo de elasticidade (E) e a resistência máxima à tração ( $\sigma_{\text{max}}$ ) foram usados para avaliar como o material se comporta sob cargas mecânicas de acordo com as Figuras 3.10 e 3.11 respectivamente. Os resultados obtidos pelas análises são apresentados na Tabela 3.2.

**Figura 3.10 e 3.11:** Variação nos valores das propriedades mecânicas dos grupos PVA, PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. (a) Curvas de tensão X deformação para os diferentes grupos. (b) Módulo

de elasticidade expresso em média e desvio padrão para diferentes materiais. Os resultados foram apresentados em média e desvio padrão. O teste realizado foi o One-way ANOVA seguido por múltiplas análises de Turkey pós-teste \*  $P < 0,05$  ( $N = 5$ ).



**Tabela 3.2.** Valores do módulo de elasticidade e resistência máxima à tração obtidos para cada grupo testado.

Group	E (MPa)	$\sigma_{\text{máx}}$ (MPa)
PVA	3,36 ± 0,48	10,30 ± 0,28
PVA/PEG	3,26 ± 0,47	12,25 ± 0,87
PVA/NBx	2,66 ± 0,27	11,41 ± 1,22
PVA/PEG/NBx	1,66 ± 0,20	7,40 ± 0,65
PVA/PEG/NBx/HA	2,32 ± 0,13	5,81 ± 1,35

**Legenda:** E: módulo de elasticidade;  $\sigma_{\text{max}}$ : resistência máxima à tração.

As Figuras 3.10 e 3.11 mostram as diferentes curvas tensão X deformação e os valores do módulo de elasticidade para os grupos PVA, PVA/PEG, PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. A diferença observada nas curvas deve-se à diferença na composição dos grupos testados. A Tabela 3.2 mostra os valores do módulo de elasticidade (E) e da resistência máxima à tração ( $\sigma_{\text{max}}$ ) obtidos para os materiais testados. Esses valores permitem descrever o comportamento mecânico das formulações, que de acordo com os testes realizados, é possível afirmar que o filme de PVA puro e a blenda PVA/PEG são as composições mais rígidas, pois apresentam os maiores valores de módulo de elasticidade (E), que foram  $3,36 \pm 0,48$  e  $3,26 \pm 0,47$  MPa, respectivamente. Esses valores são estatisticamente semelhantes. Um segundo grupo composto pelos scaffolds PVA/NBx e PVA/PEG/NBx/HA apresenta valores de elasticidade iguais a  $2,66 \pm 0,27$  e  $2,32 \pm 0,13$  MPa, respectivamente. Por fim, o PVA/PEG/NBx apresentou valor de elasticidade igual a  $1,66 \pm 0,20$  MPa, destacando-se como a composição mais flexível.

Quanto à fragilidade, os materiais podem ser agrupados em: PVA puro e PVA/PEG, apresentando comportamento de fragilidade semelhante; e PVA/NBx apresentam os maiores valores de resistência máxima à tração. Os demais grupos apresentam comportamento menos frágil, sendo PVA/PEG/NBx o mais dúctil entre as composições.

Sabe-se que o PEG é um material plastificante. Assim, espera-se que este material possa aumentar a resistência mecânica nas formulações. Essa hipótese é confirmada pelos resultados apresentados nas Figuras 3.10 e 3.11, onde se observa que o PVA/PEG possui o maior valor de resistência máxima à tração entre todas as amostras testadas, seguido pelo grupo PVA/NBx. Resultados semelhantes foram relatados por Sergio, et al. 2018 com filmes de PVA/CS e HA usados para regeneração de tecido ósseo.

Em relação à ductilidade, as composições PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA apresentam padrões de curva tensão-deformação muito semelhantes. Nesse caso, a presença de três espécies diferentes aumenta as interações intermoleculares e a mobilidade da cadeia polimérica, o que pode explicar a diminuição da fragilidade dessas composições e sua maior ductilidade (Sergio, et al. 2018; Bernal, Kuritka & Saha, 2016; Miya, Iwamoto & Mima, 1984; Zhou, Yang & Nie, 2007; Ting-Ting, et al. 2019).

#### **4. CONCLUSÃO**

Através dos resultados obtidos por FTIR o grupo funcional hidroxila (OH) foi observado para a blenda de PVA/PEG pela existência de duas bandas que representamos modos vibracionais do grupo hidroxila, caracterizando uma possível copolimerização com o surgimento de uma nova banda em torno de  $1439\text{ cm}^{-1}$ . Para os scaffolds foram observadas modificações significativas nos espectros em relação à blenda PVA/PEG e do PVA puro, indicando que a adição da norbixina e da hidroxiapatita a blenda de PVA/PEG promoveu mudanças significativas na matriz do polímero. A partir dos espectros de difração de raios-X da blenda foram observados que os planos de difração sofrem deslocamentos com a adição do PEG. Já para os scaffolds há diferença na estrutura, relacionadas ao tipo de material empregado. Os componentes mencionados neste trabalho podem apresentar diferenças em relação: a carga superficial, a miscibilidade, diferença de polaridade, o tipo de interação formado (forças intermoleculares). Essas diferenças somadas ao tipo de solvente empregado na modificação dos materiais, assim como na solução sugerem de certa forma estruturas interlamelares diferentes para a formação dos scaffolds. Por análise térmica foi observado três estágios de decomposição para o PVA, correspondendo a uma perda de 99,35% de sua massa



indicando à completa decomposição. Para a blenda de PVA/PEG foi observado uma diminuição na temperatura inicial de degradação, porém com perda de massa semelhante à matriz de PVA e uma diminuição da estabilidade térmica diminuindo a temperatura inicial de degradação da blenda. Foi observada que a degradação dos scaffolds pode estar ligada diretamente a degradação dos materiais presentes na constituição dos materiais isolados, assim como do solvente presente nos scaffolds. Por microscopia óptica foi observado para a blenda com a presença do PEG uma provável interferência lamelar. Para os scaffolds pode-se observar que a norbixina não se deposita de forma homogênea para ambas as amostras, apresentando pontos escuros ao longo dos scaffolds. Os scaffolds de PVA/NBx e PVA/PEG/NBx apresentaram micrografias semelhantes em relação a coloração, vazios ou fissuras independente do teor ou componente empregado, sem separação de fases evidentes. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que a blenda PVA/PEG possui superfície compacta, sem trincas, apresentando boa compatibilidade e miscibilidade entre os componentes. O ensaio também mostrou que a adição de NBx à matriz de poli (álcool) vinílico PVA para o filme PVA/NBx torna a superfície do filme rugosa e resulta na separação de fases entre os componentes. Para o filme PVA/PEG/NBx, foi possível observar um comportamento semelhante à composição do PVA/NBx devido à miscibilidade entre PVA e NBX. No entanto, muda a forma da estrutura rugosa, apresentando elevações mais altas e declives semelhantes a espaços vazios. Por fim, no que se refere à composição PVA/PEG/NBx/HA, observou-se que a incorporação da hidroxiapatita resulta em aspecto rugoso do material, que apresenta superfície irregular e presença de poros, aglomerados e canais distribuídos em toda sua superfície, diretamente afetando sua miscibilidade. De acordo com os ensaios mecânicos realizados neste estudo, o filme de PVA puro e a blenda PVA/PEG apresentaram maior rigidez, por apresentarem os maiores valores de módulo de elasticidade. Os filmes de PVA/NBx e PVA/PEG/NBx/HA apresentaram módulo de elasticidade semelhante, o que os define como estaticamente iguais. O PVA/PEG/NBx é a composição mais flexível. Também foi observada uma boa ductilidade para as composições PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA. Nestes casos, a presença de três espécies diferentes aumenta as interações intermoleculares e a mobilidade da cadeia polimérica, o que pode explicar a diminuição da fragilidade dessas composições e sua maior ductilidade. Essas características sugerem que esses materiais são prometidos para futuras aplicações no projeto de scaffolds, principalmente na reconstrução de tecido ósseo.

## 5. REFERÊNCIAS

Afshar, A, Ghorbani, M. Ehsani, N, Saeri, M. R, Sorrell. (2003). Some important in the West precipitation process of hydroxyapatite. **Mater. Des.** V 24, p 197-202.

A.R. Studart, (2013). Biological and bioinspired composites with spatially tunable heterogeneous architectures, *Adv. Funct. Mater.* 23 4423–4436.

Abukawa, H. (2006) The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: A review of scaffolds and implant coatings. *Dental Clinics of North American*, Philadelphia, v.50, n.2, p.205-216.

Attachoat, W. et al. (2011). Contact sensitizing potential of annatto extract and its two primary color components, cis bixin and norbixin, in female BALB/c mice. *Food and Chemical Toxicology*,. doi:10.1016/j.fct.2011.07.009.

Barbosa, M. I. M. J.; Borsarelli, C. D.; Mercadante, A. Z. (2005). Light stability of spraydried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38, 989.

Berger J, Reist M, Mayer JM, Felt O, Gurny R. (2004). Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm* ; **57**: 35-52.

Bispo VM, Mansur AA, Barbosa-Stancioli EF, Mansur HS. (2010). Biocompatibility of nanostructured chitosan/ poly(vinyl alcohol) blends chemically crosslinked with genipin for biomedical applications. *J Biomed Nanotechnol*; **6**: 166-175.

Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2014). Physical, 726 structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan 727 biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463–470.

Brandelero, Renata P. H.; Almeida, Fábio M. De; Alfaro, Alexandre.(2015). Microestrutura e propriedades de filmes de amido-álcool polivinílico-alginato adicionados de óleos essenciais de copaíba e capim limão. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 38, n. 7, p. 910–916.

B. Chaudhuria, B. Mondal, S.K. Ray, S.C. Sarkar. (2016). A novel biocompatible conducting polyvinyl alcohol(PVA)-polyvinylpyrrolidone (PVP)-hydroxyapatite (HAP) composites scaffolds for probable biological application. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 143 (2016) 71–80.

Casaco esJ. Em: Mey ersRA, edi tor .(2000).Enc ycl opa EDIAdo ana lyt icalquímica. Chiche ster: Wiley. p. 10815-37.

Chaker JA, Dahmouhce K, Craievich AF, CV Santilli, Pulcinelli SH.J (2000). *Appl Cryst*; 33: 700-3.

Chen, G., Chen, N. & Wang, Q. (2018). Preparation of poly (vinyl alcohol)/ionic liquid composites with improved processability and electrical conductivity for fused deposition modeling. **Mater. Des.** 157, 273–283.

Chiavacci LA, Dahmouch e K, Santilli CV, Bermudez Z, Carlos LD, Briois V, Craievich AF. (2003). *J Appl Cryst*; 36: 405-9.

Chiellini E, Cinelli P, Ilieva VI, Martera M. (2008). Biodegradable thermoplastic composites based on polyvinyl alcohol and algae. **Biomacromolecules**; **9**: 1007-1013.

D. Garlotta, A literature review of poly (lactic acid), J. (2001) **Polym. Environ.** 9 (2001) 63–84.

Dias LL, Mansur HS, Donnici CL, Pereira MM. (2011). Synthesis and characterization of chitosan-polyvinyl alcohol-bioactive glass hybrid membranes. **Biomatter**; 1: 114-119.

E. Wintermantel, J. Mayer, J. Blum, K.L. Eckert, P. Lüscher, M. Mathey, (1996). Tissue engineering scaffolds using superstructures, **Biomaterials** 17 83–91.

Engelhardt G and Hoffmann HD, (2000). Salmonella Typhimurium / Escherichia Coli Reverse Mutation Assay (Standard Plate Test and Preincubation Test with) Polyethylene Glycol-g-Polyvinyl Alcohol-Copolymer (Graftpolymer). Project no 40M0401/994139. Unpublished study report submitted by BASF SE.

Engelke, Laura; Winter, Gerhard; Engert, Julia. (2018). Application of water-soluble polyvinyl alcohol-based film patches on laser microporated skin facilitates intradermal macromolecule and nanoparticle delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, [s. l.], v. 128, n. April, p. 119–130.

Ezequiel S.Costa-Júnior, Edel F.Barbosa-Stancioli, Alexandra A.P.Mansur, Wander L.Vasconcelos, Herman S.Mansur. (2009). Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**; **76**: 472-481.

Fernández, M. J.; Fernández, M. D. (2005). Esterification of ethylene-vinyl alcohol copolymers in homogeneous phase using *N,N'*-dimethyl propyleneurea as solvent. **Polymer**, *46*, 1473.

Fontana, Klaiani B. et al. (2016). Biossorção de Pb(II) por casca de urucum (*Bixa orellana*) em soluções aquosas: estudo cinético, equilíbrio e termodinâmico. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 39, n. 9, p. 1078–1084.

Fubing Peng, Lianyu Lu, Honglei Sun, Fusheng Pan, and Zhongyi Jiang (2007). Organic-Inorganic Hybrid Membranes with Simultaneously Enhanced Flux and Selectivity. *Ind. Eng. Chem. Res.*, *46*, 2544-2549.

Gustaldi, A. C.; Aparecida, A. H. (2010). Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Quim Nova**.v. 6, p. 1352-1358.

H.A. El-Mohdy, S. Ghanem (2009). Biodegradability, antimicrobial activity and properties of PVA/PVP hydrogels prepared by  $\gamma$ -irradiation, J. **Polym. Res.** 161–10.

H.-W. Kim, J.C. Knowles, H.-E. Kim, (2004). Hydroxyapatite/poly( $\epsilon$ -caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery, **Biomaterials** 25 1279–1287.

Hechenleitner, A. A. Winkler et. al. (2013). Thermal and photochemical effects on the structure , morphology , thermal and optical properties of PVA/Ni<sub>0.04</sub> Zn <sub>0.96</sub>O and PVA/Fe<sub>0.03</sub> Zn <sub>0.97</sub>O nanocomposite films. **Polymer Degradation and Stability**, [s. l.], v. 98, n. 9, p. 1862–1868

J. Zhao, L.Y. Guo, X.B. Yang, J. Weng, (2008). Preparation of bioactive porous HA/PCL composite scaffolds, **Appl. Surf. Sci.** 255 2942–2946.

Jung Sang Choa, Sang-Hoon Rhee (2013). Formation mechanism of nano-sized hydroxyapatite powders through spray pyrolysis of a calcium phosphate solution containing polyethylene glycol. **Journal of the European Ceramic Society** 33 (2013) 233–241.

JR, Bogdan Demczuk; Ribani, Rosemary Hoffmann. (2015). Atualidades sobre a química e a utilização do urucum ( *Bixa orellana* L.). *Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos*, [s. l.].

Kumar, P. T. S., Srinivasan, S., Lakshmanan, V.-K., Tamura, H., Nair, S. V., & Jayakumar, R. (2011). Synthesis, characterization and cytocompatibility studies of  $\beta$ -chitin hydrogel/nano hydroxyapatite composite scaffolds. **International Journal of Biological Macromolecules**, 49(1), 20–31.

Lewandowska K. K. (2009). Miscibility and thermal stability of poly(vinyl alcohol)/chitosan mixtures. **Thermochimica Acta**; **493**: 42-48.

Liu, X.; Ma, P. X. (2004). Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. **Annals of biomedical engineering**, New York, v.32, n.3, p.477-486.

Luis, Charlyton; Costa, S. (2005). Extração de pigmentos das sementes de *Bixa Orellana* L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 149–152.

M. Mastrogiacomo, S. Scaglione, R. Martinetti, L. Dolcini, F. Beltrame, R. Cancedda, R. Quarto, (2006) Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics, **Biomaterials** 27 3230–3237.

Ma, P.; Xu, P.; Zhai, Y.; Dong, W.; Zhang, Y.; Chen, M. Biobased Poly (lactide)/ethylene-covinyl Acetate Thermoplastic Vulcanizates: (2015). Morphology Evolution, Superior Properties, and Partial Degradability. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 3, 2211.

Mansur, H. S., Sadahira, C. M., Souza, A. N. & Mansur, A. A. P. (2008). FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Materials Science & Engineering C** 28, 539–548.

Mansur, H. S., Sadahira, C.M, Sousa, A., Mansur, A. A. P. (2007a). FTIR spectroscopy characterization of poly(vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Material Science and Engineering C**, v.28, p.539-548.

Mansur, Herman S.; Oréface, Rodrigo L.; Mansur, Alexandra A. P. (2004). Characterization of poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) hydrogels and PVA-derived hybrids by small-angle X-ray scattering and FTIR spectroscopy. **Polymer**, [s. l.], v. 45, n. 21, p. 7193–7202.

Mercadante, A.Z. et al. (2010). Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. *Meat Science*, v.84, p.718-726. doi:10.1016/j.meatsci.2009.10.031.

Munro, N. H., & McGrath, K. (2012). Hydrogels as biomimetic mineralization scaffolds. *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*, 1, 26–37.

Md. Yeathad Hossan<sup>1</sup>, Md. Ashraful Islam Molla<sup>1</sup>, Md. Shahidul Islam<sup>1</sup>, Ashequl Alam Rana, Md. Abdul Gafur<sup>2</sup> and Mohammad Mainul Karim. (2012). Fabrication and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Hydroxyapatite Biomimetic Scaffold by Freeze Thawing in Situ Synthesized Hybrid Suspension for Bone Tissue Engineering. **ISSN 2250-2459, ISO 9001:2008 Certified Journal, Volume 2, Issue 12.**

Orthaber DA, Bergmann A, Glatter O. J. (2000). **Appl Cryst**; 33: 218 - 25.

Padil, V.V.T. et al. (2014). Fabrication, Characterization, and Antibacterial Properties of Electrospun Membrane Composed of Gum Karaya, Polyvinyl Alcohol, and Silver Nanoparticles. **Journal of Nanomaterials**, ID 750726, out.

Parin U Kadakia, Emily A Growney Kalaf, Andrew J Dunn, Laurie P Shornick and Scott A Sell. (2018). Comparison of silk fibroin electrospun scaffolds with poloxamer and honey additives for burn wound applications. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* Vol. 33(1) 79– 94.

Peppas NA, Wright L. (1996). **Macromolecules**; 29: 8798-804

Peppas NA. (1977). **Makromol Chem**; 178: 5 95-601.

Peppas NA. (1977). **Polymer**; 18 : 403-8.

Pinheiro, Leonardo et al.(2018). Norbixin extracted from urucum ( *Bixa orellana* L.) for the formation of conductive composites with potential applications in electrochemical sensors. **Surfaces and Interfaces**, [s. l.], v. 13, n. April, p. 92–100.

Prachi Kakkar, Sudhanshu Verma , I.Manjubala, B. Madhana (2014). Development of keratin–chitosan–gelatin composite scaffold for soft tissue engineering *Materials Science and Engineering. C* 45, pp. 343–347.

Queli, Sinara et al. (2015). Incorporação de fonte de nitrogênio em partículas de PVA e alginato de sódio e estudo da influência de ciclos de congelamento/descongelamento na caracterização do produto A source of nitrogen incorporation in particulate PVA and sodium alginate and stud. **Polímeros**, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 606–613.

Ramamoorthy, Siva et al. (2010). Molecular characterization of bixin — An important industrial product. *Industrial Crops & Products*, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 48–53. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.03.001>

Roopali Agarwal, M. Sarwar Alam, Bhuvanesh Gupta. (2013). Polyvinyl Alcohol Polyethylene Oxide-Carboxymethyl Cellulose Membranes for Drug Delivery. DOI: 10.1002/app.39144.

S. Larsson, G. Hannink, (2011). Injectable bone-graft substitutes: current products, their characteristics and indications, and new developments, *Injury* 42 (**Suppl 2**) S30–S34.

S. Wu, X. Liu, K.W.K. Yeung, C. Liu, X. Yang, (2014). Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering, *Mater. Sci. Eng.: R: Rep.* 80 1–36.

Sachiko Nittaa,b, Ayaka Komatsua, Taisei Ishiia, Masatoshi Ohnishi, Atsuko Inoue, Hiroyuki Iwamoto. (2017). Fabrication and characterization of water-dispersed chitosan nanofiber/poly (ethylene glycol) diacrylate/calcium phosphate-based porous composites *Carbohydrate Polymers* 174, p. 1034–1040.

Sahlin JJ, Peppas NA. (1997). *J Appl Polym Sci*; 63: 10 3–10.

Silva, M. C. D.; Botelho, J. R.; Conceição, M. M.; Lira, B. F.; Coutinho, M. A.; Dias, A. F.; Souza, A. G.; Filho, P. F. A. (2005). Thermogravimetric investigations on the thermal degradation of bixin, derived from the seeds of annatto. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 79, 277.

Singh TJ, Bhat SV. (2003). *Bull Mater Sci*; 26 (7): 707 a 14.

Sinhoreti, M. A. C.; Vitti, R. P.; Correr-Sobrinho, L. (2013). Biomateriais na odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.* v. 67, p. 178-186.

Mohammad Shakira, Reshma Jollya, Mohd Shoeb Khana, Noor-e Irama, Tarun Kumar Sharmab and Saud Ibrahim Al-Resayesc. (2014). Synthesis and characterization of a nano hydroxyapatite/chitosan/polyethylene glycol nanocomposite for bone tissue engineering. *Polym. Adv. Technol.*(wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/pat.3417.

Stringheta, Paulo C.; SILVA, Pollyanna I.; Costa, G. V. (2018). Annatto / Urucum — Bixa orellana. *Chapter Outline*, [s. l.], p. 23–30.

Tabata, Y. (2009) Biomaterial technology for tissue engineering applications. *Journal of the Royal Society Interface*, London, v.6, n.3, p.311-324,

Talha, M.; Behera, C. K.; Sinha, O. P; (2013). *Mater. Sci. Eng., C* 33, 3563.

Tao, Shasha et al. (2015). Free Radical Biology and Medicine Systemic administration of the apocarotenoid bixin protects skin against solar UV-induced damage through activation of NRF2. *Free Radical Biology and Medicine*, [s. l.], v. 89, p. 690–700. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed>.

Temenoff, J. S., & Mikos, A. G. (2000). Review: Tissue engineering for regeneration of articular cartilage. **Biomaterials**, 21(5), 431–440.

Wan, D. C.; Nacamuli, R. P.; Longaker, M. T. (2006). Craniofacial bone tissue engineering. *Dental Clinics of North American*, **Philadelphia**, v.50, n.2, p.175-190.

Wang, J. et al. (2019). PVA/CS and PVA/CS/Fe gel beads synthesis mechanism and their performance in cultivating anaerobic granular sludge. *Chemosphere*, [s. l.], p. 130–139.

Wei, S. Y.; Ding, W.; Zhu, J. H.; Chen, X. L.; Rutman, D.; Guo, Z. H. – (2010). **Macromol. Mater. Eng.**, **295**, p.958.

Gang Wu, Bing Suc, Wenguang Zhang, Chengtao Wang. (2008). *In vitro* behaviors of hydroxyapatite reinforced polyvinyl alcohol hydrogel composite. **Materials Chemistry and Physics** 107 (2008) 364–369.

Wu, D.; Li, W.; Hao, Y.; Li, Z.; Yang, H.; Zhang, H.; Dong, L. (2015). Mechanical properties, miscibility, thermal stability, and rheology of poly (propylene carbonate) and poly (ethylene-co-vinyl acetate) blends. **Polymer Bulletin**, 72, 851.

Y. Wang, K.Y. Mi, L. Robert, (2003). In vivo degradation characteristics of poly(glycerol sebacate), *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 66a 192–197.

Yifan Maa,<sup>a,b</sup>, Wenjing Zhang <sup>a,b</sup>, Zihao Wang<sup>a,b</sup>, Zi Wang <sup>d</sup>, Qing Xie <sup>d</sup>, Haoyi Niu <sup>a,b</sup>, Han Guo <sup>e</sup>, Yuan Yuan <sup>a,c</sup>, Changsheng Liu. (2016) PEGylated poly(glycerol sebacate)-modified calcium phosphate scaffolds with desirable mechanical behavior and enhanced osteogenic capacity **Acta Biomaterialia** 44 110–124.

Yoshino, H. et al. (2003). Ninety-toxicity study of annatto extract, a natural food color, in rats. In: Proceedings of the 30th annual meeting. **Journal of Toxicological Sciences**, v.28, n.4, p.294.

V. Dhanalakshmi. (2011)Synthesis, characterization and antimicrobial activity of PVA/hydroxyapatite nanocomposites, *Nanoscience, Engineering and Technology (ICONSET), International Conference* 146–150, <http://dx.doi.org/10.1109/ICONSET.2011.6167939>, ISBN: 978-1-4673-0071-1 (accessed05.03.16)

X.X. Haijun Yu. (2007). Preparation and antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containing silver nanoparticles, *J. Appl. Polym. Sci.* 103 125–133.

Zhang, L. e Webster, T. T. (2009). Nanotechnology Logy and Nanomaterials: Promises for Improved Tissue Regeneration. **Nano Toddy**, 4, pp. 66-80.

Zhou, Xm. (2009).Preparation and Characterization of PEG/MDI/PVA Copolymer as Solid–Solid Phase Change Heat Storage Material. **Journal of Applied Polymer Science**, pp. 2041–2045.

Zongo, S. et al. (2015). Nonlinear optical properties of poly(methyl methacrylate) thin films doped with Bixa Orellana dye. **Applied Surface Science**, [s. l.], v. 340, p. 72–77.

Zu, Y.; Zhang, Y.; Zhao, X.; Shan, C.; Zu, S.; Wang, K.; Li, Y.; Ge, Y. (2012). Preparation and characterization of chitosan–polyvinyl alcohol blend hydrogels for the controlled release of nano-insulin. **Int. J. Biol. Macromol**, 50, 82–87.

Fahad H. Falqi, Osamah A. Bin-Dahman, M. Hussain , and Mamdouh A. Al-Harthi. (2018). Preparation of Miscible PVA/PEG Blends and Effect of Graphene Concentration on Thermal, Crystallization, Morphological, and Mechanical Properties of PVA/PEG (10wt%) Blend. **International Journal of Polymer Science** Volume 2018, Article ID 8527693//doi.org/10.1155/2018/8527693.

Ma, Q.; Liang, T.; Cao, L.; Wang, L. Intelligent poly (vinyl alcohol)-chitosan nanoparticles-mulberry extracts films capable of monitoring pH variations. **Int. J. Biol. Macromol.** (2018),108, 576–584.

Chaudhuri, B. Mondal, S.K. Ray, S.C. Sarkar. A novel biocompatible conducting polyvinyl alcohol(PVA)-polyvinylpyrrolidone (PVP)-hydroxyapatite (HAP) composites scaffolds for probable biological application. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 143 (2016), 71–80.

Omer Kaygili, Serhat Keser, R.H. Al Orainy, Tankut Ates, Fahrettin Yakuphanoglu Omer Kaygili, Serhat Keser, R.H. Al Orainy, Tankut Ates, Fahrettin Yakuphanoglu. In vitro characterization of polyvinyl alcohol assisted hydroxyapatite derived by sol–gel method. **Materials Science and Engineering C** 35 (2014) 239–244.

R.C. Sousa, F.R.C. Almeida, V.G.F. Viana, L.F.M. Carvalho, Poly ( Hydroxybutyrate ) and Norbixin. **As Biomaterials in Biological Applications**,(2018), 218–225.

S. Ali Poursamara, Mahmoud Azami, Masoud Mozafari. Controllable synthesis and characterization of porous polyvinyl alcohol/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds via an in situ colloidal technique. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 84 (2011) 310–316.

Mohammad Shakira, Reshma Jollya, Mohd Shoeb Khana, Noor-e Irama, Tarun Kumar Sharmab and Saud Ibrahim Al-Resayesc. Synthesis and characterization of a nano hydroxyapatite/chitosan/polyethylene glycol nanocomposite for bone tissue engineering. **Polym. Adv. Technol.** (2014). (wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/pat.3417.

M. Koosha, S. Hamedi, Progress in Organic Coatings Intelligent Chitosan / PVA nanocomposite films containing black carrot anthocyanin and bentonite nanoclays with improved mechanical , thermal and antibacterial properties, **Prog. Org. Coatings**. 127 (2019) 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.11.028>.

Sergio Pineda-Castillo, Andrés Bernal-Ballén,, Cristian Bernal-López, Hugo Segura-Puello ,Diana Nieto-Mosquera , Andrea Villamil-Ballesteros , Diana Muñoz-Forero and Lukas Munster. Synthesis and Characterization of Poly(Vinyl Alcohol)-Chitosan-Hydroxyapatite Scaffolds: A Promising Alternative for Bone Tissue Regeneration. **Molecules**(2018), 23, 2414; doi:10.3390/molecules23102414.



Bernal-Ballén, A.; Kuritka, I.; Saha, P. Preparation and characterization of a bioartificial polymeric material: Bilayer of cellulose acetate-PVA. *Int. J. Polym. Sci.*(2016), 3172545.

Miya, M.; Iwamoto, R.; Mima, S. FT-IR study of intermolecular interactions in polymer blends. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* (1984), 22, 1149–1151.

Zhou, Y.S.; Yang, D.Z.; Nie, J. Effect of PVA content on morphology, swelling and mechanical property of crosslinked chitosan/PVA nanofibre. *Plast. Rubber Compos.* (2007), 36, 254–258.

Ting-Ting Li, Lei Ling, Mei-Chen Lin, Qian Jiang, Qi Lin, Jia-Horng Lin, Ching-Wen Lou. Properties and Mechanism of Hydroxyapatite Coating Prepared by Electrodeposition on a Braid for Biodegradable Bone Scaffolds. *Nanomaterials* (2019), 9, 679; doi:10.3390/nano9050679.

Mizuno, K., Kido, H., Narita, T., et al., “Control of degradation rate of porous biodegradable polymers., In: Proceedings of the 8th polymer for advanced technologies international symposium, pp. 13-16, Budapest, Hungary, 2005.

### **CAPÍTULO III**

**AVALIAÇÃO DE HEMOCOMPATIBILIDADE DE FILMES FINOS DE POLI  
(ÁLCOOL VINILICO) (PVA) / POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) / NORBIXINA  
(NBx) / HIDROXIAPATITA PARA FINS TECIDUAIS ÓSSEOS**

**AVALIAÇÃO DE HEMOCOMPATIBILIDADE DE FILMES FINOS DE POLI  
(ÁLCOOL VINILICO) (PVA) / POLI (ETILENO) GLICOL (PEG) / NORBIXINA  
(NBx) / HIDROXIAPATITA PARA FINS TECIDUAIS ÓSSEOS**

*Raimundo Miguel da Silva Júnior<sup>1</sup>, Durcilene Alves da Silva<sup>2</sup>, Vicente GálberFreitas  
Viana<sup>3</sup>*

*<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós- Graduação em Ciência dos  
Materiais Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Teresina – PI*

*<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Química/CCN e Programa  
de Pós- Graduação em Ciência dos Materiais, Campus Universitário Ministro Petrônio  
Portella, Teresina- PI*

*<sup>3</sup>Instituto Federal do Piauí – Curso de Graduação em Química/CCN e Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia dos Materiais, Campus Teresina Central, Teresina- PI*

## RESUMO

Poli (álcool vinílico) (PVA) e poli (etilenoglicol) (PEG) são polímeros biocompatíveis e biodegradáveis amplamente estudados em aplicações médicas devido às suas propriedades. Além disso, eles podem ser utilizados como matrizes na formação de andaimes contendo substâncias naturais biocompatíveis, biodegradáveis, bioativas e biomiméticas. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a hemocompatibilidade de filmes finos de PVA / PEG / Norbixina (NBx) / Hidroxiapatita (HA). Também foi feito um estudo sobre a capacidade antimicrobiana desses filmes, visando sua possível utilização como andaime. A avaliação de hemocompatibilidade foi favorável para todos os filmes. Os ensaios antimicrobianos in situ mostraram que os scaffolds apresentaram atividade inibitória contra as bactérias E. Coli, Staphylococcus Aureus e contra o fungo Candida Albicans. Com base nesses resultados, pode-se concluir que a metodologia de obtenção dos filmes foi eficaz e biocompatível. Os resultados de hemocompatibilidade foram satisfatórios, indicando a possibilidade de aplicação dos filmes como dobramento em scaffolds em diferentes tipos de implantes.

Palavras-chave: Filmes finos; norbixina; hemocompatibilidade; andaime antimicrobiano.

## ABSTRACT

Poly (vinyl alcohol) (PVA) and poly (ethylene glycol) (PEG) are biocompatible and biodegradable polymers widely studied in medical applications due to their properties. In addition, they are polymers that can be used as matrices in the formation of scaffolding containing natural biocompatible, biodegradable, bioactive and biomimetic substances. The main objective of this work was to evaluate the hemocompatibility of thin films of PVA/PEG/Norbixin (NBx)/Hydroxyapatite (HA). A study was also made on the antimicrobial capacity of these films, aiming at their possible use as scaffolding. The hemocompatibility assessment was favorable for all films. The in situ antimicrobial assays showed that the scaffolds had inhibitory activity against to the bacteria *E. Coli* and *Staphylococcus Aureus* and to the fungus *Candida Albicans*. Based on these results, it can be concluded that the methodology for obtaining the films was effective and biocompatible. The hemocompatibility results were satisfactory, thus indicating the possibility of applying the films as scaffolds folding in different types of implants.

**Key words:** Thin films; norbixin; hemocompatibility; antimicrobial scaffold.

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, observou-se o crescimento exponencial da engenharia de tecidos, (Hamad, et al. 2008) que é um campo relativamente novo e multidisciplinar com áreas como engenharia de materiais, ciências dos materiais, engenharia mecânica, medicina clínica e genética. Uma das 36 principais aplicações da biotecnologia é o desenvolvimento de novos biomateriais.

Os pesquisadores se esforçaram para desenvolver e estudar a compatibilidade de diferentes tipos de materiais, como misturas, filmes, membranas poliméricas ou copolímeros naturais ou sintéticos para aumentar a adesão, proliferação e diferenciação celular (Huan, et al. 2018; Hu, et al. 2016; Huang, et al. 2018). Tais estudos levam ao surgimento de novos tecidos (moles ou duros) auxiliando na regeneração de tecidos danificados ou doentes que podem ser usados por tempo indeterminado, como um todo ou parte de um sistema (Abukama, et al. 2006; Ahmad, et al. 2006; Ikada, 2006; Inês, et al. 2018).

Um dos maiores desafios da engenharia de tecidos é melhorar as terapias e/ou desenvolver métodos de engenharia e ciências da saúde que restaurem, melhorem, dificultem ou previnam a piora da função do tecido comprometido para obter o material constituinte com comportamentos biológicos e fisiológicos específicos. Entre as causas de danos ou perda de função para órgãos ou tecidos, destaca-se o desgaste natural atribuído ao avanço da idade, acidentes ou patologias (Kamoun, et al. 2015; Kang, et al. 2016).

No que diz respeito à engenharia de tecidos, novos métodos terapêuticos têm sido desenvolvidos e testados em comparação com os métodos convencionais (autoenxertos, aloenxertos e xenoenxertos). A tecnologia de scaffolds se destaca, pois possibilita aumentar a eficácia terapêutica e diminuir os efeitos adversos. Além disso, o sinal de sistemas adequados

e específicos permite que a bioatividade molecular seja mantida no local desejado (Kim, et al. 2006; Kohno, et al. 2014; Kouchack, et al. 2014; Langer & Vacanti, 2003; Legeros, 2002).

Os métodos convencionais citados acima costumam apresentar limitações e muitas das vezes fornecem resultados abaixo do esperado, o que se tornou um desafio para os pesquisadores da bioengenharia. Portanto, tem sido cada vez mais necessário o uso de biomateriais que possam melhorar as propriedades físico-químicas e mecânicas dos materiais existentes. O biomaterial pode ser entendido como qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou sintéticas, que possam interagir biologicamente e ser utilizadas nas ciências da saúde, com o objetivo de tratar, expandir e / ou substituir quaisquer partes do corpo humano. Além disso, os possíveis biomateriais devem ter características peculiares, como biodegradabilidade, biorreabsorção e bioatividade (Legeros, 2002; Liu, et al. 2009; Meskinfarma, et al. 2018; Majid, et al. 2018).

Os biomateriais podem ser desenvolvidos com diferentes classes de materiais, tais como polímeros, cerâmicos, metálicos e compósitos, considerando a especificidade da aplicação a que será destinado. Dentre esses materiais, os polímeros têm sido intensamente utilizados devido a sua capacidade de evitar o estresse pós-implante, sendo adaptável ao formato e tamanho desejados, devido à sua estabilidade durante o uso, por serem fáceis e complexas no processamento, biodegradáveis, devido à possibilidade de ajustar suas propriedades mecânicas, e seu baixo custo (Yetha, et al. 2012; Meeichyn, et al. 2017; Moghimi, 2008).

O poli (álcool vinílico) (PVA) é um polímero solúvel em água, sendo amplamente utilizado na indústria devido às suas excelentes propriedades químicas e físicas, boa resistência química. Também é caracterizado como hidrofílico, inócuo, biocompatível, biodegradável, não cancerígeno e não tóxico, com baixa adesão celular e biorreabsorvível.

Este polímero pode ser utilizado em modelos de membranas biológicas, e como uma excelente estrutura de rede cristalina para incorporação de outros materiais (Moreno, et al. 2018; Roopali, et al. 2013; Sachico, et al.2017; Sasaki, et al. 2016),

Compósitos formados de materiais poliméricos, comumente, exercem efeitos negativos em termos de biodegradabilidade e bioatividade devido à sua alta viscosidade e uma redução significativa da porosidade em contato com o implante que restringe suas aplicações sem a adição de outros componentes. Para suprir essas desvantagens, há um número crescente de combinações de polímeros (naturais ou sintéticos) com fosfatos e ativos naturais, a fim de minimizar características desfavoráveis desses materiais poliméricos na busca por melhores propriedades (Oliveira, et al. 2009; Pengwu, et al. 2017).

Portanto, o desenvolvimento de novos materiais e alternativas que possam ser eficientes e com estratégia fácil são direcionados para o desenho de scaffolds que possam ser assimilados pelo tecido para uma regeneração adequada, sendo bioativos, biodegradáveis, biocompatíveis e biomiméticos. Dentre as possibilidades, os fosfatos de cálcio, como a hidroxiapatita (HA), apresentam propriedades interessantes que podem ser utilizadas para minimizar e até mesmo evitar patologias como osteomielite e doenças bucais (Pires, et al. 2015; Pierpaoli, et al. 2017; Poinern, et al. 2012; Rui- Xue Sun, et al.2017; Sachico, et al. 2017).

No entanto, a fragilidade intrínseca e a osteoatividade descontrolada dos fosfatos, em geral, limitam inteiramente suas aplicações, especialmente como implantes de suporte de carga. Além da hidroxiapatita, mais dois materiais foram adicionados como suporte e biologicamente ativos para o projeto de scaffolds: poli (etilenoglicol) (PEG) e norbixina (NBx). Esses materiais têm mostrado bons resultados na melhoria da proliferação e diferenciação da célula (Rao, et al. 2019; Rodney, et al. 2016; Ssaki, et al. 2016). Além de



serem biocompatíveis, bioinertes, biodegradáveis com estruturas tridimensionais (2D) ou (3D), que mimetizam a matriz extracelular natural (MEC) (Rao, et al. 2019).

O PEG possui propriedades físico-químicas interessantes para o projeto de scaffolds, bem como boa resistência mecânica e fácil processabilidade com outras (Daoyong, et al. 2018; Hamad, et al. 2008). A norbixina um carotenóide extraído do urucum (*Bixa orellana* L.), uma planta nativa da América Tropical, é biodegradável, biocompatível e bioabsorvível (Costa & Chaves, 2005).

Recentemente, estudos têm mostrado que as membranas poliméricas contendo norbixina, melhoram a biocompatibilidade dos scaffolds no reparo tecidual. Essas membranas diminuem os processos de necrose tecidual. Eles favorecem o tecido reparar com processos inflamatórios reduzidos. Estudos relataram a ausência de efeitos tóxicos, teratogênicos ou mutagênicos desses materiais (Cunha, et al. 2011; Daoyong, et al. 2018; Guastaldi, et al. 2010).

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a hemocompatibilidade de filmes finos de PVA / PEG / NBx / HA. Além disso, foi realizada uma avaliação de sua capacidade antimicrobiana com vistas a uma possível utilização de filmes como andaimes. Os resultados de hemocompatibilidade de filmes de PVA / PEG contendo norbixina e hidroxiapatita não têm precedentes.

## **2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1 Materiais**

#### **2.1.1 Matriz Polimérica**

Foi utilizado, nessa pesquisa, o PVA - (álcool polivinílico)  $(C_2H_4O)_n$  como matriz polimérica, adquirido pela Dinâmica Produtos Químicos Ltda.

#### **2.1.2 Plastificante**

O poli (etileno) glicol (PEG) foi adquirido pela Dinâmica Produtos Químicos Ltda, com massa molar numérica média entre 1350 e 1650 g/mol, com ponto de fusão -65°C e densidade 1,127 g/cm<sup>3</sup>.

### 2.1.3 Norbixina

A norbixina (NBx) utilizada neste estudo foi extraída a partir das sementes do urucum (*Bixa orellana* L.) coletadas na cidade de Presidente Dutra no estado do Maranhão. A estrutura da norbixina é ilustrada na Figura 2.1.

### 2.1.4 Reagentes

**Tabela 2.1:** Reagentes usados no procedimento metodológico.

Reagente	Especificações	Fornecedor
Hexano P.A. C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	PM: 86,19; Teor: 99%	Dinâmica®
Clorofórmio P.A. CHCl <sub>3</sub>	PM: 119,38; Teor: 99,80%	Dinâmica®
Hidróxido de Potássio P.A. KOH	PM: 56,11; Teor: 85%	Dinâmica®
Hidróxido de Sódio P.A. NaOH	PM: 40,00; C mín.: 98%	Dinâmica®
Ácido Clorídrico P.A. HCl	PM: 36,46; Densidade: 1,181g/cm <sup>3</sup>	Dinâmica®
Dimetilsulfóxido P.A. (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO	PM: 78,13; Densidade: 1,1g/cm <sup>3</sup>	Dinâmica®

**Fonte:** Autoria própria.

### 2.1.5 Reagente complementar

Controle positivo Triton X- 100 BP151 - 500 fornecido pela Fisher Bioreagents. Solução tampão de (PBS) 0,1 molar com pH = 7,4, feito em laboratório.

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Síntese da Norbixina (NBx)

A extração da bixina foi realizada conforme Barbosa-Filho (1998). Inicialmente 200 g de sementes de urucum foram previamente selecionadas, limpas e secas, foram mantidas em refluxo num soxhlet com hexano por um período de oito horas. Após esse período as

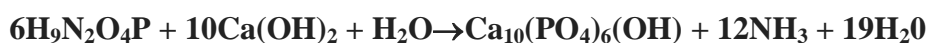
sementes foram separadas do extrato obtido. Em seguida, foi adicionado clorofórmio ao soxhlet, e o sistema foi deixado sobre refluxo por mais 08 horas. O extrato obtido no processo foi rotavaporizado, o sólido obtido neste processo é constituído principalmente de bixina, com aproximadamente 98% de pureza (Barbosa-Filho, 1998). Foi lavado com água destilada e posteriormente seco em estufa de circulação de ar e armazenado em frasco âmbar protegido da luz.

A bixina obtida no processo de extração foi saponificada numa solução de hidróxido de potássio 4% sobre aquecimento e agitação constantes a 70 °C por 1 hora. Ao sal de norbixina obtido na saponificação foi adicionado ácido clorídrico concentrado gota-a-gota após a solução atingir a temperatura ambiente. Em seguida a norbixina (precipitado avermelhado) foi filtrada, lavada com água destilada até pH = 5 e seca em estufa a 60 °C, por 24 horas. O sólido foi armazenado em frasco âmbar.

### 2.2.2 Síntese da Hidroxiapatita (HA)

O pó de HA foi obtido por precipitação química utilizando hidróxido de cálcio  $\text{Ca(OH)}_2$  e fosfato de amônio (dibásico)  $(\text{NH}_4)_2(\text{HPO}_4)$ , a reação ocorre conforme descrito pela equação 2.1 (Afshar et al 2003). Inicialmente, os reagentes foram dissolvidos em água deionizada e misturados. A mistura permaneceu sob agitação constante em temperatura ambiente. Em seguida, o precipitado foi lavado com água destilada. A suspensão foi seca em estufa a 100 °C por 24h. O pó obtido foi analisado em DRX em aparelho XRD-6000 Shimadzu, utilizando-se radiação  $\text{K}\alpha$  do cobre, tensão de 40kV, corrente de 30mA, varredura entre 10 a 90°C e velocidade de varredura de 2°/min para comparação dos picos obtidos com os característicos da hidroxiapatita (HA) de acordo com a literatura.

**Equação 2.1:** Formulação da hidroxiapatita (HA). **Fonte:**(Afshar et al 2003).



### 2.2.3 Processo de preparação dos filmes

Todos os filmes de PVA de poli (álcool) vinílico foram preparados por *casting* utilizando dispersões de PVA a 0,5g em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 25 mL. Para o preparo da blenda de PVA/PEG obtido pelo mesmo método, foi adicionando a solução padrão acima descrita 0,05g de PEG. Para a produção dos filmes de PVA/Norbixina, (PVA/NBx),

PVA/PEG/Norbixina, (PVA/PEG/NBx) e PVA/PEG/Norbixina/Hidroxiapatita (PVA/PEG/NBx/HA). Foram adicionadas à solução padrão as concentrações abaixo descritas de acordo com a Tabela 2.2. Todas as misturas permaneceram em agitação e aquecimento constante a 80°C. Cada componente foi adicionado em intervalos de 30 minutos entre cada adição. A solução final de cada formulação foi filtrada para retirada de impurezas, vertida em placa de petri e mantida em capela de exaustão de gases a 70°C por 24 horas para evaporação do solvente. Após esse período os filmes foram levados à estufa a vácuo a 30°C por 24 h e posteriormente armazenados em dessecadores. Após esse período os filmes foram acondicionados em papel cirúrgico até serem levados à análise.

**Tabela 2.2:** Concentrações de PVA, PEG, NBx e HA para formação dos scaffolds. **Fonte:** Dados da pesquisa.

PVA	PEG	NORBIXINA	HIDROXIAPATITA
0.45g	–	0.05g	–
0.3g	0.1g	0.1g	–
0.2g	0.1g	0.1g	0.1g

## 2.3 Caracterizações

### 2.3.1 Avaliação da atividade antimicrobiana por meio da técnica de contato direto

Os filmes foram submetidos à avaliação da atividade antimicrobiana por meio da técnica de antibiograma em disco por contato direto frente a cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (CCBH3856), *Escherichia coli* (CCBH3860) e *Candida albicans* (ATCC10231). Os filmes foram previamente cortados em forma de disco. Em seguida, foi realizada a padronização do inóculo segundo a metodologia proposta pelo NCCLS (2003) de acordo com a escala MacFarland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). As amostras foram colocadas em contato com o meio sólido (Mueller Hinton Ágar) previamente inoculado. Foi usado o controle positivo Triton para as amostras. Por fim, as placas foram incubadas em estufa a  $35 \pm 2$  °C por 24 horas. Decorrido o tempo de incubação, os discos foram retirados delicadamente do meio para verificar a presença ou ausência de crescimento bacteriano.

### 2.3.2 Avaliação da Hemocompatibilidade

Os filmes foram submetidos ao teste de atividade hemolítica em ágar sangue de carneiro (Laborclin®) utilizando a técnica de antibiograma em discos (Kalegari, et al. 2011)

adaptada para avaliação da hemocompatibilidade. Os filmes previamente cortados foram submetidos à exposição de luz UV por meia hora no intuito de reduzir a carga bacteriana. Em ato contínuo, os discos obtidos foram aplicados sobre os meios. Os controles negativo e positivo foram, respectivamente, preparados por meio da impregnação dos discos com 50 µL do solvente Triton. Após a aplicação, os meios foram incubados a 35±2 °C durante 24 horas. Decorrido este período, as placas foram inspecionadas quanto à presença de halos de hemólise (medidos em mm).

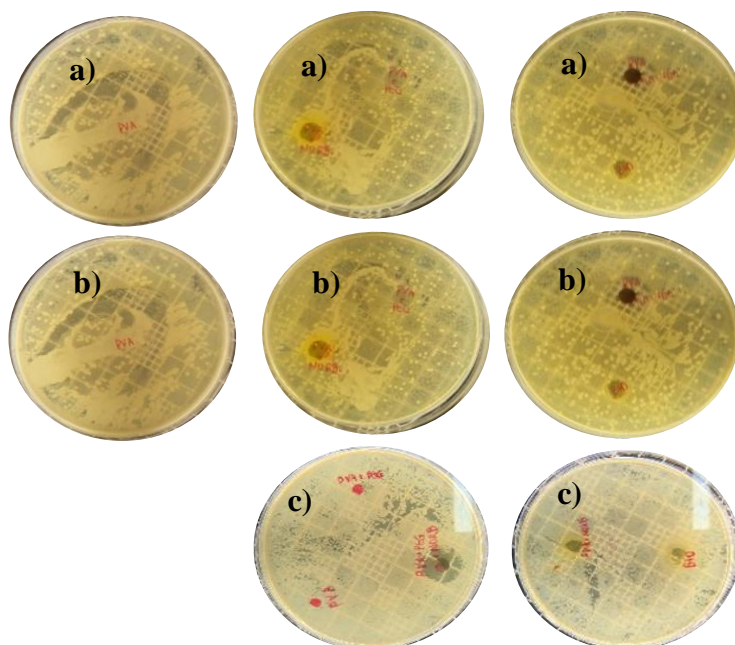
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

Os testes da análise microbiológica por disco de difusão para bactérias gram positivas, gram negativas, bem como para fungos foram realizados para uma triagem inicial. Teste com bactérias específica dos ossos devem ser realizados futuramente.

Os resultados da análise microbiológica por disco de fusão dos scaffolds revelaram qualitativamente a capacidade de liberação de NBx e HA presentes nas membranas em meio hidrofílico. Foi possível observar a formação de halo inibitório ao redor das amostras, comprovando a difusão dos componentes no meio de cultura, conforme mostram as imagens da Figura 3.1 (a, b e c).

**Figura 3.1:** Teste microbiológico da norbixina e hidroxiapatita para os scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA por disco de difusão dos sistemas controle. a) Análise por disco de difusão em placa semeada com cepa *Staphylococcus aureus* (CCBH3816) b) Análise por disco de difusão em placa semeada com cepa *Escherichia coli* (CCBH3860) c) Análise por disco de difusão das membranas controle em placa semeada com a cepa *Candida albicans* (ATCC10231).



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Para o PVA puro e blenda de PVA/PEG foi possível observar uma solubilidade de 100% para ambas as amostras quando em contato com o meio, por conta da afinidade dos grupos presentes na estrutura e de interações inter/intramoleculares os materiais e o meio utilizado (Englhardt & Hoffman, 2000).

Para o scaffold formado de PVA/NBx, foi possível observar que houve um enturmecimento do material com inibição bacteriana local (superfície de contato e o meio). Isso se deve, ao caráter mais hidrofílico dessa composição em relação as demais, que pode ter reduzido o perfil de liberação do ativo pelo efeito estabelecido entre as ligações de hidrogênio entre grupos hidroxilas do PVA e do PVA com água a membrana, aumentando a entrada de água para membrana repercutindo em redução por difusão de conteúdo de NBx no meio de cultura microbiológico (Dhanalakshmi, 2011; Haijun, 2007; El-Mohdy & Ghanem, 2009) também corroborado pelos os resultados observados por DRX e TG.

No caso da amostra de PVA/PEG/NBx houve a formação de halo com diâmetro de 10 mm para todas as cepas testadas. Este resultado deve-se ao fato de que a associação da norbixina à blenda PVA/PEG (completamente solúvel no meio), tornou o material com solubilidade intermediária, devido à norbixina ligar-se ao PVA e PEG desestabilizando as interações formadas entre as suas cadeias, corroborando com os resultados de DRX. Essa solubilidade intermediária permite a difusão parcial dos constituintes da presente formulação (Silva, 2005; Barbosa, Basarelli & Mercadante, 2005).

O scaffold de PVA/PEG/NBx/HA apresentou inibição local para os microorganismos testados. A ação local do scaffold, de maneira geral, deve está relacionado à modificação na estrutura cristalina dos materiais causados pela adição de HA, o que justifica-se por uma inconsistência na solubilidade dos componentes corroborando com os resultados de DRX. Entretanto, este resultado deve ser considerado satisfatório, levando em consideração a aplicação final desses biomateriais em questão, assim como a redução do risco de desenvolvimento de resistência bacteriana microbiológica (Dhanalakshmi, 2011; Haijun, 2007; Sergio Pineda, et al. 2018).

### **3.2 Hemocompatibilidade**

O ensaio de hemocompatibilidade tem como objetivo detectar o potencial de um material ou dispositivo para produzir efeitos em sistemas biológicos em nível celular. Este

ensaio deve ser aplicado a todas as categorias de biomateriais. A liberação de subprodutos tóxicos do biomaterial pode danificar as células ou reduzir a taxa de crescimento da cultura celular, em comparação com o controlo positivo (Silva, et al. 2016).

**Figura 3. 2:** Testes de hemocompatibilidade a partir do controlo positivo para o PVA, a blenda de PVA/PEG e os scaffolds de PVA/NBx, PVA/PEG/NBx e PVA/PEG/NBx/HA.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Todas as amostras analisadas apresentaram significativo grau de hemocompatibilidade indicando que as matérias-primas utilizadas para a fabricação dos scaffolds não apresentarão riscos biológicos quando empregadas de maneira correta. Resultados semelhantes foram reportados por Sila et al (2016) estudando a hemocompatibilidade de scaffolds de PVA/CS em contato com fibroblastos.

Yoshino (2003) avaliaram a suposta hemocompatibilidade em ratos por 13 semanas com dieta diária contendo 0,1, 0,3 e 0,9 de percentuais de extrato de norbixina de 91,6% em relação ao peso corpóreo dos animais. Não foram observadas alterações nos padrões hematológicos ou oftalmológico para os ratos na concentração de 0,1 depois de decorrido o período de 13 semanas.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados da análise microbiológica mostraram-se satisfatório para ambos os scaffolds, assim como a redução do risco de desenvolvimento de resistência bacteriana microbiológico. Todas as amostras analisadas apresentaram satisfatório grau de hemocompatibilidade indicando que as matérias-primas utilizadas para a fabricação dos

scaffolds não apresentarão riscos biológicos quando empregadas de maneira correta no tecido hospedeiro.

## 5. REFERÊNCIAS

Abukawa, H. *et al* (2006). The engineering of craniofacial tissues in the laboratory: a review of biomaterials for scaffolds and implant coatings. *Dental Clinics of North America*, 50, 205-216.

Ahmad, J. *et. al.* (2006). Preliminary pharmacological screening of *Bixa orellana L.* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 108, p. 264-271.

Ahmed, R. *et. al.* (2018). Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nano fibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 120, p. 385-393.

Albach, B. da Silva, T. A.; Barbosa, R. V.(2016). Síntese do Eval-g-norbixina: Aplicação como um Pigmento em Polímeros. *Rev. Virtual Quim.* |Vol XX|.ISSN 1984-6835.

Asti, A.; Gioglio, L. (2014). Natural and synthetic biodegradable polymers: Different scaffolds for cell expansion and tissue formation. *Int. J. Artif. Organs*, 37, 187–205.

Afshar, A, Ghorbani, M. Ehsani, N, Saeri, M. R, Sorrell. (2003). Some importante in the West precipitation process of hidroxyapatite. *Mater. Des.* V 24, p 197-202.

Barbosa, M. I. M. J.; Borsarelli, C. D.; Mercadante, A. Z. (2005). Light stability of spraydried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38, 989.

Babuska, V.; Dobra, J.; Kulda, V.; Kripnerova, M.; Moztarzadeh, A.; Bolek, L.; Lahoda, J.; Hrusak, D. (2015). Comparison of fibroblast and osteoblast response to cultivation on titanium implants with different grainsizes. *J. Nanomater*, 1–9.

Bahram Amiri, Marzieh Ghollasi, Mohsen Shahrousvand, Mehdi Kamali, Ali Salimi (2016). Osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells on modified PES-PEG electrospun fibrous composites loaded with Zn<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub> bioceramic nanoparticles, 148–158. 92.

Batyrbekov, E. O.; Iskakov, R. & Zhubanov, B. A. (1998). *Makromol. Symp.*, 127, p.25.

Bautista, A. R. P. L.; Moreira, E. L. T.; Batista, M. S.; Miranda, M. S.; Gomes, I. C. S. (2004). Subacute toxicity assessment of annatto in rat. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 625–629.

Berthiaume, F.; Maguire, T.J.; Yarmush, M.L. (2011). Tissue Engineering and Regenerative Medicine: History, Progress, and Challenges. *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* 2, 403–430.

Best, S. M.; Porter, A. E.; Huang, J.; J. (2008). *Eur. Ceram. Soc.*, 28, 1319.



Bhatthacharya, S. N.; Gupta, R. K.; Kamal, M. R. (2008). *Polymeric Nanocomposites. Theory and Practice*. Hanser, Munich.

Bosbach, W. A. (2015). The Elastic Behavior of Sintered Metallic Fibre Networks: A Finite Element Study by Beam Theory. *Plas One* 10.E 014311.

Bulchoz, R. W.; Carlton, A.; Holmes, R. E. (1987). Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone grafts substitute. *The Orthopedics Clinics of North America, Philadelphia*, v.18, p.323-334.

Burg, K. J. L.; Porter, S.; Kellam, J. K. (2000) Biomaterial developments for bone tissue engineering. **Biomaterials**, Surrey, v.21, n.23, p.2347- 2359.

Carlo, E. C.; Borges, A. P.; Del Carlo, R. J.; Martinez, M. M.; Oliveira, P. M.; Morato, G. O.; Eleoterio, R. B.; Reis Junior, M. S. (2009). Comparison of in vivo properties of hydroxyapatite polyhydroxybutyrate composites assessed for bone substitution. *The Journal of Craniofacial Surgery*, Boston, v. 20, n.3, p.853-859.

Cha, P. R. .; Han, H. S.; Yang, G. F.; Kim, Y. C.; Hong, K. H. .; Lee, S. C. .; Jung, J. Y. .; Ahn, J. P. .; Kim, Y. Y.; Cho, S. Y.; Byun, J. Y.; Lee, K. S.; Yang, S. J.; Seok, H. K.; (2013). **Mater Sci. Eng. Rep**, 3, 2367.

Chan, W. D.; Perinpanayagam, H.; Goldberg, H. A.; Hunter, G. K.; Dixon, S. J.; Santos, G. C. ; Rizkalla, A. S. (2009). Tissue 25 engineering scaffolds for the regeneration of craniofacial bone. *Journal(Canadian Dental Association)*, Ottawa, v.75, n.5, p.373-377.

Chao Wanga,b, Wenfeng Luoa, Puwang Li b, Sidong Li c, Ziming Yang b, Zhang Huc, Yangyang Liub, Ningjian Aoa. (2017). Preparation and evaluation of chitosan/alginate porous microspheres/Bletilla striata polysaccharide composite hemostatic sponges. *Carbohydrate Polymers* 174.432–442.

Chen, K. Y.; Shyu, P. C.; Dong, G. C.; Chen, Y. S.; Kuo, W. W.; Yao, C. H. (2009). Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins cross-linked gelatin composite. **Biomaterials**, Surrey, v.30, n.9, p.1682-1688.

Chen, Q, Leong, S, e Thomas, G. (2013). Elastomeric Biomaterials For Tissue Engineering. *Progress in Polymer Science*, 31, pp. 584-671.

Chung, H. e Park.T. (2007). Surface Engineering and drug releasing pre-fabricated Scaffolds for Tissue Engineering. *Advanced Drug Delivery Review*, 59, pp. 249-262.

Costa, C.L.S.; Chaves, M.H. (2005). Extração de pigmentos das sementes de *Bixa orellana* L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Química Nova**. v. 28, p. 149-152.

Engelhardt G and Hoffmann HD, (2000). Salmonella Typhimurium / Escherichia Coli Reverse Mutation Assay (Standard Plate Test and Preincubation Test with) Polyethylene

Glycol-g-Polyvinyl Alcohol-Copolymer (Graftpolymer). Project no 40M0401/994139. Unpublished study report submitted by basf se.

Ezequiel S.Costa-Júnior, Edel F.Barbosa-Stancioli, Alexandra A.P.Mansur, Wander L.Vasconcelos, Herman S.Mansur. (2009). Preparation and characterization of chitosan/poly(vinyl alcohol) chemically crosslinked blends for biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**; **76**: 472-481.

Hamad I, Hunter AC, Szebeni J, Moghimi SM. (2008). Poly(ethylene glycol)s generate complement activation products in human serum through increased alternative pathway turnover and a MASP-2-dependent process. **Mol Immunol**; 46: 225-232.

Holzappel, B. M. Reichert, J. C. Schantz, J. T. Gburek, U. Rackwith, L. Noth, U. Jakob, Rudert, M, GROLL. J, Hutmacher, D. W. (2013). Adv. **Drug Delivery**. Rev. 65, 581.

Hu, J.; Zhu, Y.; Tong, H.; Shen, X.; Chen, L.; Ran, J.A (2016). detailed study of homogeneous agarose/hydroxyapatite nanocomposites for load-bearing bone tissue. Int. J. Biol. **Macromol.** 82, 134–143.

Huan Yi ,Fawad Ur Rehman , Chunqiu Zhao , Bin Liu , e Nongyue He. (2016). Recent advances in nano scaffolding for bone repair 10.1038 / boneres.50.

Huang, C. et. al. (2018). Controlled molecular self-assembly of complex three-dimensional structures in soft materials. Proceedings of the National Academy of Sciences. v. 115, n. 1, p. 70-74.

Inês, J. et. al. (2018). Hematology and biochemistry of *Colossoma macropomum* co-infected with *Aeromonas hydrophila* and monogenean *Anacanthorus spathulatus* after treatment with seed extract of *Bixa orellana L.* **Aquaculture journal**. v. 495, n. June, p. 452-457.

Ikada, Y. (2006). Challenges in Tissue Engineering. **The Royal Society Interface**, 3, pp. 589-599.

Kamoun, E. A. et. al. (2015). Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. **Arabian Journal of Chemistry**. v. 8, p. 1-14.

Kang Hw, Lee SJ, Ko IK et al. (2016). A 3D bioprinciple system to produce human scale tissue constructs with structural integrity. **Nat Biotechnol**; 34: 312-319.

Kim, S. S.; Sun Park, M.; Jeon, O.; Yong, C. C.; Kim, B. S. (2006). Poly (lactide-co-glycoside)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, Surrey, v.27, n.8, p.1399-1409.

Kohno, Y.; Asai, S.; Shibata, M.; Fukuhara, C.; Maeda, Y.; Tomita, Y.; Kobayashi, K. 65 (2014). Improved photostability of hydrophobic natural dye incorporated in organo-modified hydroxalcite. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 75, 945-950.

Kouchak, Maryam et al. (2014). Chitosan and polyvinyl alcohol composite films containing nitrofurazone: Preparation and evaluation. Iranian **Journal of Basic Medical Sciences**, [s. l.],

v. 17, n. 1, p. 14–20.

Langer, R.; Vacanti, J.P. (1993). Tissue engineering. **Science**, 260, 920–926

Lee, S.Y. (1996). Bacterial- Polyhydroxyalkanoates. **Biotechnol. Bioeng.**, New York, v.49, p.1-14.

Legeros, R. Z. (2002). Properties of osteoconductive biomaterials: Calcium phosphates. *Clinical Orthopedics and Related Research*, Philadelphia, v.395, p.81-98.

Lepoittevin B, Devalckenaere M, Alexandre M, Pantoustier N, Calberg C, Jerome R, Dubois PH; (2002). Poli (caprolactona)/clay nanocomposites by in-situ intercalative polymerization catalyzed by dibutyltin dimethoxide; **Macromol.**, v. 35, 8385-8390.

Liu, C.; Han, Z.; Czernuska, J. T.; (2009). Gradient collagen/nanohydroxyapatite composite scaffold: Development and characterization. **Acta Biomaterialia**, Killington, v.5, n.2, p.661-669.

Liu, J. H.; Chung, Y. C. & Li, M. T. (1995). *J. Appl. Polym. Sci.*, 55, p.1441.

Liu, J.; Ruan, J.; Chang, L.; Yang, H.; Ruan, W. (2017). Porous Nb-Ti-Ta alloy scaffolds for bone tissue engineering: Fabrication, mechanical properties and in vitro/vivo biocompatibility. **Mater. Sci. Eng. C**, 78, 503–512.

Liu, X. e Ma, P. (2004). Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Annals of Biomedical Engineering**, 32, 477-486.

Luis, Charlyton; Costa, S. (2005). Extração de pigmentos das sementes de Bixa Orellana L.: uma alternativa para disciplinas experimentais de química orgânica. **Quim. Nova**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 149–152.

M. Meskinfama,b, S. Bertoldia,c, N. Albanesea, A. Cerria, M.C. Tanzic, R. Imanid, N. Baheiraie, M. Farokhif, S. Farè. (2018). Polyurethane foam/Nano hydroxyapatite composite as a suitable scaffold for bone tissue regeneration **Materials Science & Engineering C** 82 130–140.

Majid Reza Ayatollahi, SeyedAlirezaMirmohammadi, HadiAsgharzadehShirazi. (2018). The tension-shear fracture behavior of Polymeric bone cement modified with hydroxyapatite nano-particles *archives of civil and mechanical engineering* 18 50 – 59.

Md. YeathadHossai, Md. Ashraful Islam Molla, Md. ShahidulIslam, Ashequl Alam Rana, Md. Abdul Gafur and Mohammad MainulKarim, (2012). Fabrication and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Hydroxyapatite Biomimetic Scaffold by Freeze Thawing in Situ Synthesized Hybrid Suspension for Bone Tissue Engineering. **International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering**.ISSN 2250-2459, ISO 9001:2008 Certified Journal, Volume 2, Issue.

Meeichyn Goh, Younghee Kim, KihakGwon, Kiyoon Min, Young Min Hwang, Giyoong Tae (2017). In situ formation of injectable and porous heparin-based hydrogel Carbohydrate **Polymers** 174.990–998.

Moghim, S.M.; Hunter, A.C. (2001). Capture of stealth nanoparticles by body's defenses. *Critical Reviews in Therapeutic Carrier Systems*. v. 18, p. 527-550.

Monte, Samylla Miranda et al. (2016). Genotoxicity Evaluation of Polystyrene Membrane with Collagen and Norbixin by Micronucleus Test and Comet. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 7-11.

Moreno Madrid, A. P. et. al. (2019). Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. **Materials Science and Engineering C**. v. 100, n. July, p. 631-644.

Muthukumar, T.; et al. (2014). Preparation, characterization, and *in vitro* bioactivity of Bixa Orellana extract-impregnated collagen microspheres. **J. Mater. Sci.** v. 49, p. 5730-5737.

Navarro, M.; Michiardi, A.; Castano, O.; Planell, J. A. (2008). Biomaterials in orthopaedics. **Journal of the Royal Society Interface**, London, v.5, p. 1137-1158.

O'Brien, F.J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. **Mater. Today**, 14, 88-95.

Okaya, T.; Suzuki, A. & Kikuchi, K. (1999). *Coll. And Surf. A: Physicochem and Eng. Asp.*, 153, p.123.

Oliveira, S. M.; Mijares, D. Q.; Tumer, G.; Amaral, I. F.; Barbosa, M. A.; Teixeira, C. C. (2009). Engineering endochondral bone: in vivo studies. **Tissue Engineering**. Part A, New York, v.15, n.3, p.635- 643.

Pengwu Xu, Qingtao Zeng, Ying C ao, Piming Ma\*, Weifu Dong, Mingqing Chen (2017). Interfacial modification on polyhydroxyalkanoates/starch blends by grafting in-situ. **Carbohydrate Polymers** 174.716-722.

Pezzoti, G.; Yamamoto, K.; J. (2014). *Mech. Behave. Biomed.Mater*, 31, 3.

Pimentel, R. F.; Oliveira, R. S. M.F.; Chaves, M. G. A. M.; Elias, C. N.; Gravina, M. A.; (2013). **Dental Press Journal of Orthodontics**, 18, 121.

Pires, A. L.R.; Moraes, A. M.; J. (2015). *Appl. Polym. Sci*, 132, 41686.

Pierpaoli, E. et. al. (2017). Phytomedicine supplementation with tocotrienols from *Bixa orellana* improves the in vivo efficacy of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a mouse model of infected wound. **Phytomedicine journal**. v. 36, n. May, p. 50-53.

Pinheiro, L. et. al. (2018). Norbixin extracted from urucum (*Bixa orellana L.*) for the formation of conductive composites with potential applications in electrochemical sensors. **Surfaces and Interfaces**. v. 13, n. April, p. 92-100.

Poinern, G. E. J.; Brundavanam, S.; Fawcett, D.; (2012). *Am. J. Biomed.Eng*, 2, 218.

Rao, F. et. al. (2019). Expanded 3D nanofibre sponge scaffolds by gas-foaming technique enhance peripheral nerve regeneration. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. v.

47, n. 1, p. 491-500.

Reddy, C. S. K.; Ghai, R.; Rashimi; Kalia, V. C.; (2003). Polyhydroxyalkanoates: an overview. **Bioresource Technology**. V. 87, p. 137-146.

Rey, C, Combes, C, Drouet, C, *et al.*, (2007). “Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: implications for biominerals and biomaterials”, **Materials Science and Engineering: C**, v. 27, n. 2, pp. 198-205.

Rhim, J. W.; Hong, S. I.; Ha, C. S. (2009). Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. **LWT - Food Science and Technology**. V. 42, n. 2.

Rodney, D., Gadot, B., Martinez, O. R., du Roscoat, S. R. e Orgéas, L. (2016). Reversible dilatancy in entangled single wire materials. **Nature Materials** 15, 72-77.

Roopali Agarwal, M. Sarwar Alam, Bhuvanesh Gupta. (2013). Polyvinyl Alcohol-Polyethylene Oxide-Carboxymethyl Cellulose Membranes for Drug Delivery. *J. Appl. Polym. Sci.*, DOI: 10.1002/APP.39144.

Sachiko Nittaa, Ayaka Komatsua, Taisei Ishiia, Masatoshi Ohnishic, Atsuko Inouec, Hiroyuki Iwamoto. (2017). Fabrication and characterization of water-dispersed chitosan nanofiber/poly (ethylene glycol) diacrylate/calcium phosphate-based porous composites. **Carbohydrate Polymers** 174 1034–1040.

Santos, J. A. A.; et al. (2014). Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Rev. Bras. Pl. Med.* v. 16, p. 637-643.

Sasaki, S.; Murakami, T.; Suzuki, A. (2016). Frictional properties of physically cross-linked PVA hydrogels as artificial cartilage. **Biosurface and Biotribology**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 11–17.

Saunders, K. J. (1973). "Organic Polymer Chemistry", **Chapman and Hall, London**.

Scotter, M. (2009). The chemistry and analysis of annatto food colouring: a review. *Food Additives and Contaminants*, 26 (8), 1123–1145.

Scotter, M. J. (1995). Characterisation of the coloured thermal degradation products of bixin from annatto and a revised mechanism for their formation. *Food chemistry*. v. 53, p. 177-185.

Sergio Pineda-Castillo, Andrés Bernal-Ballén, Cristian Bernal-López, Hugo Segura-Puello, Diana Nieto-Mosquera 2, Andrea Villamil-Ballesteros 2, Diana Muñoz-Forero and Lukas Munster. (2018). Synthesis and Characterization of Poly(Vinyl Alcohol)-Chitosan Hydroxyapatite Scaffolds: A Promising Alternative for Bone Tissue Regeneration. **Molecules**, 23, 2414; doi:10.3390/molecules23102414.

Sousa Júnior, A. C. T.; et al. (2005). Antigenotoxic and antimutagenic potential of an annatto pigment (norbixin) against oxidative stress. **Genetics and molecular research**. v. 4, n. 1, p. 94-99.

Sergio Pineda-Castillo, Andrés Bernal-Ballén, Cristian Bernal-López, Hugo Segura-Puello, Diana Nieto-Mosquera 2, Andrea Villamil-Ballesteros 2, Diana Muñoz-Forero and Lukas Munster. (2018). Synthesis and Characterization of Poly(Vinyl Alcohol)-Chitosan Hydroxyapatite Scaffolds: A Promising Alternative for Bone Tissue Regeneration. **Molecules**, 23, 2414; doi:10.3390/molecules23102414.

Yoshino, H. et al. (2003). Ninety-toxicity study of annatto extract, a natural food color, in rats. In: Proceedings of the 30th annual meeting. **Journal of Toxicological Sciences**, v.28, n.4, p.294.