

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**ESTUDO DE FILAMENTOS DE POLICAPROLACTONA INCORPORADOS
COM ATORVASTATINA PARA APLICAÇÃO COMO SUPRIMENTO PARA
MANUFATURA ADITIVA**

NEILTON PAIXÃO DE JESUS JUNIOR

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ESTUDO DE FILAMENTOS DE POLICAPROLACTONA INCORPORADOS
COM ATORVASTATINA PARA APLICAÇÃO COMO SUPRIMENTO PARA
MANUFATURA ADITIVA**

NEILTON PAIXÃO DE JESUS JUNIOR

Sob a orientação da Professora Dr.^a

Roberta Helena Mendonça

e Coorientação da Dr.^a

Cristiane Evelise Ribeiro da Silva

Dissertação submetida como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em Engenharia
Química, Área de concentração em Tecnologia
Química.

Seropédica/RJ

Julho /2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

J278e Jesus Junior, Neilton Paixão de, 1993-
Estudo de filamentos de policaprolactona incorporados com atorvastatina
para aplicação como suprimento para manufatura aditiva.
/ Neilton Paixão de Jesus Junior. - Seropédica, 2022.
106 f.: il.
Orientadora: Roberta Helena Mendonça.
Coorientadora: Cristiane Evelise Ribeiro da Silva.
Dissertação (Mestrado). - Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Engenharia Química, 2022.

1. Atorvastatina. 2. Policaprolactona. 3. *Hot-Melting Extrusion*. 4.
Liberação controlada. I. Mendonça, Roberta Helena, 1980-, orient. II., Silva,
Cristiane Evelise Ribeiro, 1974-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Engenharia Química. IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

NEILTON PAIXÃO DE JESUS JUNIOR

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química**, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, área de Concentração em Tecnologia Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/07/2022

Roberta Helena Mendonça (Dr.^a) - UFRRJ

Cristiane Evelise Ribeiro da Silva (Dr.^a) - INT

Lilian Gasparelli Carreira (Dr.^a) - UFES

Antonio Renato Bigansolli (Dr.) - UFRRJ

Hélio Fernandes Machado Junior (Ph.D) - UFRRJ



Emitido em 2022

TERMO Nº 876/2022 - PPGEQ (12.28.01.00.00.00.42)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/08/2022 09:50)

ANTONIO RENATO BIGANSOLLI

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DEQ (12.28.01.00.00.00.45)

Matricula: 1723192

(Assinado digitalmente em 02/08/2022 19:08)

HELIO FERNANDES MACHADO JUNIOR

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DEQ (12.28.01.00.00.00.45)

Matricula: 387116

(Assinado digitalmente em 02/08/2022 18:38)

ROBERTA HELENA MENDONCA

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DEQ (12.28.01.00.00.00.45)

Matricula: 2626057

(Assinado digitalmente em 02/08/2022 15:39)

LILIAN GASPARELLI CARREIRA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 057.251.907-90

(Assinado digitalmente em 02/08/2022 15:41)

CRISTIANE EVELISE RIBEIRO DA SILVA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 199.123.438-40

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrj.br/documentos/> informando seu número:
876, ano: 2022, tipo: TERMO, data de emissão: 02/08/2022 e o código de verificação: 77f5e3f465

Dedicatória

Dedico este trabalho às minhas tias Celma da Costa dos Santos (*in memoriam*) e Sueli Guimarães da Costa Scarton (*in memoriam*) e todas as demais vítimas da COVID-19.

Agradecimentos

À Professora Dr.^a Roberta Helena Mendonça pela orientação, todo apoio, atenção, compreensão e amizade. Obrigado pela oportunidade de ser seu aluno e realizar esse trabalho sob sua orientação.

À minha coorientadora Dr.^a Cristiane Evelise Ribeiro, por toda compreensão, atenção e disponibilidade durante todo o período de trabalho.

Aos amigos do LADEMAT – Laboratório de Desenvolvimento de Materiais: Matheus Santos, Ester Costa, Yasmin Garcia e Luciara da Silva, sem os quais as etapas presentes neste trabalho não teriam sido realizadas.

Aos meus pais, Neilton e Célia, pela educação, auxílio, carinho e incentivo ao estudo durante toda minha vida.

Aos grandes amigos, Marcos Vinícius “Emicidinha”, Thiago Santos, Evander Leal, João Paulo Breves, Eliseu Nascimento, João Victor Arantes, Cristiano Soares, Ricardo Viana, Vinícius Ramos, Gabriela Dias, Monique Marques, Mayara Oliveira, Matheus Ramos, Júlio Coelho, Marlon Aparecido, Wellington Ribeiro, Thalles Chagas. Cada um, de modo singular, contribuiu direta ou indiretamente para realização deste trabalho. A todos vocês, meu muito obrigado pelas incontáveis e incansáveis ajudas, o apoio, os conselhos, a paciência e o carinho.

Destaco à Professora Dr.^a Simone Pereira Taguchi Borges, não só pela amizade e orientação durante a graduação na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, mais por ter acreditado em mim, me mostrado valores que levarei para vida e ter sido uma das principais influências na decisão de fazer mestrado.

Aos técnicos Eduardo da Cunha Hora Paraíso e Deverson Wulpi pela dedicação, ajuda e boa-vontade.

Ao Thiago Varandas, meu supervisor na VIBRA Energia, pela compreensão com os horários, apoio e por ter se tornado um amigo em pouquíssimo tempo.

Ao Helvécio e a Michelle, do Laboratório de Micro e Nanotecnologia (LMN-FIOCRUZ) pela contribuição, gentileza e disponibilidade fundamentais para as análises de termogravimétricas e calorimetria exploratória diferencial.

À técnica Cristiane Cardoso do Instituto de Química da UFRRJ pelas análises de Espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier.

Ao Cristian Fábio da Silva, por toda disponibilidade e ajuda com os equipamentos do laboratório e com a impressão 3D.

À Secretaria do Curso, representada pela Renata Ferreira, pela incansável ajuda e orientação durante todos esses anos.

Aos professores, técnicos e terceirizados do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

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

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Destaco que todas as conclusões deste trabalho, umas das mais significativas, é que o desenvolvimento do conhecimento científico necessita de amizade, confiança e compreensão. Dessa maneira, finalizo reiterando meus agradecimentos a estes amigos.

“Aos que apontam, trago a resposta mais louca:

Não diz que eu sou marrento não, trampa mais e melhor que eu calo a boca

Deixa eu devolver o orgulho do gueto

E dar outro sentido pra frase: “Tinha quer ser preto””

(Emicida)

Resumo

O desenvolvimento de biomateriais utilizando os conceitos da indústria 4.0 tem atraído muito atenção devido à vasta possibilidade de aplicações. Técnicas de engenharia de tecidos envolvem muitas vezes a construção de suportes tridimensionais que auxiliam no tratamento desses. Nesse cenário, a impressão 3D exerce um importante papel para prover soluções. Doenças degenerativas, como osteoporose e osteoartrite, além de outros fatores, como o envelhecimento que promove a perda óssea, que afeta o tecido cartilaginoso. Esses tecidos costumam apresentar capacidade de regeneração baixa ou inexistente ainda mais quando são atingidos por essas doenças. Os tratamentos disponíveis para viabilizar uma possível regeneração dependem da utilização de altos teores de medicamentos administrados via oral ou intravenosa. A combinação de matrizes poliméricas com fármacos para tratamento de tecidos danificados pode ser uma boa alternativa. Os defeitos ósseos estão presentes em várias formas e tamanhos. Neste contexto, a impressão 3D permite a produção de dispositivos personalizados. A escolha do material adequado para aplicações de impressão 3D é essencial. A técnica “Fused Deposition Modeling” (FDM) é uma das mais utilizadas em manufatura aditiva. Nessa técnica, filamentos são utilizados para a produção dos mais variados tipos de dispositivos. Este trabalho teve por objetivo produzir suprimento, em forma de filamentos para a utilização em impressão 4D, especificamente, pela técnica de FDM. Para tal, os materiais selecionados foram atorvastatina (ATV) e policaprolactona (PCL). A ATV é um medicamento utilizado para redução do colesterol que tem como efeitos pleiotrópicos: anabolismo ósseo, condicionado ao uso prolongado ou alta dosagem. A policaprolactona (PCL), um polímero sintético de elevada biocompatibilidade, tem sido utilizada em diferentes técnicas de produção de biomateriais, como técnicas de manufatura aditiva. Este polímero é amplamente utilizado em matrizes de liberação de fármacos. Os filamentos foram produzidos por extrusão à quente (HME) e caracterizados por espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura por microscopia (SEM), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC). A liberação de ATV por filamentos foi avaliada por espectrofotometria UV-vis em solução tampão fosfato (pH = 7,4) a 37°C. As propriedades da PCL e a ATV foram mantidas após o processo de extrusão. Foi observado que a técnica de HME favoreceu a solubilização da ATV na matriz de PCL. Os estudos de liberação dos filamentos foram realizados por um período de 20 dias e dos “*scaffolds*” por um período de 8 horas. A quantidade de ATV liberada para os filamentos foi de 0,50% enquanto para os “*scaffolds*” foi de 0,10%. Esse resultado indica que os filamentos liberam ATV por um período prolongado. Para validação da aplicação do filamento em FDM, “*scaffolds*” de PCL/ATV foram produzidos. Os “*scaffolds*”, assim como os filamentos, foram submetidos ao ensaio de liberação utilizado UV-vis. Os filamentos produzidos têm potencial para serem aplicados como suprimento para manufatura aditiva e produtos obtidos a partir destes são aplicáveis à liberação prolongada do fármaco, podendo futuramente serem utilizados como biomateriais com foco para a aplicação em regeneração tecidual.

Palavras-chave: Policaprolactona; atorvastatina; liberação de fármaco

Abstract

The development of biomaterials using the concepts of Industry 4.0 has been getting a lot of attention due to the wide possibility of applications. Tissue engineering techniques often involve the construction of three-dimensional porous “*scaffolds*”. In this scenario, 3D printing has an important role in providing solutions. Cartilaginous tissue and bone loss are associated with trauma, aging, and degenerative diseases. These tissues usually have low or no regeneration capacity. Palliative treatments are expensive, as these diseases are often incurable and/or remain for a long time. The available treatments for possible regeneration depend on high levels of drugs administered orally or intravenously. The combination of polymeric matrices with drugs for the treatment of damaged tissues can be a good alternative. Bone defects come in various shapes and sizes. In this context, 3D printing allows the production of customized devices. Choosing the right material is essential. This work aims to produce suppliers for 3D printing, specifically for Fused Deposition Modeling (FDM) techniques. Thus, the selected materials were atorvastatin (ATV) and polycaprolactone (PCL). ATV is a cholesterol-lowering medication that has the following pleiotropic effects: bone anabolism conditioned to prolonged use or high dosage. The filaments were produced by hot melting extrusion (HME) and characterized by Fourier transform infrared spectrometry (FTIR), scanning electronics microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA), and differential scanning calorimetry (DSC). The ATV delivery by filaments was evaluated in phosphate buffer solution (pH = 7.4) at 37 °C. PCL and ATV properties were kept after the extrusion process. PCL/ATV filaments deliver ATV a long way. Moreover, PCL/ATV scaffolds *were* successfully produced by FDM. PCL/ATV filament release studies were performed for a period of 20 days and scaffolds *for* a period of 8 hours. The amount of ATV released for the filaments was 0.50 % while for the scaffolds *it* was 0.10 %. These results indicate that the filaments release ATV for a prolonged period. The scaffolds, as well as the filaments, were submitted to the release test using UV-Vis. The filaments produced have the potential to be applied as a supply for additive manufacturing and products obtained from them are applicable to the prolonged release of the drug and may in the future be used as biomaterials with a focus on application in tissue regeneration.

Keywords: Polycaprolactone; atorvastatin; drug release

Lista de Figuras

Figura 1: Tipos de polímeros biodegradáveis.	31
Figura 2: Fórmula estrutural da policaprolactona.....	32
Figura 3: Orientação dos poros nos “ <i>scaffolds</i> ” PCL/PHB (THADAVIRUL; PAVASANT; SUPAPHOL, 2017).....	36
Figura 4: Filmes produzidos no LADEMAT por 2 métodos de solvent casting.	36
Figura 5: Corte lateral de uma extrusora industrial (PARENTE, 2006).	40
Figura 6: Módulo de Young (a) e (c) e limite de escoamento (b) e (d) para filamentos de PCL (LIU <i>et al</i> , 2018).	41
Figura 7: Filamento de PCL/Olanzapina.....	42
Figura 8: Esquema do processo de impressão 3D por FDM.	44
Figura 9: Perfis dos sistemas de liberação.	49
Figura 10: Fluxograma do procedimento realizado no presente trabalho.....	53
Figura 11: Geometria do “ <i>scaffold</i> ” – Fotografia de “ <i>scaffold</i> ” produzido no Laboratório de Desenvolvimento de Materiais.	54
Figura 12: Curvas de TGA do (a) PCL e ATV.....	58
Figura 13: Curvas de DSC do (a) PCL e ATV.	59
Figura 14: Microscopia eletrônica de varredura da atorvastatina: (a) Aumento de 15000x; (b) Aumento de 5000x.	60
Figura 15: Microscopia eletrônica de varredura do filamento de PCL puro, a) e b) superfície lateral e c) e d) superfície de fratura.	61
Figura 16: MEV da superfície de fratura do filamento de PCL puro com aumento de 500x.	61
Figura 17: MEV da superfície do filamento PCL_ATVfd (a) com aumento de 50x e (b) com aumento de 100x.....	62

Figura 18: MEV da superfície da região A2 do filamento PCL_ATVfd: (a) com aumento de 50x e (b) com aumento de 100x.	63
Figura 19: MEV das superfícies de regiões distintas do filamento PCL/ATV com aumento de 500x.	63
Figura 20: MEV das superfícies de fratura do filamento PCL/ATV (a) região 1 com aumento de 100x e (b) região 2 com aumento de 100x e do (c) filamento PCL puro com aumento de 100x.....	64
Figura 21: MEV: (a) Filamento de PCL; (b) Filamento de PCL_ATVf.	65
Figura 22: MEV: (a) Filamento PCL_ATVf com aumento de 100x; (b) Detalhe do filamento com aumento de 500x.	65
Figura 23: Superfície de fratura: (a) Filamento de PCL puro; (b) Filamento de PCL_ATV.	66
Figura 24: EDS do filamento de PCL puro.	67
Figura 25: EDS da atorvastatina.	67
Figura 26: EDS do filamento de PCL/ATV.	67
Figura 27: Espectro de FTIR da Atorvastatina.	69
Figura 28: Espectro de FTIR do polímero puro (PCL) e das regiões PCL_ATVf1, PCL_ATVf2 e PCL_ATVf3 do filamento de PCL/ATV.	69
Figura 29: Sobreposição dos espectros de FTIR do polímero puro e do filamento de PCL/ATVf.	70
Figura 30: Curvas de TGA do filamento de PCL e do filamento de PCL_ATVf.	71
Figura 31: Curvas de DTG do filamento de PCL puro e do filamento de PCL_ATVf.	71
Figura 32: Curvas de DSC do PCL; da ATV; do filamento de PCL e do filamento de PCL_ATVf.	72
Figura 33: Varredura de atorvastatina em solução fosfato (PBS).	73

Figura 34: Curva padrão de absorbância da atorvastatina em PBS.	74
Figura 35: Varredura do filamento de PCL_ATVf - 8h.....	75
Figura 36: Perfil de liberação da ATV contida nos filamentos de PCL_ATVf.	76
Figura 37: Varredura do filamento de PCL_ATVf - 20 dias.	77
Figura 38: Perfil de liberação da ATV em filamentos de PCL_ATVf.	77
Figura 39: (a) Filamento de PCL puro; (b) Filamento de PCL incorporado com ATV.	79
Figura 40: Esquema do processo de impressão por FDM.....	80
Figura 41: Deformação causada pelas engrenagens de tração da impressora 3D.	81
Figura 42: Formação de esfera no bocal de deposição da impressora.	81
Figura 43:(a) Alteração da forma de alimentação; (b) Detalhe durante a impressão do "scaffold".....	82
Figura 44: Perfil de liberação do "scaffold".....	82
Figura 45: Avaliação do perfil de liberação da atorvastatina no "scaffold": (a) ordem zero; (b) primeira ordem; (c) Hixon-Crowell; (d) Higuchi; (e) Korsmeyer-Peppas.	84

Lista de Tabelas

Tabela 1: Quantidade de transplantes teciduais realizados no Brasil (2019).	23
Tabela 2: Principais tipos de biomateriais.	28
Tabela 3: Vida útil de polímeros aplicados à medicina	33
Tabela 4: Biomateriais à base policaprolactona.	34
Tabela 5: Propriedades de “ <i>scaffolds</i> ” de PCL/PHB	35
Tabela 6: Propriedades de “ <i>scaffolds</i> ” de PCL produzidos a partir do processo de Bioimpressão.	35
Tabela 7: Propriedades da Atorvastatina Cálcica	39
Tabela 8: Exemplos de dispositivos produzidos a partir do processo de extrusão.	43
Tabela 9: Exemplos de sistemas de liberação de fármaco.	45
Tabela 10: Principais modelos matemáticos de liberação.	46
Tabela 11: Principais características dos sistemas de liberação controlada.	50
Tabela 12: Dispositivos PCL + Fármaco para aplicação biomédica.	52
Tabela 13: : Bandas características do PCL.	68
Tabela 14: Bandas características da Atorvastatina.	69
Tabela 15: Variação do calor de reação de fusão dos insumos.	73
Tabela 16: Dados da equação ajustada.	77
Tabela 17: Dados da equação ajustada.	78
Tabela 18: Dados da equação ajustada.	83
Tabela 19: Coeficientes de correlação dos modelos cinéticos.	85

Sumário

1 INTRODUÇÃO	19
2 Objetivo	22
2.1 Objetivo Geral.....	22
2.2 Objetivos Específicos	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Engenharia Tecidual.....	23
3.2 Biomateriais	26
3.3 Polímeros	29
3.4 Policaprolactona (PCL)	32
3.5 Atorvastatina	38
3.6Técnicas de produção de biomateriais.....	40
3.6.1 Extrusão	40
3.6.2 Extrusão na produção de fármacos.....	42
3.6.3 Fused Deposition Modeling (FDM)	43
3.7 Sistemas de liberação de fármaco	44
4 Materiais e Métodos.....	53
4.1 Materiais	53
4.2 Metodologia	53
4.2.1 Solvent Casting.....	53
4.2.2 Extrusão – Filamento.....	54
4.2.3 Impressão 3D – FDM	54
4.2.4 Espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	55
4.2.5 Calorimetria Diferencial de Varredura – DSC.....	55
4.2.6 Análise Termogravimétrica – TGA.....	55
4.2.7 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	56
4.2.8Ensaio de liberação ““ <i>in vitro</i> ””.....	56

5 Resultados e Discussões.....	58
5.1 Análise térmica do PCL e da ATV para determinação da janela de operação na produção por HME.....	58
5.2 Análise morfológica dos filamentos obtidos pelas método 1 e pelo método 2	60
5.1 Análise Química do PCL_ATVf.....	68
5.2 Análise térmica do PCL_ATVf	70
5.3 Estudo da liberação de atorvastatina	73
5.4 Impressão do “ <i>scaffold</i> ”.....	79
5.5 Estudo da liberação – “ <i>scaffolds</i> ”	82
6 Conclusões.....	86
7 Sugestão para trabalhos futuros	87
8 Referências Bibliográficas.....	88

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2011, na Alemanha, durante a Feira Industrial de Hannover que contou com a participação de grupos representantes de diferentes áreas (acadêmica, política e de negócio), surgiu o termo “Indústria 4.0”. Nessa feira foram discutidas melhorias em competitividade na indústria e avanços tecnológicos. Nesse cenário, ficou evidenciado a relevância de inúmeros conceitos usados e também forma de se reportar à Indústria 4.0 podendo-se citar: Cyber Physical System (CPS), SmartFactory, Smart Production, MachinetoMachine (M2M), Advanced Manufacturing, Internet of Things (IoT), Internet of Everything (IoE) ou Industrial Internet. (NETO *et al.*, 2018; OZTEMEL; GURSEV, 2018). Dentre essas, a manufatura aditiva, tem proporcionado grandes avanços na área de biomateriais, em especial na área de bioengenharia tecidual. Isso porque, com essas técnicas é possível obter materiais personalizados de acordo com a necessidade dos pacientes. A engenharia de tecidos é uma tecnologia que usa uma matriz biocompatível ou biodegradável para substituir tecidos danificados ou quando combinada com células vivas e/ou medicamentos tratar de tecidos. A engenharia tecidual, geralmente, é dependente de uma plataforma tridimensional de crescimento celular denominada “*scaffold*”, produzidas preferencialmente utilizando materiais poliméricos ou compósitos (MELCHELS *et al.*, 2012; DOMINGOS, 2012; LEITE, 2016; CORREIA, 2017). Pode-se destacar os trabalhos de Gharbani *et al* (2015), Raizer; Menaszek; Castano (2017), Fedore *et al* (2017), Coelho *et al* (2017) e Shafei *et al* (2017) que utilizam polímeros para a produção de “*scaffolds*”, por extrusão, SLS, eletrofiação e *solvent casting*, incorporados com células e/ou medicamentos.

As doenças degenerativas e os traumas severos estão entre as principais causas de graves lesões teciduais. A prática mais utilizada para tratamento desse tipo de lesão era a remoção do tecido danificado, o que acarretava dano permanente e uma série de limitações. (SIMAS, SANTOS, 2009). Dentre as doenças degenerativas, destacam-se a osteoporose e a osteoartrite, que são caracterizadas pela redução da massa óssea e pelo desgaste do tecido cartilaginoso (ADAMI, 2019; FERREIRA JUNIOR, 2016).

A atorvastatina que é uma estatina sintética, mais potente que as estatinas naturais, lipossolúvel de terceira geração e tradicionalmente utilizada para tratamento de dislipidemias e outras enfermidades associadas aos níveis elevados de colesterol, tem-se demonstrado uma alternativa promissora na prevenção de perda de massa óssea e na reabsorção/neoformação óssea (MUNDY, 1999; MUNDY, 2001; McTAGGART *et al.*,

2001; HORIUCHI, MAEDA, 2006). Por isso, se destaca como opção terapêutica pelo custo-benefício quando comparada às outras estatinas usadas para tratar dislipidemias (COSTA-SCARPLATZ *et al*, 2008; NEWMAN *et al.*, 2008; MUKHTAR, REID, 2005). Segundo Mundy (2001), os fármacos da classe das estatinas, especificamente a atorvastatina conseguem estimular a formação de tecido ósseo a partir da estimulação do fator de crescimento promovido pela proteína morfogenética óssea-2 (BMP-2). Em vista disso para que o efeito de estimulação de formação do tecido ósseo ocorra a dosagem de estatina utilizada, necessariamente, precisa ser mais elevada do que a utilizada normalmente para tratamento de dislipidemias. Além disso, a principal via de administração desse tipo de medicamento é a oral, são necessárias diversas doses em elevada concentração para que o efeito da BMP-2 se mantenha (MUNDY *et al*, 1999; REINER, 2013).

Os polímeros se destacam entre os principais materiais para a produção de biomateriais pela possibilidade de alterações químicas, físicas e tratamentos superficiais. Além disso, a amplitude de características, como resistência mecânica e polaridade, tornam o campo de aplicação dos polímeros como biomateriais muito maior. A policaprolactona (PCL) é um polímero termoplástico biodegradável de origem sintética do tipo poliéster alifático com T_g de -60°C , T_m na faixa de 59°C a 64°C e temperatura de degradação de aproximadamente 350°C . (SIDDIQUI, 2018; HAYASHI, 1994; LABET, THIELEMANS, 2009; DOMINGOS, 2012). A PCL é um dos principais polímeros utilizados para produção de biomateriais como micelas, nanopartículas ou filamentos (SIDDIQUI *et al.*, 2018). Pode-se destacar os trabalhos Alex *et al* (2016), Davoodi *et al* (2016), Chen *et al* (2017) e Sultanova *et al* (2016) que utilizam a PCL como matriz incorporadas com diversos medicamentos como sistemas de liberação. Liberação de fármaco pode ser definida como a forma com que o fármaco se torna disponível para absorção do organismo e o sistema de liberação é a forma com a qual o fármaco é levado ao organismo (DURAN, 2006; HOFFMAN, 2008).

A partir dos anos 2000, o PCL passou a ser o principal polímero utilizado para o *Drug Delivery System* (DDS) tanto de liberação sustentada quanto de liberação prolongada. Um dos principais fatores para o aumento do uso do PCL, é a cinética de degradação que torna possível a eliminação completa do polímero após 2-3 anos pelo processo de bioerosão. Além disso, as propriedades mecânicas favorecem o processamento por diversos meios, o que amplia a gama de dispositivos a serem produzidos. Em vista disso, polímeros biodegradáveis são os preferenciais para sistemas de liberação controlada, pois têm

demonstrado eficácia na liberação em sítios determinados e no tempo requerido (LIMA, 2019; SIMAS, SANTOS, 2009).

A associação de materiais poliméricos como carreadores de fármacos vem ganhando visibilidade e estreitando as pesquisas nos campos farmacêuticos e de engenharia (FERREIRA, 2017). Muitas tecnologias e métodos de processamento já populares na engenharia vêm sendo introduzidas nas áreas biomédicas e farmacêuticas. Destacam-se as técnicas de impressão 3D, como a *Fused Deposition Modelling* (FDM), a *Selective Laser Sintering* (SLS), a *Stereolithography* (SLA) e a *Hot-Melting Extrusion* (HME). Estas técnicas têm sido usadas de formas mais amplas nessas indústrias pelo processamento simples, pelo impacto ambiental reduzido, já que estas técnicas não requerem a utilização de solvente, e pelo menor custo de produção (LIMA, 2019).

A HME destaca-se como uma das principais técnicas para a produção de implantes de longa duração, de formas farmacêuticas de liberação sustentada/prolongada e de filamentos utilizados na produção de sistemas de liberação feitos por impressão 3D. Enquanto as técnicas de impressão 3D, especificamente a FDM, vêm sendo aplicadas, preferencialmente, as diversas formas farmacêuticas de liberação. Esse método de administração de fármaco vem sendo utilizado, principalmente, no tratamento de doenças crônicas, porque exigem menor dosagem, quantidade total de fármaco e garantem maior conforto e controle ao paciente (LIMA, 2019; SIMAS, SANTOS, 2009).

Diante disso, ainda é possível destacar trabalhos realizados pelo Laboratório de Desenvolvimento de Materiais da UFRRJ (LADEMAT) como o desenvolvimento de filmes de PCL carregados com atorvastatina e a produção de filamentos carregados com fármaco como sistemas de liberação controlada.

Deste modo, o presente estudo busca desenvolver formulações de PLC+ATV em forma de filamentos, filmes e “*scaffolds*” que possam ser utilizados para liberação controlada.

2 Objetivo

2.1 Objetivo Geral

Esta dissertação teve como objetivo produzir e caracterizar filamentos de policaprolactona (PCL) com o fármaco atorvastatina (ATV) utilizáveis como suprimento para impressão 3D com potencial aplicação para o tratamento de danos aos tecidos ósseos e cartilagosos.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir filamentos de PCL a partir de técnica de extrusão (HME) a partir a mistura física na forma de pó contendo polímero e fármaco e a partir de uma matriz polimérica de PCL e ATV produzida por “*solvent casting*”,
- Avaliar as propriedades térmicas dos filamentos produzidos
- Avaliar a morfologia dos filamentos
- Avaliar as possíveis interações químicas entre PCL e ATV
- Avaliar a utilização do filamento na produção de “*scaffolds*” por manufatura aditiva.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Engenharia Tecidual

A humanidade tem buscado formas de melhorar a qualidade de vida garantindo uma maior longevidade. Atualmente, a população possui uma expectativa de vida mais alta e mais saudável, o que acarreta a necessidade de substituição de tecidos e órgãos para preservar a saúde (CORREIA, 2017; LANZA *et al.*, 2011). Mesmo que os tecidos cartilagosos ósseos tenham grande capacidade de regeneração, estes estão sujeitas ao desgaste originados pela idade ou por patologias conhecidas ou não. Em razão disso, enxertos de diversos tipos são utilizados a fim substituir ou promover a neoformação desses tecidos (O'BRIEN, 2011; LEITE, 2016; CORREIA, 2017).

Uma das formas mais conhecidas de substituição e de estímulo à neoformação tecidual é a técnica de transplantes de órgãos, células e tecidos. Apesar da técnica de transplantes de variados tecidos ser amplamente conhecida, não há doações suficientes para suprir a necessidade da população. Segundo a Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO, 2019), a realização de transplantes envolve muitos fatores como a compatibilidade e a autorização familiar (LEITE, 2016). Em 2019 o Brasil registrou o total de 29.296 transplantes de tecidos, conforme Tabela 1.

Tabela 1: Quantidade de transplantes teciduais realizados no Brasil (2019).

Tecidos	
Tecidos	Total
Ossos	10.418
Córnea	14.943
Medula Óssea	3.805
Pele	130
Total	29.296

Fonte: Manual Associação Brasileira de Transplante de Órgãos - 2019

Nesse cenário a engenharia tecidual se apresenta como a tecnologia que pode combinar uma matriz biocompatível e/ou biodegradável com células vivas ou medicamentos a fim de tratar tecidos danificados, substituir tecidos não passíveis de recuperação e para otimizar algumas funções teciduais. Essa técnica pode ser definida como uma ferramenta multidisciplinar da medicina, biologia, ciência dos materiais e engenharia e pode ser subdividida pautada no tipo de função a ser suprida.

Considerando essa subdivisão, pode-se destacar, dentre outras, a utilização da engenharia tecidual para regeneração óssea, vasos sanguíneos e tendões e ligamentos. Para grande parte das aplicações, a engenharia tecidual é dependente de uma plataforma tridimensional de crescimento celular denominada “*scaffold*”, que são produzidos em materiais poliméricos, metálicos, cerâmicos ou compósitos (MELCHELS *et al.*, 2012; DOMINGOS, 2012; LEITE, 2016; CORREIA, 2017)

Os “*scaffolds*” são o suporte para o crescimento de tecido novo e servem como base para adesão, proliferação e crescimento celular (DOMINGOS, 2012; SAMPAIO, 2012; PEREIRA, REIS, OLIVEIRA, 2018). Em consequência da complexidade e da variedade de tecidos que podem ser utilizados, não há um modelo de “*scaffold*” adequado. A estrutura a ser construída é dependente do tipo de tecido e do tipo de lesão a ser tratada e dividem-se em dois métodos: temporários e permanentes. (HUTMACHER *et al.*, 2004; SAMPAIO, 2012).

Em decorrência do envelhecimento da população e da maior expectativa de vida, doenças que acarretam perda de massa muscular, cartilaginosa e óssea além de afetar a neoformação tecidual têm se tornado mais comum. As principais doenças que acarretam em perda de massa óssea são aquelas caracterizadas por inflamação (artrite reumatoide) ou pela deterioração de tecido óssea e cartilaginoso (ADAMI *et al.*, 2019). A população mundial é atingida substancialmente por duas doenças desse tipo:

- Osteoporose: segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a osteoporose pode ser definida por distúrbios nas atividades fisiológicas e são responsáveis pela redução da massa óssea (redução da densitometria óssea), que acarreta a fragilidade óssea e conseqüentemente em fraturas. A osteoporose pode ser dividida em primária e secundária, a primeira decorrente de manifestação espontânea ou desconhecida e a segunda decorrente de condições clínicas como neoplasias e anormalidades endócrinas. Os tipos de fraturas mais comuns causadas pela osteoporose são aquela por compressão vertebral, fraturas de punhos e, quando a doença está em estágio avançado, fraturas de bacia (sínfise púbica) (MASI, 2008; BLIUC *et al.*, 2015; ADAMI *et al.*, 2019).

- Osteoartrite: define-se pela degradação da cartilagem articular concomitante à proliferação do tecido ósseo, conectivo e cartilaginoso provocada por algum tipo de disfunção articular. A forma mais comum de desenvolvimento da doença é em decorrência da restrição e da redução da qualidade de vida (WOOLF, PFLEGER, 2003; LOESER *et al.*, 2012; HAWKER, 2019).

Em razão deste envelhecimento populacional, a osteoartrite é a forma mais comum de doença articular que resulta em limitações das atividades diárias. A dominância da artrite de joelho no mundo é de 3,8%. Todavia em países como Estados Unidos e Canadá este tipo de artrite atinge em torno de 10% dos portadores de osteoartrite. A estimativa no cenário brasileiro para o ano de 2019 é que 1% da população desenvolverá osteoartrite de joelho, e dessas 5% necessitarão de tratamento medicamentoso.

Estes são exemplos de doenças que afetam, sobretudo, a população mais idosa e que tem seu desenvolvimento ou agravamento motivados por sedentarismo, alterações metabólicas desconhecidas e por hábitos alimentares insalutíferos, além disso, são incuráveis (ADAMI, 2019; HAWKER, 2019). Em função disso a demanda por tratamentos com potencial de minimizar a dor, retardar o agravamento ou impedir o desenvolvimento desse tipo de doença estimulou e ainda estimula a aplicação da técnica de engenharia tecidual.

A engenharia tecidual aplicada aos tecidos ósseo e cartilaginoso pode ser definida como um campo multidisciplinar que busca o desenvolvimento de terapias a fim de solucionar doenças ósseas, como as supracitadas. Visando alcançar esse objetivo, pesquisas indicam a utilização de suportes tridimensionais (“*scaffolds*”) como base de sustentação para células como o principal expoente na busca do desenvolvimento de novas tecnologias.

O início da aplicação da engenharia tecidual na substituição óssea foi realizado com a utilização de enxertos autógenos, alógenos, isógenos, xenógenos e sintéticos (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; MARTINS *et al.*, 2019; DROSOS *et al.*, 2012; YANG, SYKES, 2007; STEVENS, 2008). Os enxertos autógenos são aqueles transplantados de um lugar para outro em um mesmo paciente, esse tipo de enxerto não apresenta problemas de histocompatibilidade e de transmissão de doenças, por outro lado, estes têm como desvantagem a quantidade limitada de enxerto disponível e a morbidade associada a extração. Enxertos produzidos a partir do osso ilíaco, da calota craniana, da tíbia, das costelas e da mandíbula destacam-se entre os principais doadores de eleição (MARTINS *et al.*, 2019).

Atualmente com a oportunidade de induzir o crescimento de tecido ósseo, a partir do cultivo celular em “*scaffolds*” de diferentes materiais, os implantes aplicados à engenharia tecidual óssea dividem-se em provisórios e permanentes. Como busca-se reduzir a quantidade de procedimentos invasivos durante o tratamento, os “*scaffolds*” temporários são o foco das pesquisas atuais. Um dos fatores que estimula a produção de “*scaffolds*” temporários é a grande variação de materiais que podem ser usados como insumo (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; DIMITRIOU *et al.*, 2011). Os “*scaffolds*” precisam de características

específicas para serem aplicados à osteoregeneração, dentre as quais destacam-se (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; HOLLISTER, 2005):

- Resistência Mecânica: Os “*scaffolds*” aplicados na regeneração óssea necessariamente precisam ter resistência mecânica compatível ao tecido ósseo a ser tratado (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; O'BRIEN, 2011);
- Arquitetura: O tamanho e a forma dos “*scaffolds*” precisam ser adaptados ao dano do tecido. Além disso, geralmente busca-se uma arquitetura porosa, com tamanho variando entre 200-600µm, para estimular o crescimento celular (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; BOSE; ROY; BANDYOPADHYAY, 2012; HOLLISTER, 2005);
- Porosidade: Para garantir a estrutura óssea ideal a área superficial de cultivo celular deve ser grande, logo a interconectividade dos poros deve ser superior a 90% (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; DOMINGOS, 2012; HOLLISTER, 2005);
- Osteogênese: Ocorre quando os osteoblastos são inseridos na área danificada com o biomaterial a ser enxertado;
- Osteocondutividade: Habilidade do “*scaffold*” para suportar a adesão de osteoblastos e garantir a conexão adequada com a estrutura tecidual que seja compatível com a migração celular (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; OLZTA *et al.*, 2007);
- Osteoindutividade: Habilidade do “*scaffold*” em promover a diferenciação das células osteoprogenitoras, que podem ser aplicadas em tecidos cartilagosos e ósseos, dos osteoblastos (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; LIU, LIM, TEOH. 2013);
- Osteointegração: Envolve a integração das propriedades antes citadas do “*scaffold*” ao organismo (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; PARITHIMAKALAIIGNAN; PADMANABHAN, 2013).

As exigências que devem ser cumpridas para que um biomaterial possa ser aplicado são complexas, como visto são inúmeras características a serem atendidas para que um “*scaffold*” possa apresentar a eficácia pretendida.

3.2 Biomateriais

Durante a Conferência da Sociedade Europeia de Biomateriais (ESB), em 1976, o vocábulo biomaterial foi concebido e descrito na época como “material utilizado para produção de dispositivos médicos com capacidade de interação biológica” (O'BRIEN, 2011). Atualmente podem ser definidos como sistemas, provenientes de origem natural ou sintética, que são utilizados de forma permanente ou provisória para tratar ou substituir um

órgão, tecido ou função do corpo (XU *et al.*, 2019). Este tipo de material é utilizado em áreas como a medicina em diversos produtos, tais quais próteses ósseas, oculares, ortopédicas e mamárias, pinos para fixação ortopédica e ossículos do ouvido (MADRID *et al.*, 2019; CHEN, LIU, 2015; PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019). Atualmente a liberação controlada de fármacos é um dos principais focos de uso dos biomateriais.

Os biomateriais são divididos em quatro gerações em função da complexidade e da capacidade de interação com sistemas biológicos. A 1ª geração foi desenvolvida entre as décadas de 1950 e 1960, com a intenção de substituir um tecido causando a menor resposta tóxica. Entretanto os materiais utilizados eram provenientes de aplicações em outras áreas, como química, alimentícia e energética, os quais geralmente acarretavam rejeição ou apresentavam toxicidade. Quando funcionavam, tinham interação muito baixa com o organismo o que os levou a serem denominados como inertes (CORREIA, 2017; SINHORETI, VITTI, CORRER-SOBRINHO, 2013; NAVARRO *et al.*, 2008).

A 2ª geração buscou desenvolver materiais bioativos e biorreabsorvíveis. Durante as décadas de 1980 e 1990 o foco das pesquisas eram em desenvolver a interação com o organismo. Os materiais criados na 2ª geração ocasionavam a degradação do biomaterial conforme o tecido era formado. Devido a essa característica passaram a ser conhecidos como bioativos, nessa classe destacam-se os poliglicólicos, os polilactídeos e as policaprolactonas que são utilizados até hoje (CORREIA, 2017; SINHORETI, VITTI, CORRER-SOBRINHO, 2013; NAVARRO *et al.*, 2008; SHASTRI, ALTANKOV, LENDLEIN. 2010).

Em meados da década de 1990 a busca por materiais que pudessem se adaptar ao organismo pautaram as pesquisas sobre biomateriais. Essa fase foi denominada 3ª geração e originou materiais que além de bioativos também eram reabsorvíveis. A principal característica dos biomateriais de 3ª geração era a capacidade de induzir, a partir de estímulos internos ou externos, ao próprio organismo o crescimento ou regeneração do tecido (SINHORETI, VITTI, CORRER-SOBRINHO, 2013; NAVARRO *et al.*, 2008; SHASTRI, ALTANKOV, LENDLEIN. 2010).

Atualmente, a 4ª geração é aquela que torna os biomateriais capazes de induzir resposta celular e funções teciduais, além de serem estimulados de forma interna e externa a partir de gatilhos químicos e físicos. Desde o ano de 2010, estes são denominados como biomateriais “*smart*” e as pesquisas focam no tratamento superficial dos materiais afim de moldar propriedades como a topografia e a rugosidade (HOLZAPFEL *et al.*, 2013; HUTMACHER *et al.* 2007).

A escolha de um biomaterial é guiada pela aplicação, que pode ser definida pela afinidade química ou física com o tecido a ser tratado ou substituído. Isto posto, a resposta celular gerada pelo biomaterial é extremamente relevante, visto que o preenchimento de uma vacância não é a sua principal função, com exceção dos biomateriais inertes (LEITE, 2016; CORREIA, 2017). Na Tabela 2 têm-se os principais exemplos de materiais utilizados para a produção de biomateriais.

Tabela 2: Principais tipos de biomateriais.

Tipo	Material	Vantagens	Desvantagens
Polímeros	Naturais Quitossana, colágeno, alginato de sódio, ácido hialurônico, carragenina.	Biocompatibilidade, biodegradabilidade, elevada adesão celular.	Processamento, resistência mecânica.
	Sintéticos Policaprolactona, poliácido lático, poliácido lático glicólico, poli(metacrilato de metila).	Disponibilidade, biocompatibilidade, processamento, custo.	Baixa adesão celular, geração de produtos secundários pela degradação.
Cerâmicas	Fosfato tricálcico, hidroxiapatita.	Biocompatibilidade, osteocondutividade.	Fragilidade, suscetível à fratura.
Metais	Titânio, ligas de cobalto	Resistente à fratura, rigidez	Imunogenicidade, impede crescimento tecidual, toxicidade.
Compósitos	PLC/Hidroxiapatita, PCL/ gelatina	Composição específica, estrutura específica	Processamento, suscetível a degradação, resistência mecânica

Os biomateriais são geralmente classificados segundo a natureza química, divididos em naturais e sintéticos. Dentre os naturais estão os materiais autógenos, alógenos e os xenógenos. Autógenos são aqueles provenientes do mesmo organismo lesionado. Alógenos são aqueles originados de organismos da mesma espécie e os xenógenos são aqueles de espécies diferentes. Entretanto os sintéticos, que atualmente são os mais utilizados, compreendem as cerâmicas, os metais e os polímeros (PERIĆ KAČAREVIĆ, 2019; WILLIAMS, 1987; RATNER, HOFFMAN, 2004).

Segundo Williams (1987) os biomateriais podem ser classificados segundo sua atividade fisiológica:

- Biotoleráveis: são aqueles que são isolados dos tecidos circunvizinhos por meio de uma camada fibrosa. A tolerabilidade dos tecidos é medida em função da espessura da camada formada. Os polímeros sintéticos e os materiais metálicos estão entre os principais materiais biotoleráveis (WILLIAMS, 2009);
- Bioativos: são aqueles que propiciam ligações com os tecidos circunvizinhos, isto é, integram-se ao organismo. Ainda, quando usado em regeneração óssea, podem ser subdivididos em osteoindutores e osteocondutores. Osteoindutores são aqueles que proporcionam resposta intracelular e extracelular na superfície do material, enquanto os osteocondutores são aqueles que propiciam a construção de uma superfície biocompatível que beneficia o desenvolvimento de osteoblastos. Os materiais cerâmicos, como a hidroxiapatita, estão entre os principais materiais bioativos (XU *et al*, 2019; CORREIA, 2017; WILLIAMNS, 1987; CAO; HENCH, 1996);
- Inertes: são aqueles que tem pouca ou nenhuma interação com os tecidos adjacentes. Destacam-se a alumina, zircônia, titânio e suas ligas entre os materiais inertes (CORREIRA, 2017; STEVENS, 2008; CASTNER; RATNER, 2002);
- Biorreabsorvíveis: são aqueles que são degradados pelo organismo após ou durante o período de ação. Este tipo de material é normalmente expelido, sem necessidade de intervenção cirúrgica, ou absorvido pelo organismo (CORREIA, 2017; ROKKANEN *et al.*, 2000; BARBANTI *et al.*, 2005).

O biomaterial adequado é aquele que não acarrete danos locais ou algum tipo de toxicidade. Um dos fatores de controle para a produção de um biomaterial adequado é a biocompatibilidade, que pode ser definida como a capacidade de estimular a resposta adequada para qual foi projetado (SMITH *et al.* 2009; WILLIAMS, 1987; ROGERO *et al*, 2003).

3.3 Polímeros

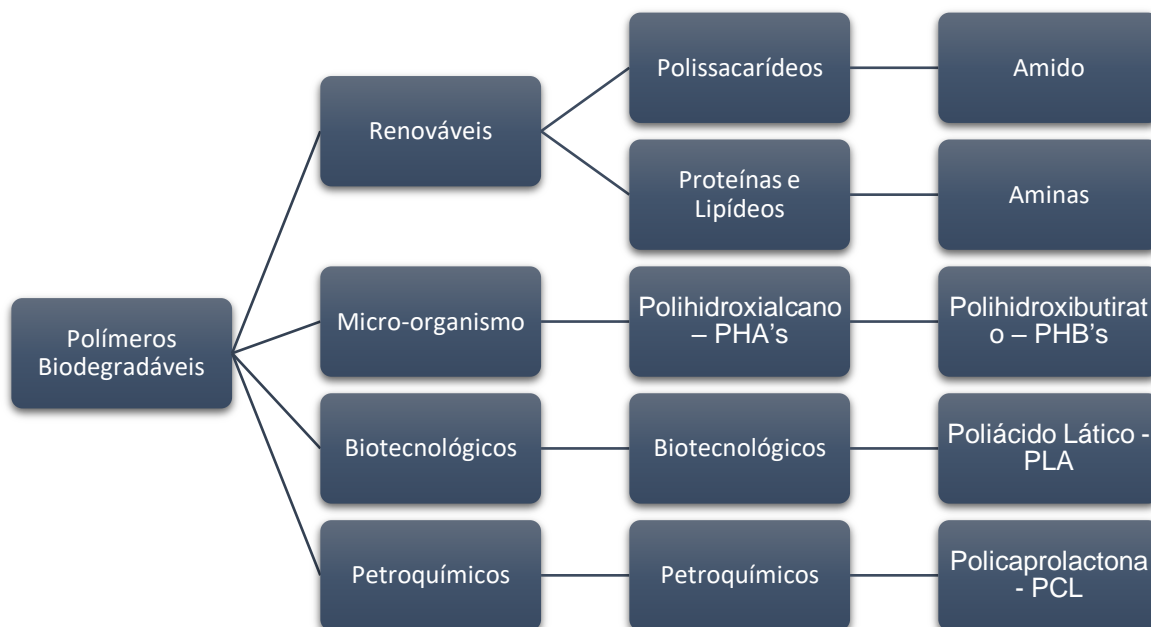
Polímeros são macromoléculas, de origem natural ou sintética, formadas por unidades de repetição, denominadas “meros”, por de natureza ligação covalente (intramoleculares) e por ligações de Van der Waals (intermoleculares) entre as cadeias. É possível classificar os polímeros em termoplásticos, termofixos e elastômeros. A estrutura da cadeia formada dos termoplásticos, que pode ser dividida em linear, ramificada ou reticulada, ligadas covalentemente a cadeia principal, formando uma rede tridimensional,

que é responsável pelas propriedades do polímero (ORÉFICE, 2012; AKCELRUD, 2007; CANEVAROLO JR., 2006; MANO; MENDES 1999). Enquanto os termofixos são reticulados a partir de reações de vulcanização e reticulação (KOUTSOS, 2009).

Além disso, as propriedades químicas e físicas também dependem da cristalinidade do polímero. A estrutura pode ser amorfa, que apresenta as moléculas de forma totalmente aleatória, e cristalina, que apresenta parte das moléculas organizadas em uma estrutura definida. De maneira geral, as características apresentadas pelos polímeros são baixa resistência mecânica, térmica, elétrica e baixa densidade quando comparadas aos materiais metálicos e cerâmicos (CALLISTER, 2002; AKCELRUD, 2007; KOUTSOS, 2009; ALMEIDA; 2010)

Quando há a presença de heteroátomos na estrutura, os polímeros tornam-se vulneráveis a quebra hidrolítica. Além disso, fatores como a cristalinidade e a massa molar tornam os polímeros mais ou menos vulneráveis a degradação. Assim, os polímeros reabsorvíveis e bioabsorvíveis geralmente são aqueles que possuem baixa massa molar, possuem percentual de fase amorfa e são hidrofílicos, dentro dessa classe destacam-se a quitosana e celulose nos polímeros naturais e a policaprolactona (PCL), o poliácido láctico (PLA) e o poli (álcool vinílico) (PVA) nos polímeros sintéticos. No entanto, aqueles polímeros que são hidrofóbicos, apresentam alto grau de cristalinidade e são formados por ligação do tipo carbono-carbono na cadeia principal são resistentes a degradação (ALMEIDA, 2010; GOMES, 2010). Em consequência da grande versatilidade dos polímeros, estes têm sido aplicado em áreas médicas visando a substituição e regeneração de tecidos, a liberação de fármacos e na produção de cosméticos (KLOSS *et al.*, 2005; SINHA *et al.*, 2004; VOGELSANGER *et al.*, 2003). Na Figura 1 são apresentados alguns polímeros biodegradáveis, conforme o tipo.

Figura 1: Tipos de polímeros biodegradáveis.



Fonte: Brito, G. F.; Agrawal, P.; Araujo, E. M.; Mélo, T. J. A., 2011.

Além da classificação apresentada na Figura 1, também é possível classificar os polímeros biodegradáveis conforme o tipo de síntese, a possibilidade de reutilização e grau de biodegradabilidade. Segundo THAKUR & THAKUR (2015), a principal forma de classificação de polímeros biodegradáveis, é a separação em dois grupos: (I) os agropolímeros, que são obtidos a partir de biomassa; e (II) os biopoliésteres, que podem ser naturais ou sintéticos.

Nos últimos 20 anos, o uso de polímeros biodegradáveis, gradativamente, emergiu como o principal insumo das aplicações biomédicas, tomando o lugar dos materiais bioestáveis como as ligas metálicas, as ligas não metálicas e as cerâmicas. O aumento do uso dos polímeros, principalmente os biopoliésteres, pode ser atribuído a baixa probabilidade de efeito inflamatório ou resposta tóxica, permeabilidade e processabilidade. Na última década os polímeros biodegradáveis vêm sendo amplamente utilizados na busca pelo desenvolvimento de placas ósseas, de parafusos ósseos, de dispositivos reservatórios de contraceptivos, de fios de sutura, de cosméticos, de adesivos médicos, de membranas para

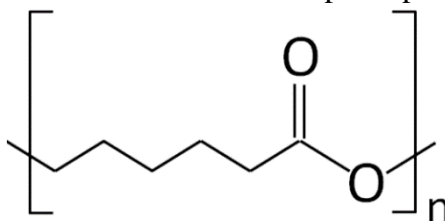
regeneração guiada, “*scaffolds*” para engenharia tecidual e sistemas de liberação de fármaco (nanoestruturados e microestruturados) (THAKUR, THAKUR, 2015).

Atualmente, os polímeros são os materiais mais usados para a produção “*scaffolds*” devido a biocompatibilidade, flexibilidade e a biodegradabilidade e vem sendo amplamente utilizados em ações biomédicas em geral, como na liberação controlada de fármacos, na preparação de cosméticos, em adesivos médicos e na substituição permanente de tecidos (THAKUR, THAKUR, 2015; LIMA *et al.*, 2019; SIMÕES, PINTO, SIMÕES, 2019).

3.4 Policaprolactona (PCL)

A classe dos poliésteres sintéticos biodegradáveis é utilizada como insumos médicos desde a década de 1970 (SIDDIQUI, 2018). A policaprolactona é um polímero termoplástico biodegradável, que atualmente se destaca como insumo para a produção de biomateriais, de origem sintética do tipo poliéster alifático e faz parte do grupo dos polímeros absorvíveis ou reabsorvíveis. A policaprolactona pode ser polimerizada por dois métodos, o primeiro pela abertura do anel de ϵ -caprolactona e o segundo pela condensação do ácido 6-hidroxicapróico. A estrutura, apresentada na Figura 2, é do tipo semicristalina linear. Apresenta extensas cadeias de carbono com baixa mobilidade, temperatura de transição vítrea (T_g) de -60°C , temperatura de fusão (T_m) de 59°C a 64°C e temperatura de degradação de aproximadamente 350°C . Por ser um polímero semicristalino, apresenta degradação hidrolítica nas zonas amorfas, pois os grupos éteres ficam expostos (SIDDIQUI, 2018; HAYASHI, 1994; LABET, THIELEMANS, 2009). O PCL é solúvel em clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono, benzeno e possui baixa solubilidade em acetona, dimetilformamida e acetonitrila (SIDDIQUI, 2018; DOMINGOS, 2012).

Figura 2: Fórmula estrutural da policaprolactona.



Fonte: Mazzarino, L., (2013).

Em 1930, iniciou-se a produção comercial da policaprolactona sintetizada pelo grupo Carothers. E foi um dos primeiros polímeros sintéticos que eram passíveis a degradação por micro-organismos. Nas décadas seguintes, as pesquisas tiveram como foco outros polímeros,

por terem taxa de degradação mais rápida, o que era procurado para utilização em sistemas de liberação de fármaco tradicionais. Em função do elevado tempo de degradação, a policaprolactona destacou-se como o principal insumo para a fabricação de fios de sutura. Como mostrado na Tabela 3, o tempo de degradação do PCL é muito elevado quando comparada a outros polímeros também aplicados à medicina (DOMINGOS, 2012; WOODRUFF, HUTMACHER, 2010; SENEDESE, 2011).

Tabela 3: Vida útil de polímeros aplicados à medicina

Material	Módulo	Tipo de Degradação	Vida Útil	Processamento
Policaprolactona	0,4 GPa	Hidrólise	1 a 4 anos	Extrusão, SLS, Solvent Casting
Poli (ácido láctico)	2,7 GPa	Hidrólise	12 a 18 semanas	Extrusão, SLA, Solvent Casting
Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico)	7,0 GPa	Hidrólise	6 a 12 Semanas	Extrusão, Solvent Casting
Ácido Hialurônico	2×10^{-6} a 1×10^{-4} GPa	Enzimática	1 a 38 dias	Fotopolimerização, Electrospinning
Colágeno	1 a 1,5 GPa	Enzimática	> 1 hora	Electrospinning

A partir da década de 2010, com o advento da engenharia de tecidos e dos sistemas de liberação de fármaco modificados, a policaprolactona despontou como um dos principais materiais para a produção de “*scaffolds*” devido às suas propriedades reológicas e viscoelásticas, conforme apresentado na Tabela 4 (SIDDIQUI *et al.*, 2018).

Tabela 4: Biomateriais à base policaprolactona.

“scaffold”	Processamento	Tipo de célula	Aplicação	Fonte
PCL + Aorta	Eletrofiação	Condrócitos primários	Tecido traqueal	Gharbaniet <i>al.</i> , 2015. Rajzer;
PCL + Osteogen	Eletrofiação	Osteoblastos	Tecido ósseo	Menaszek; Castano, 2017.
PLC + Gelatina	Eletrofiação + Gas foaming	Fibroblastos dérmicos	Tecido epitelial	Hamlet <i>et al.</i> , 2017.
PCL + Colágeno	Bioimpressão 3D	Fibroblastos	Tecidos	Coelho <i>et al.</i> , 2017.
PCL + PHB	Solvent Casting	Pré-osteoblástica derivado de roedores	Tecido ósseo	Thadavirul; Pavasant; Supaphol, 2017.
PCL + PPy	Eletrofiação	Fibroblastos L929	Tecido neural	Shafeiet <i>al.</i> , 2017.
PCL + Hap	SLS	MSC's derivado de roedores	Defeitos osteocondrais	Du <i>et al.</i> , 2017.
PCL + PHBHHx	RapidPrototyping–RP	Osteoblastos MC3T3-E1	Tecidos	Puppi; Monelli; Chiellini, 2017.
PEG + PCL	Extrusão - PED	Pré-osteoblástica derivado de roedores	Regeneração craniana	Fedoreet <i>al.</i> , 2017.

Fonte: Siddiqui (2018).

Em 2017, Thadavirul, Pavasant e Supaphol estudaram a utilização da policaprolactona com polihidroxibutirato em “*scaffolds*” aplicados à regeneração óssea. Observou-se que há uma redução da porosidade quando “*scaffolds*” de PCL são comparados com as blendas de PCL-PHB e PCL-PHBV. Também é possível observar que com a redução da porosidade há o aumento do módulo compressivo, o que pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5: Propriedades de “scaffolds” de PCL/PHB

Composição	Densidade	Porosidade (%)	Módulo Compressivo (kPa)
PCL	0,0853 ± 0,0063	92,55 ± 0,55	57,77 ± 8,2
PCL/10% PHB	0,1876 ± 0,0464	83,61 ± 4,05	287 ± 6,9
PCL/20% PHB	0,1540 ± 0,0433	86,55 ± 3,78	735 ± 4,5
PCL/30% PHB	0,1347 ± 0,0307	88,24 ± 2,68	1223 ± 1,4
PCL/10% PHBV	0,2129 ± 0,0605	81,41 ± 5,29	951 ± 1,3
PCL/20% PHBV	0,1512 ± 0,0238	86,80 ± 2,08	1708 ± 8,0
PCL/30% PHBV	0,1375 ± 0,0148	87,99 ± 1,29	1861 ± 1,0

Fonte: Thadavirul (2017)

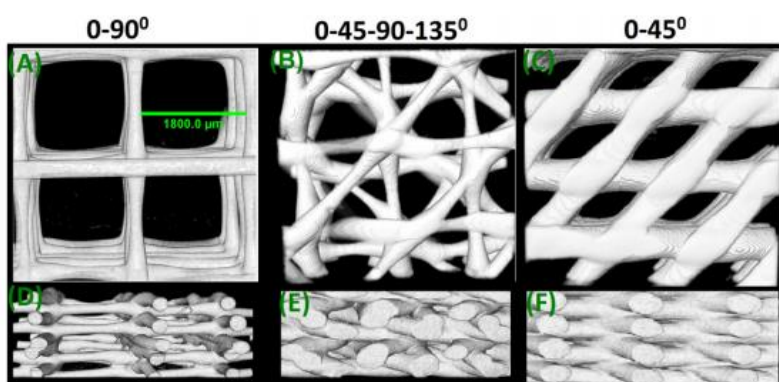
O aumento do módulo de compressão, resultante da blenda de PCL + PHB/PHBV, apresentado na Tabela 6, justifica-se pela redução da cristalinidade, aumento da flexibilidade e da processabilidade do material utilizado para a matriz. Segundo Olubamiji *et al.* (2016), além do percentual de poros no “scaffold”, o tamanho e a orientação dos poros têm elevada influência nos módulos de elasticidade de tração e compressão, os valores são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Propriedades de “scaffolds” de PCL produzidos a partir do processo de Bioimpressão.

Tipo	Processamento	Dimensões (mm)	Tamanho dos poros (µm)	Orientação	Porosidade (%)	E
			400	0-90	36,91	46,04
			300	0-45	42,65	20,83
			300	0-45-90-135	44,53	25,36
			200	0-90	56,84	18,15
			400	0-45	51,98	24,75
			400	0-45-90-135	53,53	34,44
“scaffold”	Bioimpressão	15x15x2,4	400	0-90	63,72	15,86
			300	0-90	67,39	9,74
			300	0-45-90-135	68,73	16,41
			300	0-45	70,65	11,68
			200	0-45	72,13	9,66
			200	0-45-90-135	75,98	14,59
			200	0-90	80,28	6,03

É possível observar que com o aumento do tamanho dos poros e com redução da densidade de poros o módulo de elasticidade aumenta. Além disso, segundo Olubamiji *et al.* (2016) o aumento de 100 μ m acarreta aumento de aproximadamente 1,6 vezes no módulo de elasticidade. Há também o aumento em 1,2 vezes com a mudança de orientação nos ângulos dos poros, como mostrado na Figura 3.

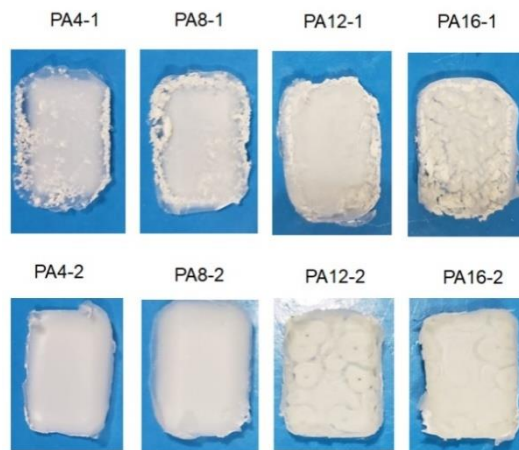
Figura 3: Orientação dos poros nos “*scaffolds*” PCL/PHB



Fonte: (THADAVIRUL; PAVASANT; SUPAPHOL, 2017)

Vale destacar o trabalho de PEREIRA, 2021 realizado no LADEMAT-UFRRJ, que consistiu na produção de filmes de PCL carregados com atorvastatina. Os filmes de PCL foram produzidos por dois métodos diferentes, o primeiro consistiu na solubilização do PCL em clorofórmio, sob agitação, em uma solução 10% p/v, seguido da mistura com a atorvastatina em pó (método 1). Enquanto o segundo consistiu na solubilização da atorvastatina na solução 10% p/v de PCL, também sob agitação (método 2). Foram produzidos nove filmes no total, um somente de policaprolactona e 4 de cada método, com concentrações de atorvastatina variando em 40mg, 80mg, 120mg e 160mg. Os filmes produzidos são mostrados na Figura 4.

Figura 4: Filmes produzidos no LADEMAT por 2 métodos de *solvent casting*.



Fonte: Pereira (2021).

Os filmes produzidos pelo método 2, independente da concentração utilizada, foram uniformes. Em contrapartida, nos filmes obtidos pelo método 1, observou-se aglomerados do fármaco em determinadas regiões do filme. Também se observou que o PCL manteve sua estrutura química, uma vez que não houve nenhuma indicação da formação de novas ligações químicas no PCL (PEREIRA, 2021).

O processo de metabolização do PCL ocorre pela hidrólise no Ciclo de Krebs. A degradação pela difusão da água para as zonas amorfas do polímero que estimula a reação em cadeia que fragmenta as cadeias poliméricas. Esse processo é diretamente afetado por fatores como tamanho, cristalinidade, temperatura e pH, o que causa impacto significativo quando aplicados a função terapêutica provisória (SIDDIQUI, 2018; WOODRUFF, HUTCHMACHER, 2010).

Dentre os poliésteres alifáticos, o PCL é aquele que apresenta custo mais baixo e uma capacidade de ser moldado em diferentes formas e com diversos tipos de materiais. Em função disso, é amplamente utilizado como substituto ósseo para osteoindução, na confecção de fios de sutura e como meio para liberação de fármaco. Posto isso, é o mais atrativo dos poliésteres biodegradáveis (SIDDIQUI, 2018; DOMINGOS, 2012; PATRICIO *et al.*, 2013).

O PCL possui algumas vantagens frente a outros polímeros também utilizados em aplicações médicas, como, por exemplo, as rotas de produção que são mais baratas quando em comparações com outros poliésteres. Com relação a liberação controlada de fármacos, o PCL possui uma degradação mais lenta quando comparada ao poliácido lático (PLA) e aos poliglicólídeos.

Por conseguinte, em virtude das características apresentadas o PCL propicia a produção de produtos que variam de “*scaffolds*” à nanoesferas, tornando-se um dos principais polímeros para aplicações biomédicas (SIDDIQUI, 2018; LIMA, 2018).

3.5 Atorvastatina

As estatinas são substâncias que possuem a propriedade de inibição da síntese de colesterol pelas células em todo o organismo, especialmente nos hepatócitos, extensamente utilizadas em tratamentos de diversas dislipidemias (ZHANG *et al.*, 2014; MUNDY *et al.*, 1999; MAEDA *et al.*, 2001; PINTO *et al.*, 2005). Nas décadas de 1970 e 1980, essa classe de fármaco era um dos medicamentos mais prescritos no mundo em função do grande número de pessoas acometidas com doenças cardiovasculares causadas por dislipidemias (ENDO *et al.*, 1977; ISTVAN, 2003). Além do efeito da redução do colesterol, esses fármacos têm apresentado efeitos benéficos na redução de mortes resultantes de problemas do coração, estimulação da angiogênese, efeitos pleiotrópicos (anabolismo ósseo, vasodilatação, antioxidação, anti-inflamação e ação imunossupressoras), redução do número de infartos do miocárdio e melhora do sistema cardiovascular (REINER, 2013; ZHANG *et al.*, 2014; MUNDY, 2001). O processo de inibição decorre da disputa com a enzima limitante de colesterol, a 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima (HMG-CoA) que é convertida em mevalonato. As estatinas podem ser divididas em duas classes, aquelas que são derivadas do processo de fermentação que são denominadas naturais e aquelas derivadas da alteração da mevastatina denominadas sintéticas (HORIUCHI, MAEDA, 2006).

A atorvastatina é uma estatina sintética lipossolúvel de terceira geração e tem maior tempo de meia vida e lipofilicidade, o que a torna mais potente que as estatinas naturais (McTAGGART *et al.*, 2001). Por isso, esta se destaca como opção terapêutica pelo custo-benefício quando comparada às outras estatinas usadas para tratar dislipidemias (COSTA-SCARPLATZ, 2008; NEWMAN *et al.*, 2008; MUKHTAR, REID, 2005). As propriedades da atorvastatina cálcica, que é a mais usada para indução de formação óssea, são apresentadas na Tabela 7:

Tabela 7: Propriedades da Atorvastatina Cálcica

Substância	Atorvastatina Cálcica (ATV)
Fórmula Molecular	(C ₃₃ H ₃₄ FN ₂ O ₅) ₂ Ca • 3H ₂ O
Massa Molecular	1155,36g/mol
Ponto de fusão	159,2 - 160,7°C
pKa	4,29±0,10
Solubilidade	Metanol, água, meio alcalino e pH neutro
Cor	Branca
Aspecto	Pó

A partir disso, os estudos passaram a buscar a relação entre as estatinas e o tecido ósseo. A maior parte das pesquisas buscou esclarecer o efeito deste tipo de medicamento à densidade mineral óssea (DMO), a ocorrência de fraturas, aos indicadores de formação óssea (osteocalcina, fosfatase alcalina óssea e propeptídeo carbóxi) e de reabsorção óssea (fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), telopeptídeos e carboxiterminais de colágeno Tipo I) (HAN, 2010; GOES, 2010; JIN, 2014).

O efeito osteogênico das estatinas foi descoberto a partir de estudo sobre estimulação de formação óssea a partir da proteína BMP-2 (*Bone Morphogenetic Protein 2*) “*in vitro*” e *in vivo* em roedores. A BMP-2 é capaz de iniciar os mecanismos de migração, proliferação, diferenciação dos osteoprogenitores e das células mesenquimais necessários para formação de tecido ósseo (MUNDY, 2001). O processo de formação e anabolismo também pode ocorrer a partir da sinalização da via TGF-β/SMAD3, pelo estímulo ao VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) (KAJI *et al*, 2008; WONG, RABIE, 2004),

Aproximadamente 30.000 compostos foram testados em cultura de células visando encontrar aquelas que conseguissem estimular a produção da BMP-2. Observou-se que as estatinas amplificaram a manifestação do RNA mensageiro (RNAm) da BMP-2, otimizaram a produção da proteína em no mínimo duas vezes, aumentam o teor da osteocalcina, da fosfatase alcalina, do colágeno Tipo I, da diferenciação dos osteoblastos e do fator de crescimento endotelial, que são indicadores da estimulação de neoformação óssea. (MUNDY *et al*, 1999; WEIVODA, HOHL, 2011; MAEDA *et al.*, 2004).

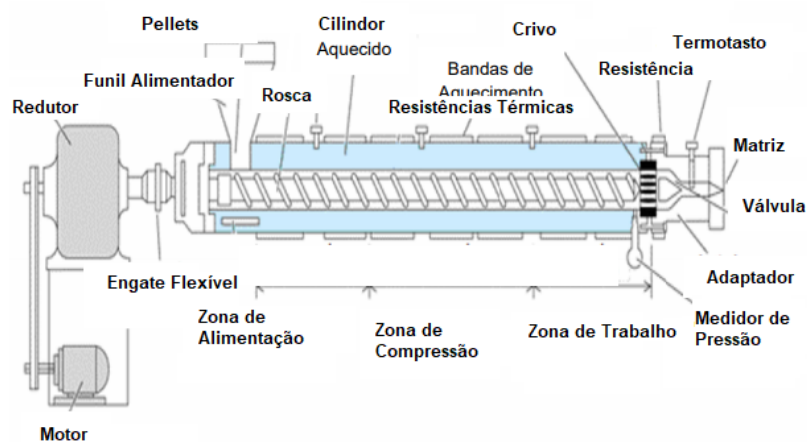
Segundo Uryar *et al.* (2009), houve um aumento da densidade mineral óssea areal da região mediana e da metáfise distal do fêmur de roedoras ovariectomizadas submetidas a tratamento com atorvastatina. Além deste, Liu *et al.* correlacionou o aumento da densidade óssea com o uso das estatinas.

3.6 Técnicas de produção de biomateriais

3.6.1 Extrusão

A extrusão é um processo de modelagem contínua de um polímero que ocorre em três etapas, que acontece em três zonas denominadas: zona de alimentação; zona de compressão e zona de trabalho, conforme Figura 5 (CANEVAROLO JR., 2006; SEBIO, 2003; PARENTE 2006).

Figura 5: Corte longitudinal de uma extrusora industrial.



Fonte: Parente (2006).

O procedimento tem como objetivo a termoplastificação de um material sólido em um fluido viscoso a fim de extrusá-lo em uma matriz sob temperatura e altas pressões. Na zona de alimentação a massa polimérica, em grãos ou em pó, é inserida no equipamento por meio funil. Durante todo o processo a rosca é responsável pelo transporte do polímero entre as zonas (PARENTE, 2006; SEBIO 2003).

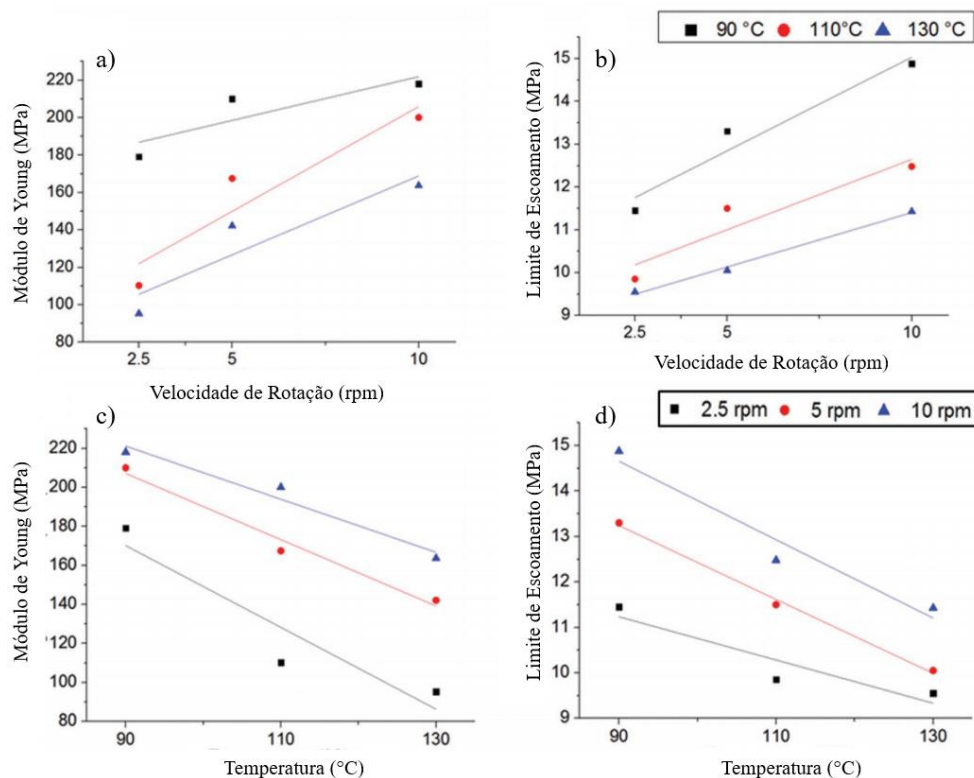
Na zona de compressão ocorre a total fusão do polímero mediante o cisalhamento entre as partículas, o atrito deste com a superfície da rosca e com a parede da extrusora e o aquecimento gerado por resistência elétrica. Por fim, na zona de trabalho, o polímero fundido é forçado por um perfil, a fim de moldá-lo (PARENTE; 2006).

Os parâmetros de controle da extrusora geralmente são: perfil de temperatura do processo; a vazão máxima da extrusora; a razão largura/diâmetro da rosca; configuração da rosca; o tempo de residência do material e o processo de secagem do material.

Depois de definido o polímero que será extrusado, os parâmetros de controle a ser ajustados são: temperatura de fusão; índice de fluidez (MFI); velocidade de rotação; pressão aplicada na zona de trabalho.

Liu *et al.* (2018) produziram filamentos de policaprolactona pelo método de extrusão. O material foi depositado em uma câmara de aquecimento e mantido acima da temperatura de fusão (T_m). Os filamentos foram produzidos com três temperaturas diferentes: 90, 110 e 130°C e com três velocidades de rotação da rosca: 2,5, 5 e 10 rpm, como mostrado na Figura 6.

Figura 6: Módulo de Young (a) e (c) e limite de escoamento (b) e (d) para filamentos de PCL.



Fonte: Liu, 2018.

É possível observar que com o aumento da velocidade rotação a resistência a tração e rigidez são aumentadas independente da temperatura do processo. Enquanto para o aumento da temperatura, é observado a redução da resistência a tração e da rigidez. A estrutura dos polímeros tem influência nas propriedades mecânicas e de degradação.

Durante o processo de impressão do filamento, há um gradiente de temperatura entre câmara e o bocal. Consequentemente o polímero pode perder calor, alterando a viscosidade

antes de atingir o bocal da extrusora. Este processo de sub-resfriamento favorece a nucleação e a cristalização parcial da policaprolactona. A utilização de uma temperatura de fusão menor pode reduzir a chance do processo de sub-resfriamento, uma vez que a diferença para a temperatura ambiente será menor. Considerando que o processo de cristalização ocorre de forma lenta, com a diferença de temperatura sendo menor haverá menos tempo para que o processo de sub-resfriamento ocorra (LIU *et al*, 2018).

Vale apontar o trabalho de produção de filamentos carregados com olanzapina realizado por ALMEIDA *et al.*, 2021 no LADEMAT em 2019. Os filamentos foram produzidos utilizando uma extrusora monorosca com temperatura da única zona de aquecimento ajustada em 80°C. Os filamentos foram cortados com 4 cm de comprimento e 2,6 mm de diâmetro, conforme Figura 7.

Figura 7: Filamento de PCL/Olanzapina.



Fonte: Almeida, 2021.

3.6.2 Extrusão na produção de fármacos

A indústria farmacêutica tem aplicado o processo de extrusão no desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação controlada (FFLC). A introdução desta técnica no setor farmacêutico é justificada pela versatilidade dos produtos que podem ser obtidos. O interesse na utilização da extrusão intensificou na última década (PATIL, TIWARI, REPIKA, 2016; SIMÕES, PINTO, SIMÕES, 2019).

A técnica tem sido usada para a produção de sistemas de liberação de fármaco via enteral, parenteral e não tradicionais como a respiratória, ocular e intranasal, alguns exemplos são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Exemplos de dispositivos produzidos a partir do processo de extrusão.

Forma	Nome comercial	Marca	Fármaco	Indicação	Matriz polimérica
Ocular	Ozurdex®	Allergan	Dexametasona	Edema macular	PLGA
Implante	Depot-Profact®	Sanofi Aventis	Buserelina	Carcinoma de próstata	PLGA
Dispositivo	NuvaRing®	NV Organon	Etonogestrel / etinilestradiol	Contraceptivo	EVA
Oral	Norvir®	Abbott	Ritonavir	HIV	PEG

Entre os anos de 2000 e 2010 o interesse na utilização da extrusão impulsionou as pesquisas dando origem a inúmeros artigos analisando a possibilidade da fabricação de sistemas de liberação (polímero + fármaco) como filmes, pellets, grânulos e pastilhas. No fim da última década, a técnica já havia se difundido e, a variedade de produtos comercialmente disponíveis era grande. A aplicação em FFLC via de administração não tradicional começou a ter maior impacto a partir de 2010. A Food and Drug Administration (FDA) e a European Medicines Agency (EMA) aprovaram em 2016 o Probuphine®, implante subcutâneo para tratamento em dependência de opioide. Em 2018, a FDA aprovou o Anovera®, o primeiro dispositivo contraceptivo hormonal que tem vida útil de 1 ano (SIMÕES, PINTO, SIMÕES, 2019).

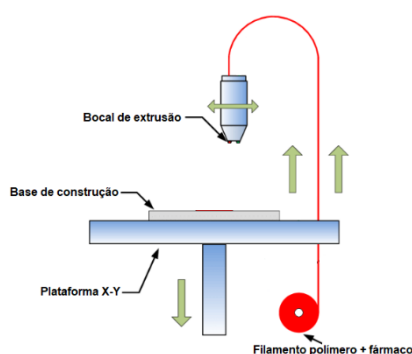
A extrusão ainda tem foco em produtos com via de administração oral, porém já existem produtos comercialmente disponíveis por meio de outras vias de administração como as pastilhas oculares, como a Lacrisert® e implantes oculares, como o Ozurdex® (PATIL, TIWARI, REPIKA, 2016; SIMÕES, PINTO, SIMÕES, 2019).

3.6.3 Fused Deposition Modeling (FDM)

Técnicas de prototipagem rápida (RP) são utilizadas para produzir modelos físicos diretamente de arquivos em CAD (*Computer Aided Design*). O modelo 3D em CAD é convertido em um arquivo no formato STL (*Stereolithography file*). O arquivo STL representa o sólido na forma de uma malha triangular que é mapeada pelas faces triangulares e pelos vetores normais. Em seguida, o arquivo STL é fatiado em camadas e as trajetórias do bocal de extrusão são determinadas. O resultado é um arquivo em formato SML (*Stratasys Modeling Language*) que é transmitido para a impressora (PUPPI, CHIELILINI, 2020; GIANNITELI *et al.*, 2014).

O processo de impressão consiste na utilização de um filamento polimérico que é fundido em uma câmara aquecida e extrusado através de um bocal que se move no plano X-Y combinado com a plataforma de deposição que se desloca no eixo Z, conforme Figura 8. O filamento é inserido no bocal e é transportado pela ação de rolos tracionadores. A fusão ocorre por meio da ação de resistência elétrica e a vazão de material depositada é controlada por bombas volumétricas de pressão (DAMINABO *et al.*, 2020; GIANNITELLI *et al.*, 2014).

Figura 8: Esquema do processo de impressão 3D por FDM.



A principal vantagem da utilização das técnicas de RP é a obtenção de “*scaffolds*” personalizados. Esse processo tem como variáveis de controle principais a temperatura de aquecimento da câmara e a velocidade de deposição que são dependentes do tipo de polímeros e de aplicação a qual se destina (DAMINABO *et al.*, 2020; GIANNITELLI *et al.*, 2014).

Os polímeros adequados para este tipo de processo englobam a classe dos sintéticos, como poliésteres, polipropileno, ABS e policarbonatos. A porosidade é um dos principais fatores que garantem a adesão celular. Na dependência de gerar estruturas porosas, os polímeros naturais não podem ser processados por esta técnica, pois a temperatura de operação é alta, o que não permite que a estrutura apresente porosidade (DAMINABO *et al.*, 2020).

3.7 Sistemas de liberação de fármaco

Liberação de fármaco é a forma com que o fármaco se torna disponível para absorção do organismo. Isto posto, o sistema de liberação é a forma com a qual o fármaco é levado ao organismo. As principais formas que esse processo ocorre são a oral, intravenosa, parenteral

e transdermal. A busca por sistemas de liberação de fármacos teve início no século XX e, os princípios que norteiam os sistemas desenvolvidos atualmente, como a redução da superdosagem e o aumento da eficácia terapêutica, foram cunhados nessa época (DURAN, 2006; HOFFMAN, 2008). O conceito de sistema de liberação disseminou-se a partir das décadas de 1950 e 1960. A criação do *SPANSULE* em 1952 e consistia em cápsulas preenchidas com grânulos que tinham velocidade de dissolução diferentes, fomentou a busca por outras formas farmacêuticas de liberação (HOFFMAN, 2008; ANSEL *et al.*, 2007). Exemplos de sistemas de liberação de fármaco são apresentados na Tabela 9 (LIMA *et al.*, 2019).

Tabela 9: Exemplos de sistemas de liberação de fármaco.

Formulação	Fármaco	Patologia alvo	Fonte
Polímero + Fármaco	PTH	Osteoporose	Yang; Aghazadeh-Habashi, Panahifan, 2017.
Certolizumab	Certoluzimabe Pegol	Artrite reumatóide	Zhou; Zhou; Chen 2014.
Quitosana + Ácido Hialurônico	Anti-IL-6	Artrite	Lima <i>et al.</i> , 2018.
Tufitsin	IL- 10	Artrite	Jain; Tran; Amiji, 2015.
HPMA	siRNA Sema4d	Osteoporose	Zhang <i>et al.</i> , 2016.
Nanomicelas de PU PEI- Pluronic® L64	Anti-miR-214 mirRNA-215	Osteoporose Osteosarcoma	Sun <i>et al.</i> , 2016. Magalhães <i>et al.</i> , 2018.
PEG- PAMAM	Bortezomib	Metástase óssea	Wang <i>et al.</i> , 2018.
PLGA	Triancinolona acetonida	Osteoartrite	Kumar <i>et al.</i> , 2018.

Fonte: Lima *et al.*, (2019), Biodegradable polymer: an update on drug delivery in bone and cartilage diseases.

Para carregar o fármaco, são usadas matrizes que podem ser classificadas em sistemas matriciais e sistemas reservatórios. O primeiro engloba os processos de intumescimento, erosão da matriz e difusão do fármaco, que podem ocorrer concomitantemente durante a liberação. Para esse tipo de matriz, em geral, são utilizados polímeros hidrofílicos e inertes. Entretanto, quando há a necessidade de utilização de matrizes hidrofóbicas, o processo ocorre principalmente por difusão. No segundo, o fármaco é revestido por uma camada polimérica e o processo de liberação ocorre por difusão que tem relação direta com a porosidade da membrana (LIMA *et al.*, 2019).

O processo de liberação do fármaco é regido por modelos matemáticos. Os principais são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Principais modelos matemáticos de liberação.

	Modelo	Equação
(I)	Ordem Zero	$Q_t = kt$
(II)	Primeira Ordem	$\log N \cdot m = Kt$
(III)	Higuchi	$Q_t = k \cdot t^{1/2}$
(IV)	Hixson-Crowell	$w_0^{1/3} - w_t^{1/3} = k_5 t$
(V)	Korsmeyer-Pepas	$\frac{M_{(t-l)}}{M_\infty} = a(t-l)^n + b$
(VI)	Hopfenberg	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - [1 - k_t(t-l)^n]$
(VII)	Baker-Lonsdale	$\frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = k_t$

Fonte: Adaptado de Costa; Lobo, 2001.

Vale destacar que os modelos mais comuns em sistemas de liberação são:

- Ordem zero - $Q_t = kt$ onde:

Q_t - Quantidade de fármaco liberado ao longo do tempo;

k - Constante de proporcionalidade de ordem zero;

t - Tempo.

- Primeira ordem - $\log Q_t = Kt$, onde:

Q_t - Quantidade de fármaco liberado ao longo do tempo;

k_l - Constante de proporcionalidade de ordem 1;

t - Tempo.

- Higuchi - $Q_t = k \cdot t^{1/2}$, onde:

Q_t – Quantidade de fármaco liberado ao longo do tempo;

k – Constante de proporcionalidade de Higuchi;

t – Tempo.

- Hixson-Crowell - $w_0^{1/3} - w_t^{1/3} = k_5 t$, onde:

W_0 – Quantidade inicial de fármaco na forma farmacêutica;

W_t – Quantidade restante de fármaco existente na forma farmacêutica no tempo t ;

k – Constante Hixon-Crowell – Relação superfície/volume;

t – Tempo.

- Korsmeyer-Peppas - $\frac{M_{(t-l)}}{M_\infty} = a(t-l)^n + b$, onde:

M_t/M_∞ - Liberação fracional;

l – Tempo até o início do processo de liberação;

a – Constante das características estruturais e geométricas da forma farmacêutica;

b – Efeito da liberação abrupta inicial.

t – Tempo.

- Baker-Lonsdale - $\frac{3}{2} \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = k_t$, onde:

M_t – Quantidade de fármaco liberado ao longo do tempo;

M_∞ - Quantidade de fármaco liberado ao longo do tempo infinito;

k – Constante de liberação correspondente ao declive da curva.

t – Tempo.

- Hopfenberg - $\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - [1 - k_t(t-l)^n]$, onde:

M_t – Quantidade de fármaco dissolvido no tempo;

M_∞ - Quantidade total de fármaco dissolvido quando a forma se desintegra por completo;

M_t/M_∞ - Fração de fármaco dissolvido;

K_t – Constante da taxa de erosão;

t – Tempo.

Os sistemas de liberação regidos por modelo de ordem zero ocorrem de forma lenta pois não sofrem com o processo de degradação. Dessa maneira, a representação gráfica da quantidade de fármaco liberado em função do tempo é linear, ou seja, uma reta. O perfil de liberação é independente da quantidade restante na formulação. Este modelo se aplica à liberação controlada e prolongada. (COSTA; LOBO, 2001).

Em geral, os sistemas regidos por modelos de primeira ordem podem descrever sistemas de pronta liberação (convencional) e de liberação modificada. Este modelo é

utilizado quando existe relação linear do logaritmo da quantidade de fármaco restante com o tempo (LIMA *et al.*, 2019; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; LOPES; LOBO; COSTA, 2005). Os dispositivos que seguem esse tipo de liberação, são aqueles onde a quantidade de fármaco liberado é proporcional a quantidade restante no interior do dispositivo.

O modelo de Higuchi descreve a liberação como um processo fundamentado na lei de Fick. Neste modelo há uma atenuação na taxa de liberação do fármaco com o tempo que é causada pelo aumento da distância que o solvente tem que percorrer até penetrar na matriz e entrar em contato com o fármaco. Este modelo é geralmente utilizado para fármacos poucos solúveis carregados em matriz sólidas ou semissólidas (HIGUCHI, 1963;).

O modelo de Hixson-Crowell descreve o processo de liberação de formas farmacêuticas, tais como comprimidos, em que a dissolução ocorre em planos paralelos à superfície do fármaco. Esse modelo assume que a taxa de liberação é limitada pela dissolução das partículas do fármaco e não pelo processo de difusão, que pode ocorrer através da matriz polimérica (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; COSTA; LOBO, 2001).

O modelo de Korsmeyer-Peppas relaciona a liberação do fármaco com o tempo de forma exponencial. Esse modelo é adequado para quando a liberação ocorre de modo unidimensional e que a relação largura/espessura ou comprimento/espessura seja de no mínimo 10. O modelo é geralmente aplicado a formas farmacêuticas poliméricas a fim de analisar a possibilidade de um ou mais sistemas de liberação estarem agindo concomitantemente (PEPPAS, 1985 apud MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

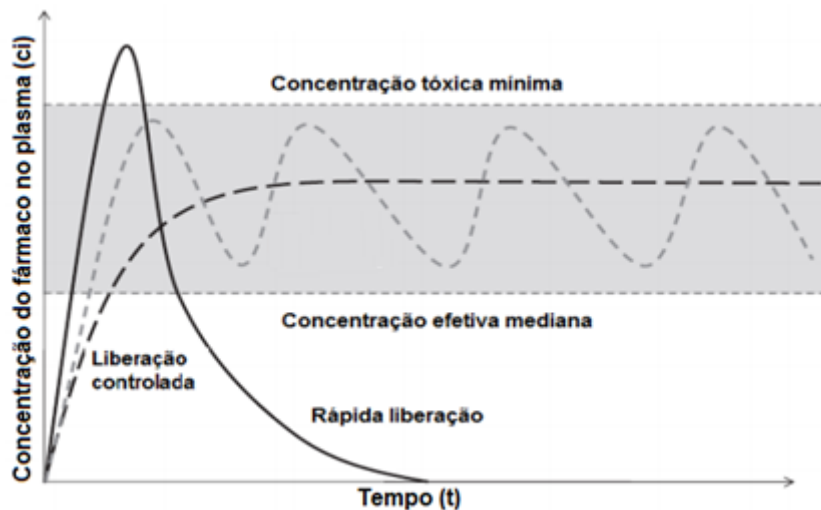
O modelo de Baker-Lonsdale foi concebido a partir do modelo de Higuchi para descrever a liberação controlada do fármaco a partir de uma matriz esférica (BAKER-LONSDALE, 1974 apud MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; COSTA; LOBO, 2001).

O modelo de Hopfenberg descreve a liberação de fármacos a partir do mecanismo de erosão. Este modelo é aplicado a variados perfis geométricos que sofrem erosão heterogênea. A limitação da liberação é a própria erosão da matriz e a difusão que depende do tempo (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

É possível classificar esses sistemas em tradicionais e controlados, porém dentro dessas classes ainda é possível subdividi-las em relação ao tempo, local de ação e objetivos. Os tradicionais, geralmente, são aqueles que o pico de concentração do fármaco é atingido em um intervalo de tempo muito próximo à administração e tem declínio rápido da concentração. A ação terapêutica provocada por esse tipo de administração é regida pela

dose utilizada, abaixo dessa o fármaco é ineficaz e acima é tóxico, conforme Figura 9 (LIMA *et al.*, 2019).

Figura 9: Perfis dos sistemas de liberação.



Fonte: Liecht, Kryscio, Slaughter, Peppas, 2010);

Os sistemas modificados são o foco de estudo atualmente, pois esse tipo de sistema necessita, obrigatoriamente, de tratamentos superficiais que garantam propriedades específicas que propiciem a interação com as células. As principais características desse tipo de sistema são a possibilidade de seccionar o medicamento, o controle da velocidade de liberação sem alteração da estrutura química, o monitoramento da taxa de liberação e a direção na qual o efeito farmacológico deve ser acionado (LIMA *et al.*, 2019). Por conseguinte, esse tipo de sistema acarreta a redução de problemas como subdosagem e sobredosagem e em possíveis efeitos colaterais (ANSEL *et al.* 2007;). Há diversas vantagens para o sistema de liberação modificada, conforme Tabela 11.

Tabela 11: Principais características dos sistemas de liberação controlada.

Vantagem	
Redução da flutuação dos níveis do fármaco	Velocidade de liberação elimina os picos e o vale da curva de liberação.
Redução da frequência de administração	É possível liberar mais que uma dose com apenas um implante.
Redução dos efeitos colaterais	Com a eliminação do pico, as chances de concentração tóxica diminuem.
Redução dos custos com a saúde	O custo inicial da produção do sistema é alto, porém o custo total do tratamento pode ser menor em função da eficácia terapêutica e do tempo de atenção requerido aos profissionais de saúde.
Maior conveniência	O paciente estará menos suscetível ao esquecimento de doses.

Fonte: Adaptado de ANSEL *et al*, 2007.

Ainda assim, é necessário atentar para as desvantagens do sistema de liberação modificada, como a redução da flexibilidade no ajuste da taxa de liberação da dose e da faixa terapêutica e a possibilidade de falha catastrófica, resultando na liberação súbita e integral do fármaco (ANSEL *et al.*, 2007; RESENDE, 2006).

Os sistemas de liberação modificada geralmente são controlados pela difusão, grau de inchamento ou erosão, entretanto atualmente os principais gatilhos de liberação são estímulos externos. Quando controlados pela difusão, o processo ocorre em função do gradiente de concentração, baseados na Lei de Fick. Quando do grau de inchamento, o processo ocorre conforme a flexibilidade do polímero após a absorção de um fluido e do volume livre gerado. Ao passo que a erosão trata principalmente de polímeros biodegradáveis. No sistema de liberação por estímulo, pode-se citar os gatilhos por temperatura, pH e presença de moléculas, a liberação só é iniciada após a ativação (LIMA *et al.*, 2019).

Os materiais poliméricos são a principal base dos sistemas de liberação atualmente estudados por serem capazes de ajustes que permitem atender às necessidades específicas de cada caso. Nas formulações utilizadas em sistemas de liberação convencional os polímeros são usados como mascaradores de odor e sabor, aglutinantes e diluentes. Por outro lado, nos sistemas modificados os polímeros são utilizados como hidrogéis responsivos, bioadesivos,

biomiméticos entre outros (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010; ZHANG, CHAN; LEONG, 2013).

O sistema de liberação de fármacos aplicados às matrizes poliméricas é regido por um coeficiente de difusão. Este coeficiente é geralmente influenciado por propriedades do polímero utilizado como matriz, como exemplo pode-se destacar o grau de cristalinidade, polaridade e intumescimento. A capacidade de intumescimento (variação de volume) é um dos principais critérios de escolha do polímero a ser utilizado, dependendo do caso a difusão pode não ocorrer seguindo a Lei de Fick ou a Lei de Noyes-Whitney. Polímeros termoplásticos, geralmente, seguem comportamento não-Fickiano, em contrapartida, elastômeros tendem seguir o comportamento descrito pela Lei de Fick. Desse modo, é possível estabelecer modelos matemáticos para avaliar o perfil de dissolução “*in vitro*”. Nos sistemas de liberação modificada, o comportamento é geralmente descrito por modelos dependentes (NARASIMHAN, 2014; COSTA; LOBO; 2001; RUELA, 2015).

Entre os anos de 2000 e 2010, os polímeros biodegradáveis surgiram como o principal material a ser utilizado como matriz para liberação controlada de fármacos. Uma das principais vantagens dos materiais biodegradáveis é que estes não manifestam o efeito de “*dose-dumping*”, que é a liberação integral de um medicamento causada por fatores ambientais (MALIKMAMMADOV *et al*, 2017).

Segundo Malikmammadov *et al.* (2017), o PCL atraiu a atenção e tornou-se uma das principais matrizes biodegradáveis para sistemas de liberação convencionais ou modificadas em função da biodegradabilidade, da biocompatibilidade e da baixa velocidade de degradação quando comparada a outros poliésteres alifáticos. A estabilidade do estado “borrachoso” à temperatura ambiente o faz mais apto para a aplicação em dispositivos de liberação. Na Tabela 12 têm-se alguns dispositivos PLC + Fármaco.

Tabela 12: Dispositivos PCL + Fármaco para aplicação biomédica.

Matriz	Tipo	Processamento	Fármaco	Fonte
PCL	Nanopartícula	Emulsificação- evaporação	Carboplatina	Alex <i>et al.</i> , 2016.
PCL	Nanopartícula	Extração líquido- líquido	Doxorrubicina	Davoodiet <i>al.</i> , 2016.
PCL /Ácido Hialurônico	Micela	Evaporação do solvente	Lipiodol	Chen <i>et al.</i> , 2017.
PEG/ PCL	Micela	Evaporação do co-solvente	Curcuma	Maet <i>al.</i> , 2007.
PCL	Microesfera	Emulsificação- evaporação	Doxiciclina	Ravalet <i>al.</i> ,2014.
PCL	Eletrofiação	Eletrofiação	Dexametosona	Hsuet <i>al.</i> , 2016.
PCL	Eletrofiação	Eletrofiação	Ampicilina	Sultanovaet <i>al.</i> , 2016.
PCL	Filme	<i>Solvent Casting</i>	Células tronco (hAMC)	Romagnoliet <i>al.</i> , 2015.

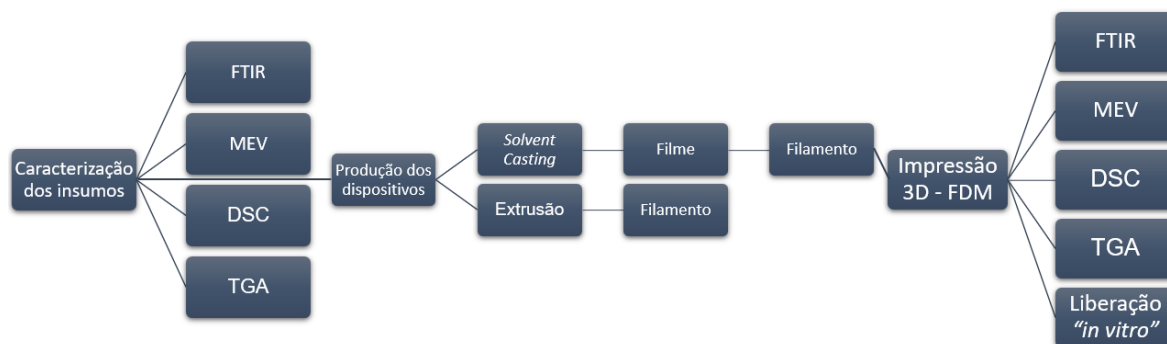
Em 2016, Alex *et al.* estudou a utilização de nanopartículas de PCL em sistemas de liberação por via intranasal. Os testes “*in vitro*” resultaram em um perfil aproximado a Korsmeyer-Peppas, que pode ser graficamente representado pelo percentual acumulado de fármaco pelo tempo. Baseado nos resultados obtidos pelos autores, o comportamento da liberação tem uma fase inicial (primeira hora) convencional, seguido pelo perfil de liberação controlado durante 72 horas. O período de liberação controlada é justificado pela baixa taxa de difusão em razão da elevada lipofilicidade da matriz polimérica. A partir do modelo de Korsmeyer-Peppas, o valor do expoente de liberação encontrado foi de 0,5321. Uma vez que o coeficiente $n > 0,5$, é possível assumir que o modelo é não-Fickiano, ou seja, a difusão ocorre concomitantemente com a erosão.

4 Materiais e Métodos

A metodologia desta dissertação consiste na análise e preparação de filamentos por extrusão, matrizes por *solvent casting* e “*scaffolds*” por FDM utilizando como insumo os filamentos PCL com atorvastatina, bem como a utilização como sistemas de liberação controlada.

Neste capítulo serão apresentados os materiais utilizados para a produção do filme, do filamento e do “*scaffold*” e a metodologia para a produção, ensaios e análises. A Figura 10 apresenta o fluxograma do procedimento experimental do trabalho.

Figura 10: Fluxograma do procedimento realizado no presente trabalho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.1 Materiais

Para a produção dos filamentos, foram utilizados: *pellets* (grânulos) de policaprolactona (Polymorph Mw 60.000,00); atorvastatina em forma de pó (doada pela FIOCRUZ) e o solvente Clorofórmio P.A. A.C.S. (estabilizado com amileno) 100% (Labsynth).

4.2 Metodologia

4.2.1 Solvent Casting

Inicialmente, solubilizou-se 2,4 g de Atorvastatina (ATV) em 75ml de clorofórmio, em seguida, adicionou-se 20g de PCL e homogeneizou-se sob agitação magnética e aquecimento intermitente à 30°C por 4h horas com a ajuda de um bastão de vidro. Alíquotas de 10 ml da solução foram vertidas em placas de petri para a evaporação do solvente e solidificação da matriz. Após a solidificação as matrizes foram acondicionadas em placas de petri protegidas e mantidas em estufa.

4.2.2 Extrusão – Filamento

Os filamentos foram preparados por dois métodos distintos: A primeira rota consistiu na mistura física de 20g de PCL (*pellets*) com 2,4g ATV. A extrusora Filmaq3D STD – Brasil (Laboratório de Desenvolvimento de Materiais – LADEMAT – IT/DEQ/UFRRJ), com temperatura da única zona de aquecimento configurada em 80°C e os insumos foram separadamente vertidas no funil de alimentação e misturadas e fundida pela ação de rotação da monorosca.

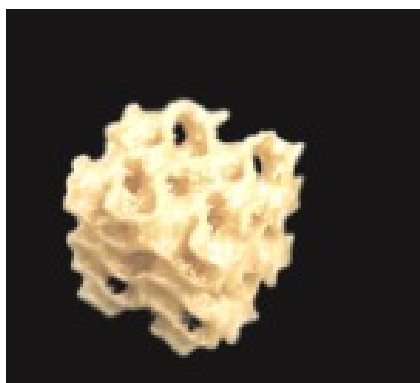
A segunda rota de processamento teve como ponto de partida a utilização dos filmes de PCL/ATV produzidas por “*solvent casting*” como insumo para produção do filamento, que foram inicialmente cortados e posteriormente, adicionados no funil da extrusora, com temperatura da única zona de aquecimento configurada em 69°C.

As amostras produzidas foram nomeadas como PCLf (filamento de PCL), e PCL_ATVfd (filamento de PCL/ATV obtido através da mistura direta dos sólidos) e PCL_ATVf (filamento de PCL/ATV obtido através da mistura preparada por casting).

4.2.3 Impressão 3D – FDM

O filamento PCL_ATVfd produzido pelo processo de extrusão foi o utilizado no processo de impressão de 3D. A impressora CTC Dual MK8 foi utilizada para impressão dos “*scaffolds*” PLC/ATV com temperatura de 90°C. A geometria da giróide foi planejada com dimensões de 78x80x78 mm, totalizando 486,72 mm³ de volume, volume construído de 113,99 mm³, resultado em um volume de poros de 76,58 %. Um modelo do “*scaffolds*” impresso é apresentado na Figura 11.

Figura 11: Geometria do “*scaffold*” – Fotografia de “*scaffold*” produzido no Laboratório de Desenvolvimento de Materiais.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2.4 Espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia busca analisar a interação da radiação eletromagnética com a amostra e é de fundamental importância para determinação estrutural. A técnica de FTIR consiste na utilização de radiação eletromagnética para identificar grupos funcionais de compostos a partir de movimentos vibracionais característicos (BENETTI, 2014; CANEVAROLO, 2006). As moléculas de um composto possuem uma frequência vibracional própria. No momento em que a radiação utilizada tem a mesma frequência que o campo elétrico gerado pela amostra, a interação ocorre e a radiação é absorvida.

O PCL, a atorvastatina e as interações PCL/ATV foram analisadas em espectrofotômetro com Transformada de Fourier na região do infravermelho Bruker, modelo Vertex 70 com Platinum ATR (refletância total atenuada) no Laboratório de Química Orgânica IQ/UFRRJ, e sob condições de 4 cm^{-1} de resolução, faixa de número de onda de $4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$ e 64 varreduras.

4.2.5 Calorimetria Diferencial de Varredura – DSC

DSC é uma técnica termoanalítica utilizada para identificar mudanças nas propriedades térmicas de um material. A técnica consiste em mensurar a variação do fluxo de calor em comparação a um material de referência inerte na faixa de temperatura analisada.

A amostra e a referência são submetidas a uma varredura térmica a fim de identificar reações químicas que possam acarretar a absorção ou liberação de calor. A análise fornece termogramas que apresentam picos positivos referentes a reações exotérmicas e picos negativos referentes a reações endotérmicas. O DSC é utilizado na indústria farmacêutica na determinação de pureza dos fármacos, análise de compatibilidade entre os componentes e na identificação de polimorfismo.

O comportamento da fusão do PCL, da ATV e da formulação PCL+ATV foram analisadas em um calorímetro DSC 250, TA Instruments, Brasil – Laboratório de Micro e Nanotecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, utilizando taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 30°C até atingir 300°C .

4.2.6 Análise Termogravimétrica – TGA

A análise termogravimétrica é uma técnica de análise usada na determinação de variação positiva ou negativa da massa sob variação de temperatura. É possível obter dados

sobre os processos que envolvem perda ou ganho de massa como evaporação, oxidação e decomposição.

As análises foram realizadas em um analisador TA Instruments, modelo 550, Brasil – Laboratório de Micro e Nanotecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ a fim de verificar a estabilidade térmica das amostras. A análise foi realizada em atmosfera de nitrogênio a uma taxa de aquecimento de 20°C/min de 30°C até atingir 600°C em cadinho aberto de alumínio.

4.2.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

Na técnica de microscopia eletrônica de varredura utiliza-se um feixe de elétrons para varrer a superfície de uma amostra que gera uma imagem com grande riqueza de informações. O equipamento, geralmente, utiliza um filamento de tungstênio (W) aquecido como fonte do feixe de elétrons, que é operado numa faixa de 1 a 50kV. A técnica gera raios-X, elétrons retroespalhados e secundários que são coletados por detectores adequados e convertidas em um sinal de imagem (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

Os dispositivos foram analisados antes e depois do ensaio de liberação “*in vitro*” a fim de identificar alterações na superfície em função da liberação de fármaco e do processo de degradação do polímero.

As análises por microscopia eletrônica de varredura foram realizadas em microscópio FEI, Quanta FEG 450, instalado no Centro de Caracterização em Nanotecnologia para Materiais e Catálise (CENANO) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT), vale destacar que as amostras foram submetidas a um processo de metalização com platina por não serem condutores, com aumento, tensão de 15kV-20kV e o EDS realizado com detector OXFORD, modelo X-MAX com detector de 20mm².

4.2.8 Ensaio de liberação “in vitro”

Para avaliar a taxa de liberação do fármaco, os filamentos e os “*scaffolds*” foram submetidos a um ensaio de liberação “*in vitro*” por quantificação de absorvância analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis Spectrophotometer Kasuaki, modelo IL-593-S. Os filamentos foram avaliados em 2 ensaios: O primeiro consistiu na imersão de amostras de filamento de 6 cm de comprimento em 25 ml de solução tampão fosfato (pH 7,4), com

agitação e temperatura constante de 37 °C. Este ensaio teve duração de 8 horas com análises realizadas em intervalos de 60 min.

O segundo consistiu na imersão de amostras de filamento de 6 cm de comprimento em 10 ml de solução tampão fosfato (pH 7,4), sem agitação e realizada a temperatura ambiente. Este ensaio teve duração de 20 dias com análises realizadas em intervalos de 24 horas.

Os “*scaffolds*” foram imersos em 15ml de PBS (pH 7,4), com agitação e temperatura constante de 37 °C. Este ensaio teve duração de 8 horas com análises realizadas em intervalos de 60 min.

5 Resultados e Discussões

No presente trabalho foram produzidos filamentos de PCL e ATV por dois métodos distintos. O primeiro método envolveu a produção do filamento pela combinação dos materiais na forma sólida e o segundo envolveu a produção do filamento a partir de uma mistura de PCL e ATV obtida por *solvent casting*.

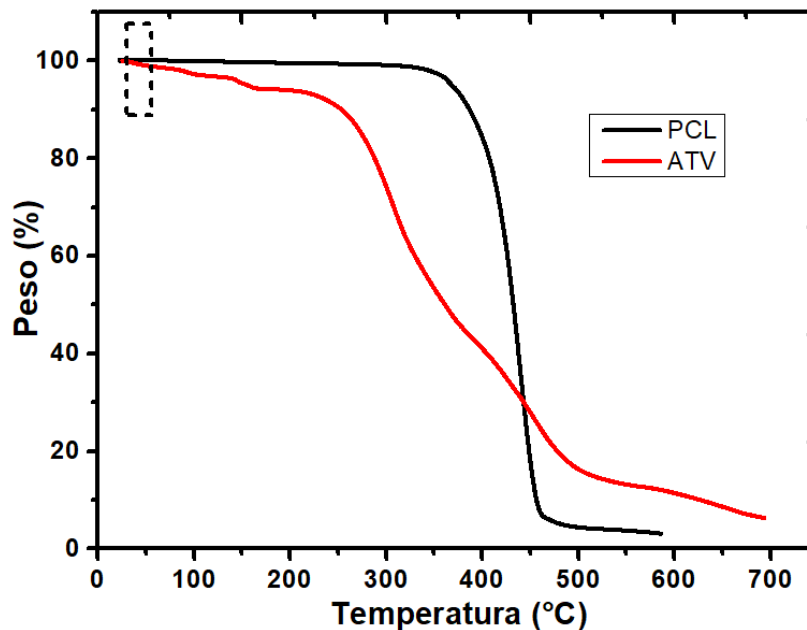
Para a determinação das condições da produção dos filamentos por HME foram utilizados os dados de análise térmica dos materiais puros (item 5.1). Com o objetivo de comparar a viabilidade dos métodos 1 e 2 as amostras foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM). As amostras mais homogêneas foram submetidas à análise térmica, análise de FTIR e a estudos de liberação por UV-vis. Além disso, apenas as amostras consideradas homogêneas tiveram sua aplicação testada utilizando a técnica FDM.

5.1 Análise térmica do PCL e da ATV para determinação da janela de operação na produção por HME

A Figura 12 mostra as curvas de TGA do PCL e da ATV. De acordo com a curva obtida para o PCL, o início da degradação térmica desse polímero ocorre em torno de 390 °C e a temperatura final de degradação foi de aproximadamente 480 °C. Trabalhos encontrados na literatura mostram que a degradação do PCL começa em 390 °C e a temperatura final é em torno de 495 °C. Resultados similares foram observados por Silva *et al* (2021) e Almeida *et al* (2021).

A atorvastatina é tri-hidratada (KIM *et al*, 2008) e, segundo a literatura apresenta três regiões de perda massa. Os resultados obtidos indicam a ocorrência dessas regiões. A primeira, em torno de 75 °C, pode ser atribuída a perda de água (KIM *et al*, 2008). A segunda em torno de 150 °C é relacionada a perda de água de hidratação (SHETE *et al*, 2010).

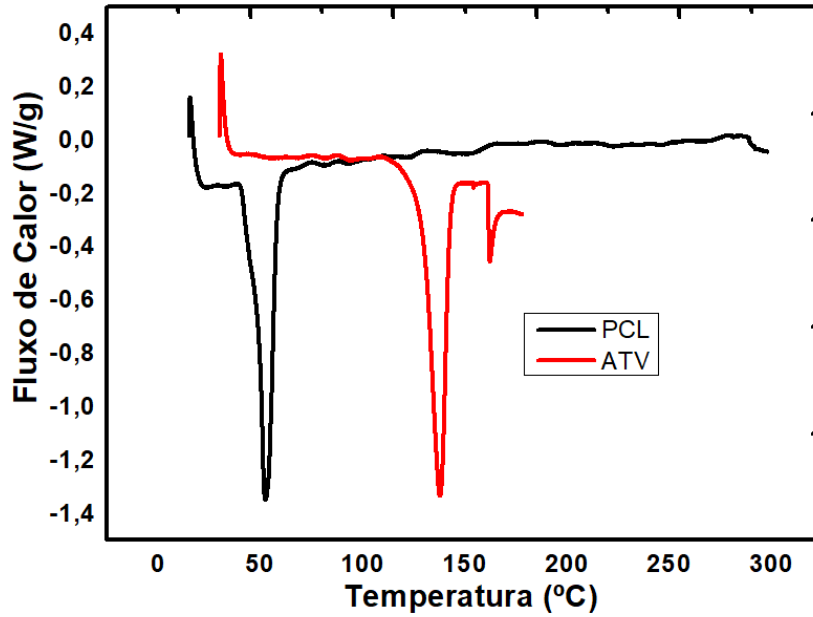
Figura 12: Curvas de TGA do (a) PCL e ATV.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 13 mostra as curvas de DSC do PCL e ATV. De acordo com a curva obtida para o PCL, este polímero apresenta apenas uma transição térmica em torno de 58 °C correspondente a fusão. Para o PCL não foi registrada a temperatura de transição vítrea. A atorvastatina apresentou dois eventos térmicos. O primeiro em torno de 150°C e o segundo em torno de 160 °C, conforme Choudary *et al*, 2012, Jahangiri *et al*, 2015 e Sonje *et al*, 2010). Segundo a literatura, a atorvastatina apresenta um evento térmico entre 75 °C-125 °C que é atribuído a perda das moléculas de água, uma vez que a atorvastatina é tri-hidratada. E outro evento em 158,8 °C correspondente a fusão da ATV (ZHANG *et al*, 2009).

Figura 13: Curvas de DSC do (a) PCL e ATV.

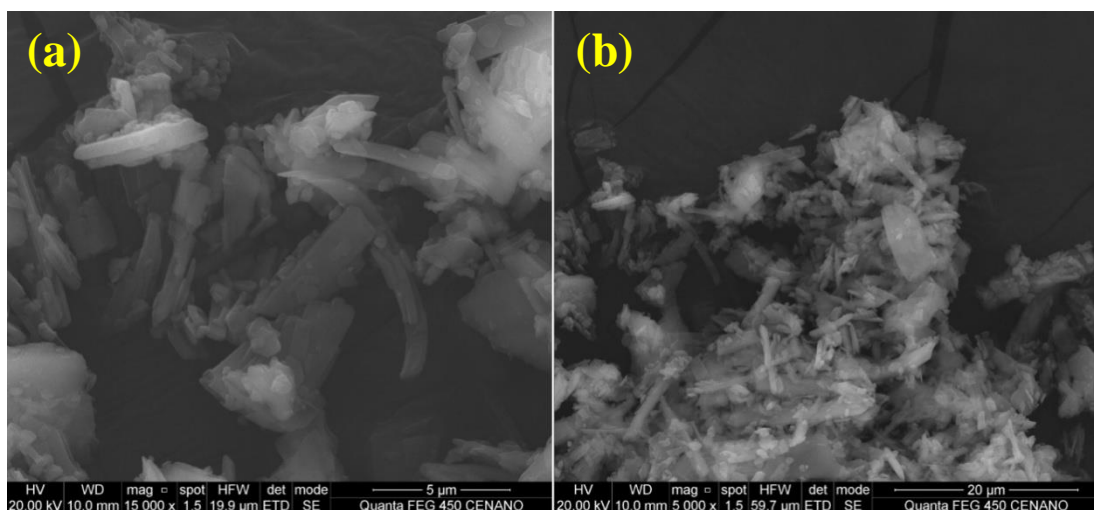


Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2 Análise morfológica dos filamentos obtidos pelas método 1 e pelo método 2

A Figura 14 mostra a fotomicrografia obtida por SEM da atorvastatina. É possível observar que a morfologia do fármaco é similar a grãos de variados tamanhos. Com aumento de 15000 vezes (Figura 14a) pode-se observar que algumas partículas se assemelham a agulhas.

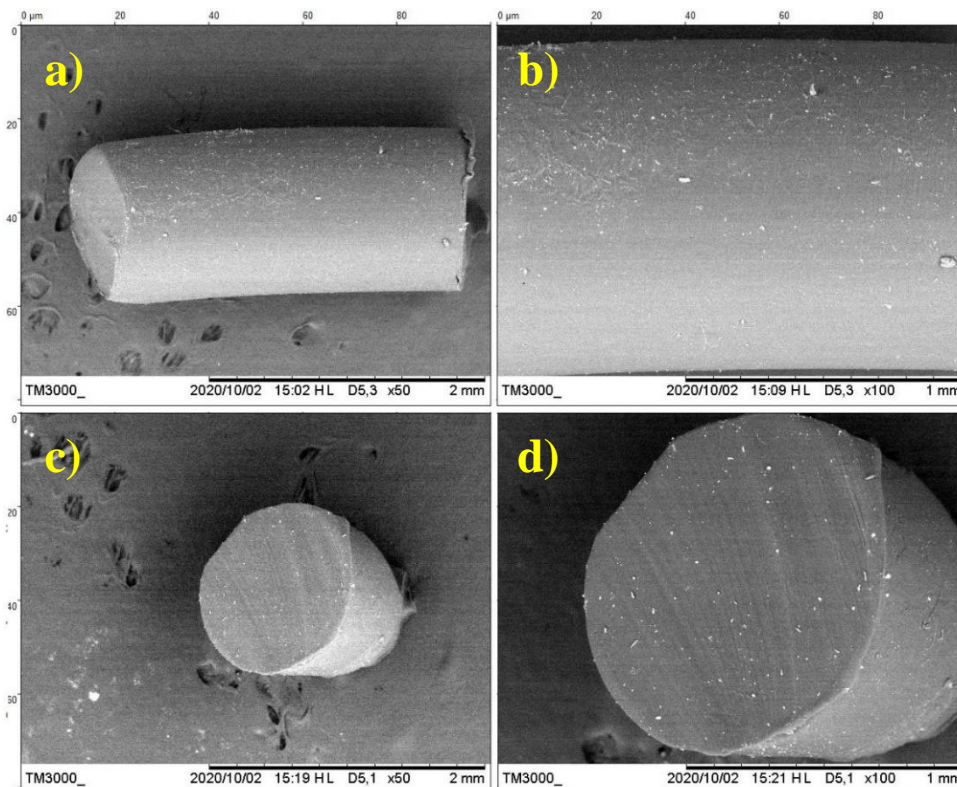
Figura 14: Microscopia eletrônica de varredura da atorvastatina: (a) Aumento de 15000x; (b) Aumento de 5000x.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As fotomicrografias do filamento de PCL puro produzidos pelo método 1, são apresentadas na Figura 15. É possível observar que o filamento obtido é uniforme, entretanto na superfície há regiões com fragmentos de PCL que parecem não ter fundido durante a extrusão. Esses fragmentos podem ser resíduos de *pellets* que não foram misturados com a eficiência necessária (LIU *et al*, 2018). Uma vez que a temperatura utilizada no processo de extrusão foi de 80 °C, isto é, muito próximo da T_m do PCL, é possível que nem todo o PCL tenha atingido a fusão.

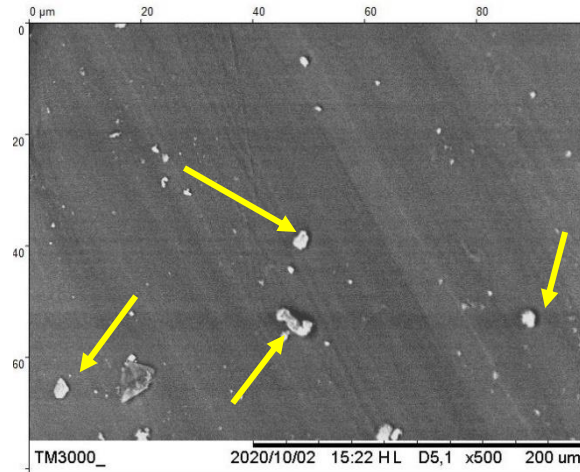
Figura 15: Fotomicrografia do filamento de PCL puro, a) e b) superfície lateral e c) e d) superfície de fratura.



Fonte: Elaborada pelo autor.

É possível verificar pela Figura 16, a presença de fragmentos de PCL que não fundiram completamente, o que corrobora a hipótese descrita anteriormente.

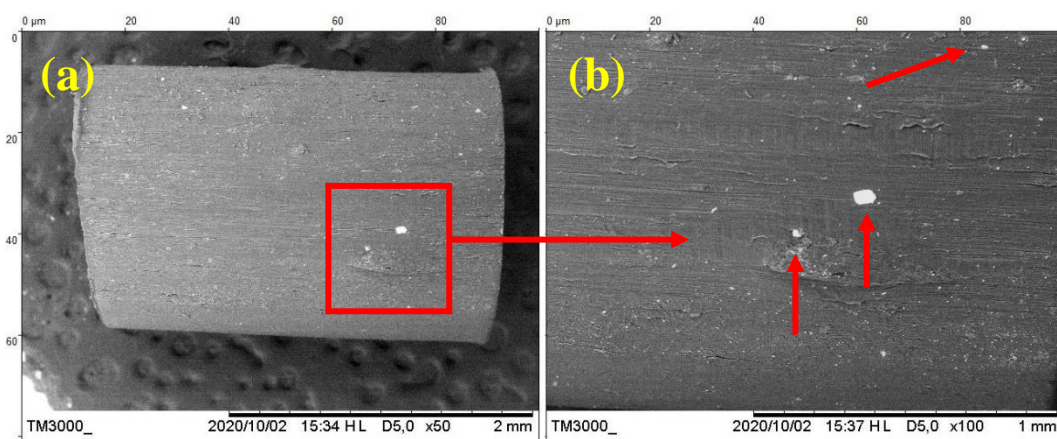
Figura 16: SEM da superfície de fratura do filamento de PCL puro com aumento de 500x.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As fotomicrografias do filamento PCL_ATVfd preparados a partir do filme posteriormente extrudado são apresentadas na Figura 17. Foi possível observar que a atorvastatina não foi distribuída uniformemente, há pontos do filamento na qual é possível encontrar aglomerados do fármaco (detalhe Figura 17b). Durante o processo de mistura do fármaco no polímero, é possível que as partículas tenham se aglomerado. Seguido do processo de extrusão, onde a ação da rosca sobre os *pellets* PCL/ATV pode não ter sido eficiente a ponto de desagregar e misturar as partículas de atorvastatina.

Figura 17: SEM da superfície do filamento PCL_ATVfd (a) com aumento de 50x e (b) com aumento de 100x.

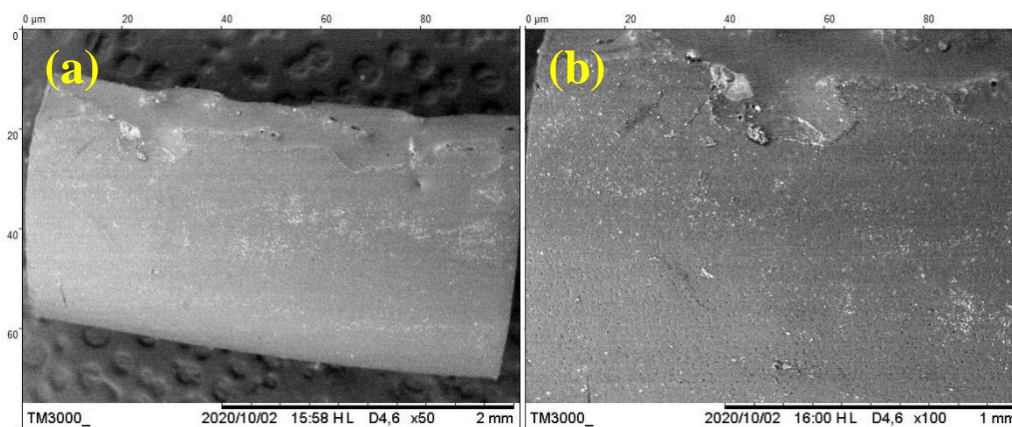


Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 18 mostra uma região distinta do mesmo filamento de PCL_ATVfd. Nota-se que nesta região não há presença de aglomerados de fármaco, porém é possível ver que a

superfície do filamento não é uniforme como na região mostrada anteriormente. Essa variação na topografia pode ser explicada pelo gradiente de temperatura entre a câmara de aquecimento e o bocal da extrusora, a diferença de temperatura pode fazer com o que o polímero não seja aquecido uniformemente o que acarreta deformações na superfície do filamento (LIU *et al*, 2018).

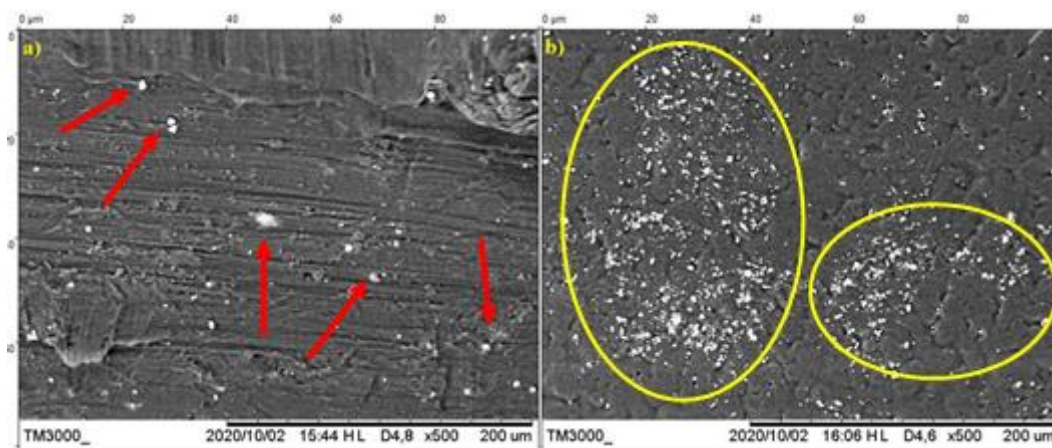
Figura 18: SEM da superfície da região A2 do filamento PCL_ATVfd: (a) com aumento de 50x e (b) com aumento de 100x.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As fotomicrografias dos filamentos de PCL_ATVfd em duas regiões distintas são apresentadas na Figura 19. Percebe-se que na Figura 19a há a presença de aglomerados em alguns pontos da amostra. Enquanto que na Figura 19b é possível observar que o fármaco está mais distribuído, há regiões com maiores concentrações de atorvastatina, mas não há presença de “grãos” de fármaco.

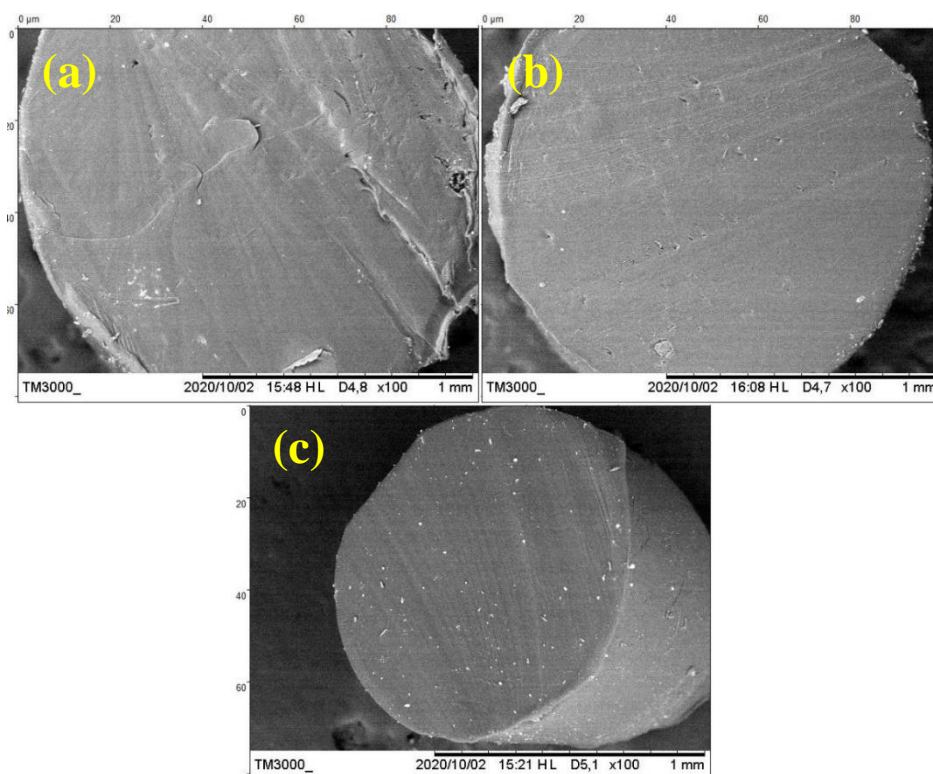
Figura 19: SEM das superfícies de regiões distintas do filamento PCL/ATV com aumento de 500x.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As fotomicrografias das superfícies de fratura dos filamentos (a) Região 1 PCL/ATV, (b) Região 2 PCL/ATV e (c) polímero puro são apresentadas na Figura 20. É possível observar que na Figura 20 (a) há a presença de fármaco no canto inferior esquerdo do filamento.

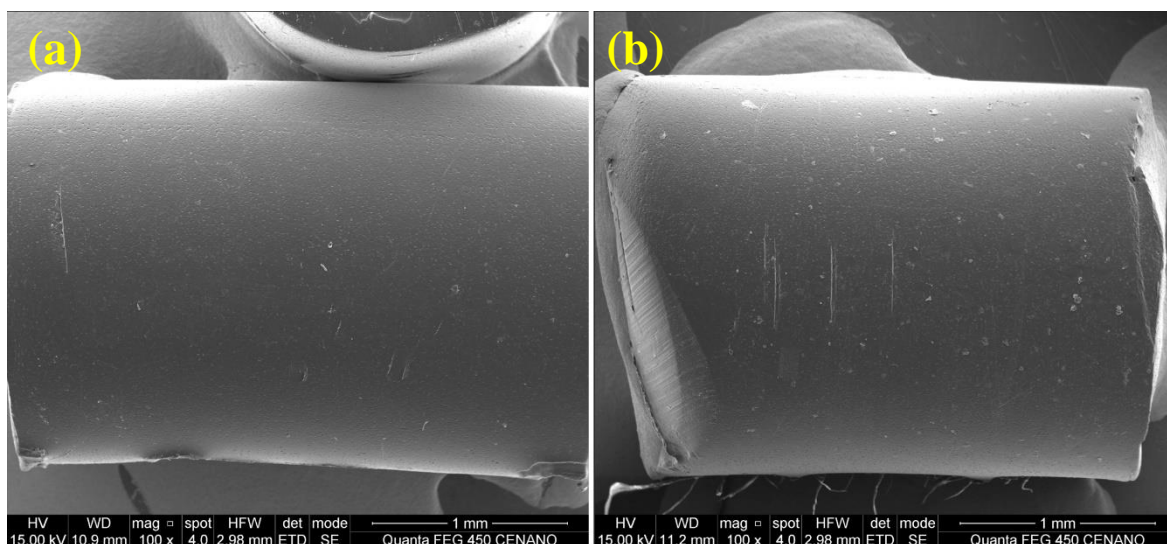
Figura 20: SEM das superfícies de fratura do filamento PCL/ATV (a) região 1 com aumento de 100x e (b) região 2 com aumento de 100x e do (c) filamento PCL puro com aumento de 100x.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As fotomicrografias do filamento PCL/ATV preparados a partir das matrizes produzidas por *solvent casting* são apresentadas na Figura 21. É possível observar que em comparação com filamento apresentado anteriormente, pode-se dizer que a superfície é mais uniforme e não são encontrados agregados de fármaco nesta superfície. Com isso é possível inferir que o fármaco está homogeneamente disperso na matriz polimérica. Além disso, a Figura 21 apresenta a comparação do filamento de PCL com o PCL/ATV e é possível perceber que o processo de *solvent casting* tornou o filamento carregado com ATV tão uniforme quando o de PCL puro.

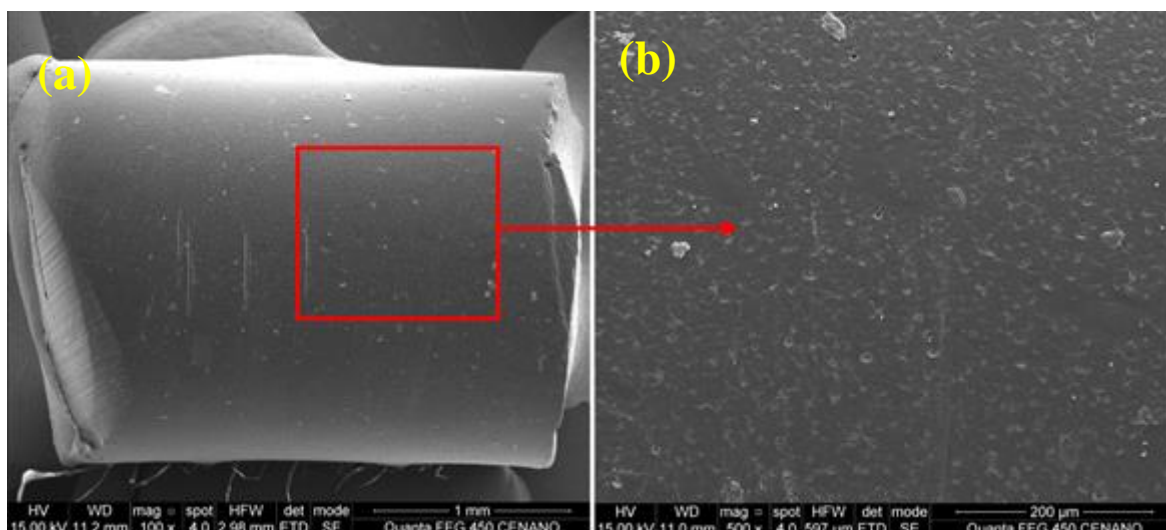
Figura 21: SEM: (a) Filamento de PCL; (b) Filamento de PCL_ATVf.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 22 mostra o detalhe do filamento de PCL/ATV e na Figura 26 é possível ver a superfície de fratura, é possível observar que mesmo com o aumento de 500x não é possível identificar agregados de ATV na superfície.

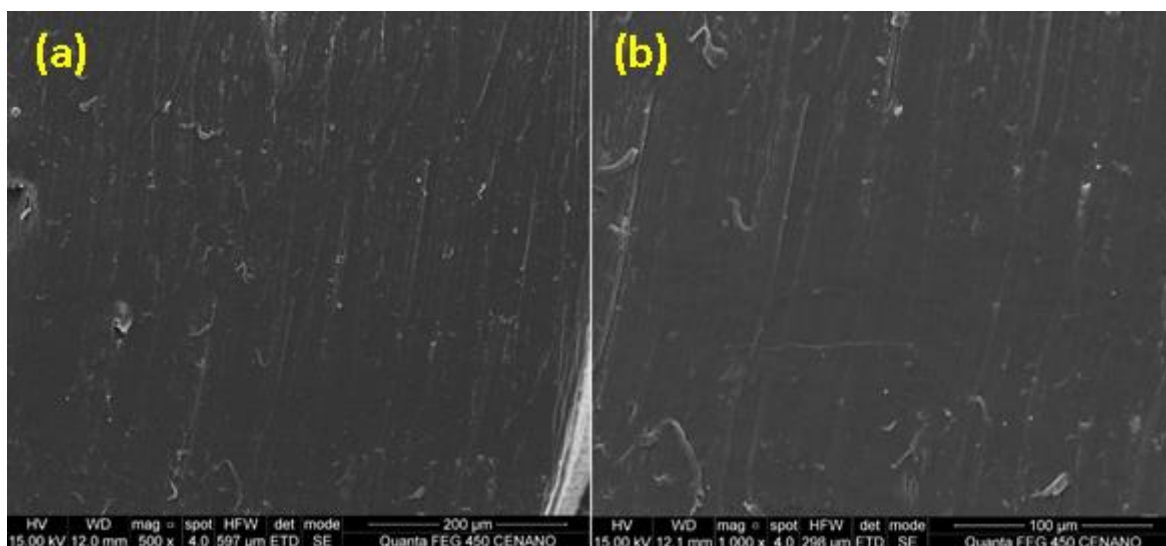
Figura 22: SEM: (a) Filamento PCL_ATVf com aumento de 100x; (b) Detalhe do filamento com aumento de 500x.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Na superfície de fratura não é possível observar a presença de aglomerados, conforme mostrado na Figura 23. As marcas presentes na superfície de fratura podem ser explicadas pelo modo de preparo da amostra, que foi cortada com um bisturi cirúrgico. Em razão da maleabilidade do PCL, há a formação dessas marcas.

Figura 23: Superfície de fratura: (a) Filamento de PCL puro; (b) Filamento de PCL_ATV.

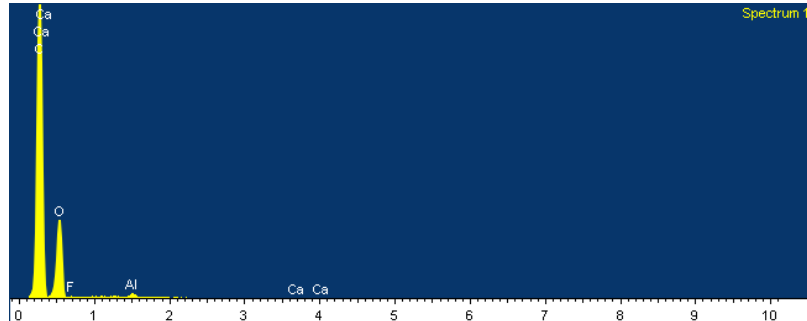


Fonte: Elaborada pelo autor.

As amostras PCLf PCL_ATVf e o fármaco foram submetidos a análise quantitativa por EDS, cujo espectros são apresentados nas Figuras 24, 25 e 26, respectivamente. O

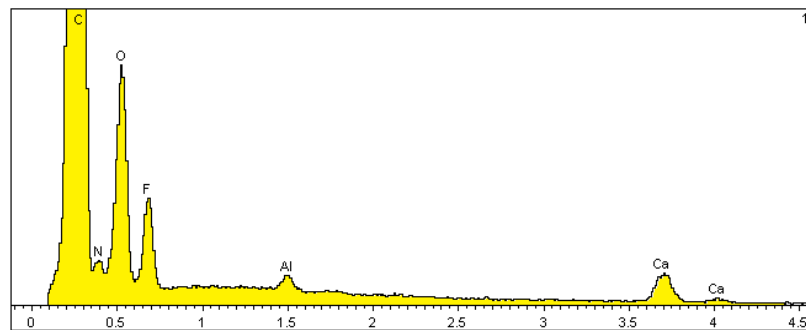
PCL_ATVfd, não foi analisado por esta técnica por não apresentar uma boa distribuição do fármaco na matriz.

Figura 24: EDS do filamento de PCL puro.



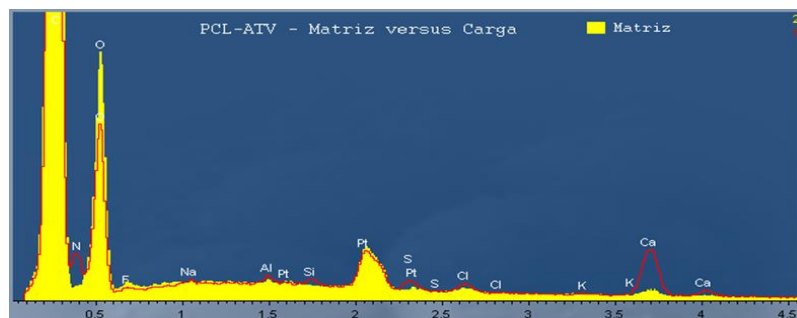
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 25: EDS da atorvastatina.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 26: EDS do filamento de PCL/ATV.



Fonte: Elaborada pelo autor.

No espectro da ATV é possível observar a presença dos elementos carbono, oxigênio, flúor, nitrogênio e cálcio. Segundo a literatura a fórmula empírica da atorvastatina cálcica é $(C_{33}H_{34}FN_2O_5)_2Ca \cdot 3H_2O$, assim pode-se afirmar que os elementos característicos

encontrados no EDS são os mesmos presentes na atorvastatina cálcica (ANTÔNIO, 2010; SONJE *et al.*, 2010). No espectro de EDS do filamento de PCL puro foram encontrados elementos carbono e oxigênio.

Na análise dos filamentos de PCL/ATV foi possível observar a presença dos elementos característicos da ATV. Os picos têm menor intensidade em razão do fármaco estar disperso na matriz polimérica. Observou-se que, na obtenção dos mapas de EDS em pontos de aglomerados de atorvastatina, os picos de cálcio (Ca), flúor (F) e nitrogênio (N) são mais intensos. Vale destacar que é possível garantir a presença do fármaco no filamento pelos resultados encontrados no EDS, uma vez que comparando as fotomicrografias dos filamentos de PCL e PCL/ATV não é possível distingui-los visualmente. Além disso, observou-se que em alguns pontos dos filamentos os elementos cloro, silício, ferro e alumínio foram encontrados. Esses resíduos foram encontrados em pequenas quantidades. O cloro justifica-se pela utilização do solvente clorofórmio utilizado para preparação dos filmes. Enquanto o silício, o ferro e o alumínio, provavelmente, são resíduos da estrutura e parafuso da extrusora monorosca utilizada para obtenção do filamento.

5.1 Análise Química do PCL_ATVf

As amostras de filamento de PCL puro, da atorvastatina e do filamento de PCL/ATV foram analisadas por FTIR e os espectros são apresentados nas Figuras 27, 28 e 29. O espectro do PCL apresenta bandas características de acordo com as encontradas na literatura.

Os grupos mais importantes identificados foram a carbonila pertencente ao grupo éster da policaprolactona com número de onda de 1727 cm^{-1} . Também há o alongamento da ligação CH_2 , assimétrico a 2951 cm^{-1} e simétrico a 2854 cm^{-1} , o alongamento da ligação COC, assimétrico a 1237 cm^{-1} e simétrico a 1104 cm^{-1} , além dos alongamentos das ligações C-O e C-C em 1297 cm^{-1} , como mostrado na Tabela 13, e na Tabela 14 são mostradas as principais bandas da atorvastatina(SILVA *et al.*, 2016; GÓMEZ-LIZÁRRAGA *et al.*, 2017; LAKSHMI NARASIAH *et al.*, 2010).

Tabela 13: Bandas características do PCL.

Posição (cm-1)	Atribuição
2951	Alongamento assimétrico CH ₂
2854	Alongamento simétrico CH ₂
1727	Alongamento da carbonila
1297	Alongamento das ligações C-O e C-C (Fase cristalina)

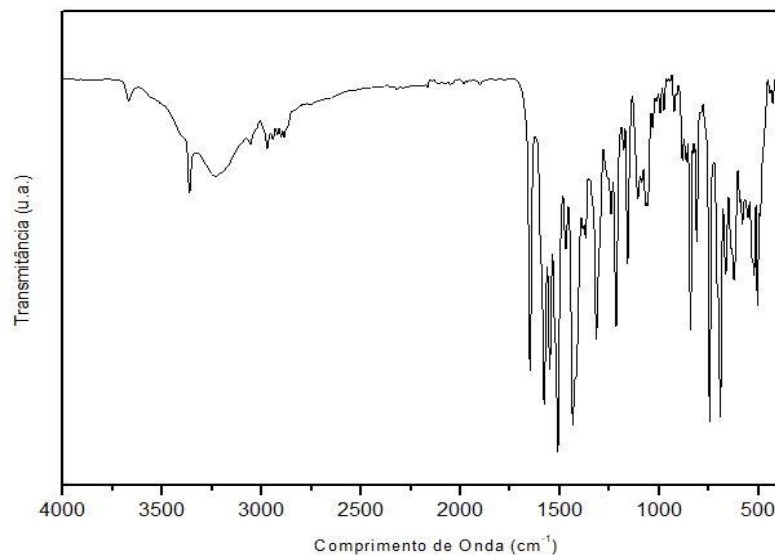
1237	Alongamento assimétrico COC
1166	Alongamento OC-O
1104	Alongamento simétrico COC
1043	Alongamento das ligações C-O e C-C (Fase amorfa)

Tabela 14: Bandas características da Atorvastatina

Posição (cm-1)	Atribuição
3361	Estiramento da ligação OH
3237	Estiramento da ligação NH
2953	Estiramento da ligação CH ₃
2873	Estiramento da ligação CH
1646	Deformação axial da ligação C=O de amida
1575	Deformação angular da ligação N-H
1433	Alongamento simétrico COC

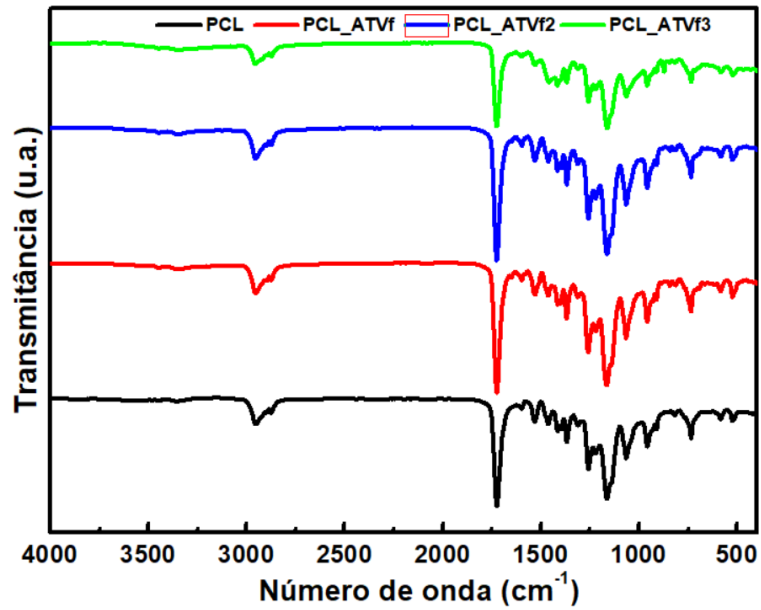
Observa-se que não houve mudanças significativas nas características do PCL e da ATV durante o processo de produção do filamento, uma vez que os espectros do polímero puro e do filamento PCL/ATV tem picos com valores bem próximos dos encontrados na literatura, com deslocamento pequeno nos valores das bandas (ZANETTI *et al.* 2019). Também não foi observado a formação de novas ligações além daquelas encontradas no polímero.

Figura 27: Espectro de FTIR da Atorvastatina.



Fonte: Elaborada pelo autor.

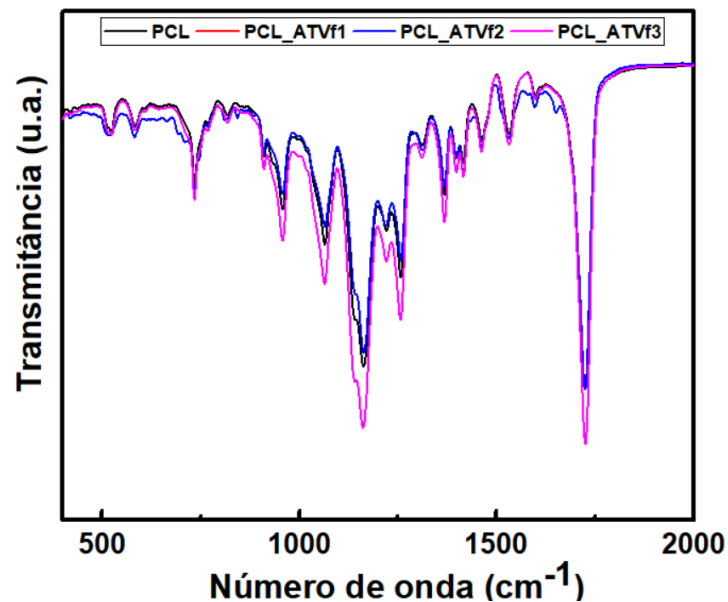
Figura 28: Espectro de FTIR do polímero puro (PCL) e das regiões PCL_ATVf1, PCL_ATVf2 e PCL_ATVf3 do filamento de PCL/ATV.



Fonte: Elaborada pelo autor.

É possível observar na Figura 28 que há variação na intensidade dos picos, o que pode ser explicado pela proporção dos componentes na mistura (PCL/ATV).

Figura 29: Sobreposição dos espectros de FTIR do polímero puro e do filamento de PCL/ATVf.



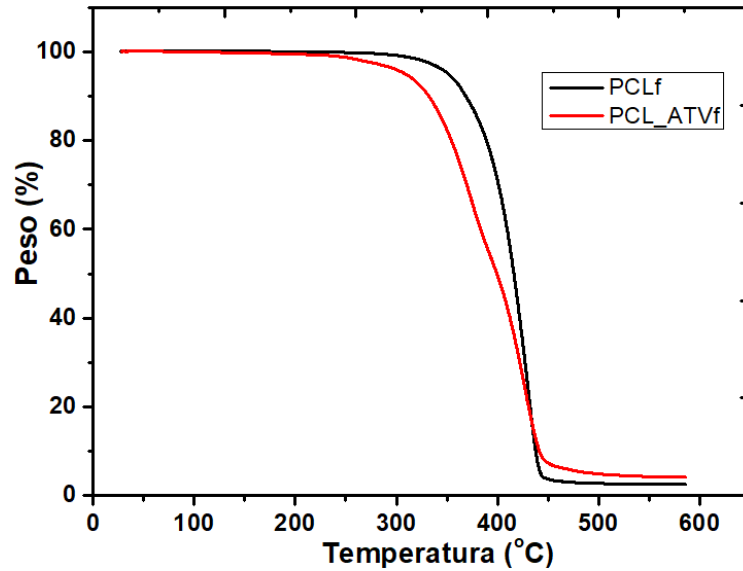
Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2 Análise térmica do PCL_ATVf

Na Figura 30, 31 e 32 são mostradas as curvas de TGA, DTG e DSC dos filamentos

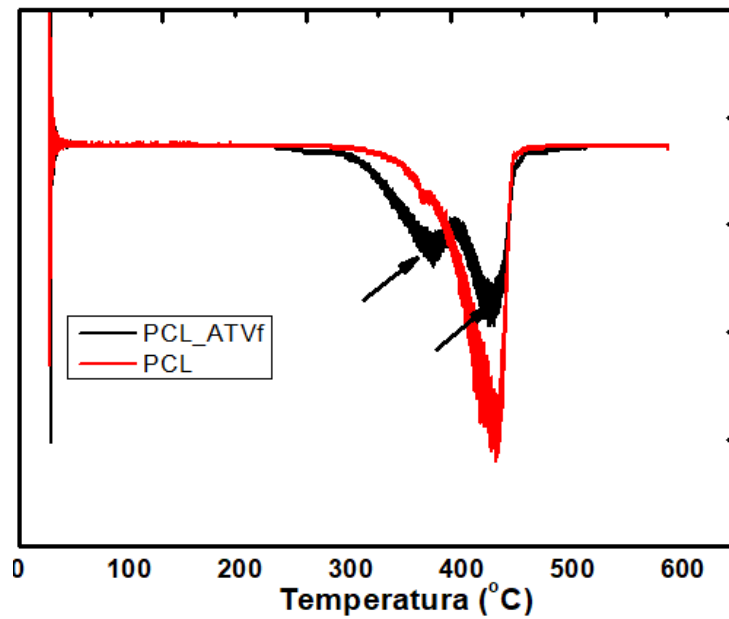
de PCL e dos filamentos PCL_ATVf. De acordo com as curvas de TGA e DTG é possível observar que o filamento incorporado com ATV tem o início da degradação em temperatura menor que o do filamento puro.

Figura 30: Curvas de TGA do filamento de PCL e do filamento de PCL_ATVf.



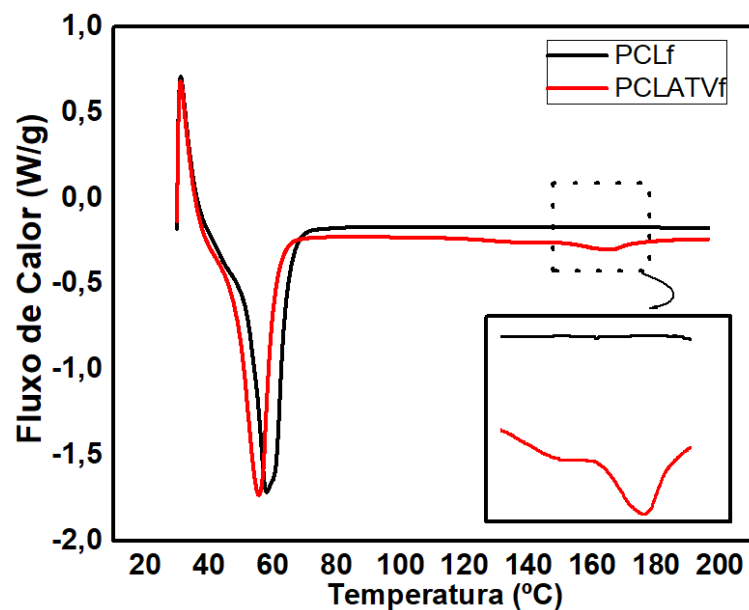
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 31: Curvas de DTG do filamento de PCL puro e do filamento de PCL_ATVf.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 32: Curvas de DSC do PCL; da ATV; do filamento de PCL e do filamento de PCL_ATVf.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 32 apresenta as curvas de DSC dos filamentos de PCL puro e dos PCL_ATVf. A curva do PCL mostra apenas uma transição térmica em torno de 58 °C. Na curva do filamento de PCL incorporado com ATV (PCL_ATVf) mostra dois picos endotérmicos. O primeiro em torno de 60 °C referente ao polímero e o segundo começando aproximadamente na faixa de 100 °C a 140 °C referente a perda de voláteis. Vale destacar o pico em 160 °C referente a fusão/degradação da atorvastatina. Este pico indica a presença da atorvastatina dispersa na matriz polimérica de PCL.

Os dados reforçam a hipótese de a atorvastatina estar solubilizada na matriz polimérica, tanto que não é possível observar partículas na superfície da matriz, conforme Figura 22. Vale destacar que uma das principais vantagens da utilização da HME é a redução da cristalinidade que resulta no aumento da biodisponibilidade (STANKOVIC *et al.*, 2015), A Tabela 15 mostra a comparação dos dados do ΔH de fusão dos insumos com o filamento PCL_ATVf, é possível observar a redução da entalpia de fusão da ATV. Segundo Byrard (2005) a inexistência de um pico referente a fusão do fármaco pode indicar que a este é disperso na matriz. Também é possível observar redução no ΔH de fusão do PCL, ou seja, redução da cristalinidade, em razão da presença intracadeia. Segundo Silva (2016), avaliou a compatibilidade do fármaco ATV com diversos excipientes e foi observado a redução da

temperatura dos dois picos exotérmicos da ATV além da redução considerável do calor de reação.

Tabela 15: Variação do calor de reação de fusão dos insumos.

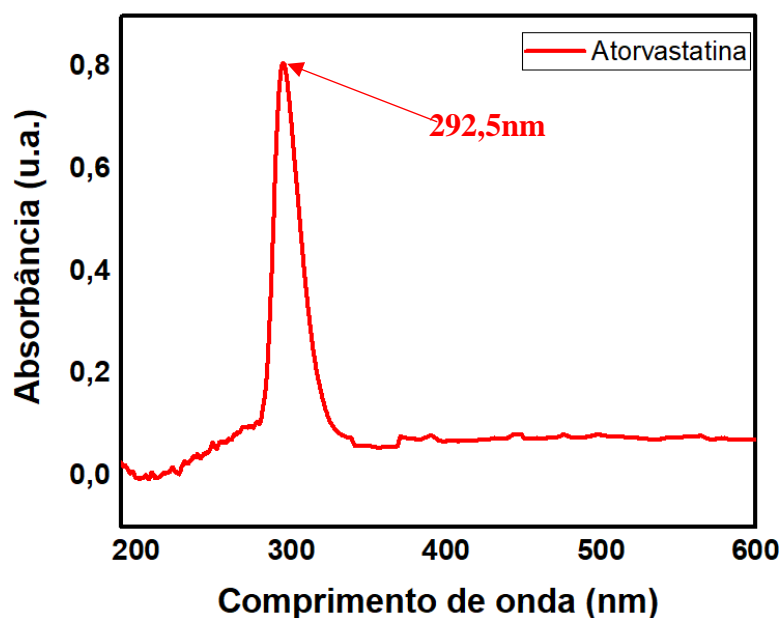
Delta H (J/g)		
	PCL	ATV
PCLf	83,958	
PCL_ATVf	92,579	12,041
ATV		64,21

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.3 Estudo da liberação de atorvastatina

Inicialmente uma varredura padrão de ATV em PBS foi realizada por UV-Vis, a fim de identificar o comprimento de onda com maior intensidade de absorbância. A varredura mostra que o comprimento de onda onde a absorbância foi máxima foi de 292,5 nm, conforme Figura 33.

Figura 33: Varredura de atorvastatina em solução fosfato (PBS).

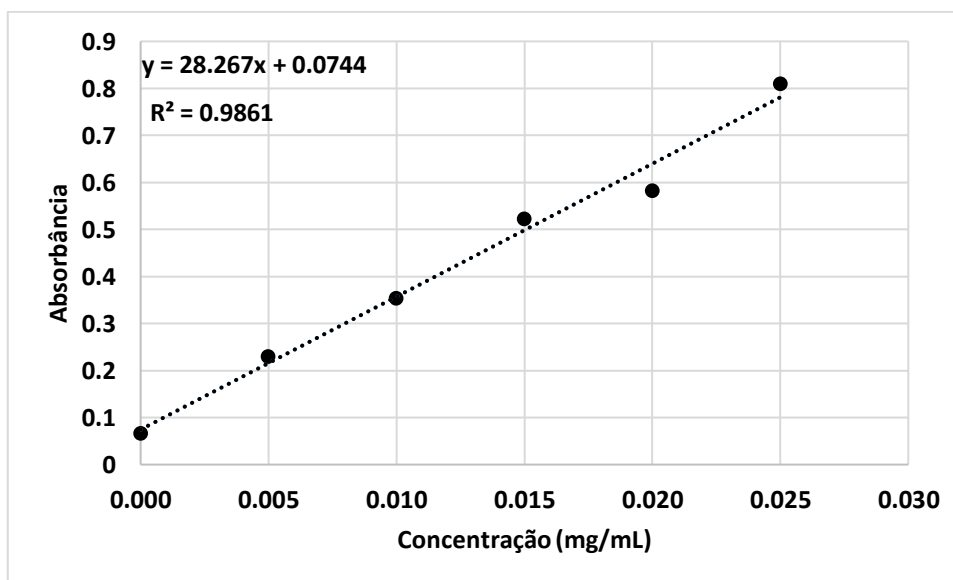


Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a capacidade de liberação do filamento, do filme e dos “*scaffolds*” foi realizado o ensaio de liberação “*in vitro*”. Inicialmente foi feita uma varredura do espectro de absorção da atorvastatina. A varredura no espectrofotômetro na faixa de 190 a 600 nm para definir o comprimento de onda ideal para as análises, as absorbâncias foram lidas com maior sensibilidade quantitativa em comprimento de onda de 292,5 nm em cubeta de quartzo.

Em seguida, a partir da solubilização da atorvastatina em clorofórmio, preparou-se uma solução mãe de atorvastatina em PBS. Logo após, dilui-se essa solução em concentração de: 0,025; 0,020; 0,015; 0,010; 0,005 µg/ml. As soluções foram analisadas por UV-vis para a criação da curva de calibração mostrada na Figura 34, de modo a obter o coeficiente de correlação.

Figura 34: Curva padrão de absorbância da atorvastatina em PBS.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Para avaliar a capacidade de liberação dos filamentos as medições em UV-Vis, foram realizadas, em triplicata. Foi realizada a cinética para um período de 8h com leituras realizadas em intervalos de 1 hora. Um estudo mais amplo foi conduzido em períodos de 24 horas durante 20 dias. As amostras foram imersas em solução de PBS pH 7,4, com agitação orbital de 75 rpm, a temperatura de 37 °C em uma estufa shaker Ethik Technology 430/RBD. Alíquotas de 5 mL da solução foram retiradas para análise.

A quantidade de fármaco liberada foi mensurada por meio do espectro de absorvância obtido pelo espectrofotômetro UV-Vis Spectrophotometer Kasuaki, modelo IL-593-S. Cada alíquota usada no estudo foi retornada as amostras após análises.

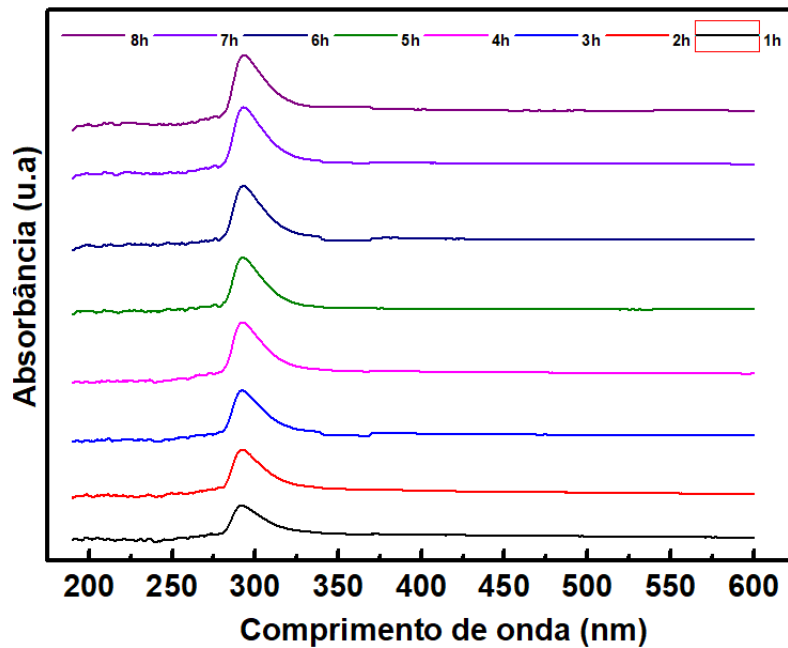
A fim de estudar a capacidade de liberação do filamento, estes foram submetidos a ensaio de liberação. Para quantificar a atorvastatina construiu-se uma curva padrão. Esta curva foi preparada em solução tampão fosfato (PBS), pH 7,4 e a ATV apresentou banda de absorção na faixa de 292,5 nm. O modelo linear que correlaciona a absorvância e a concentração é mostrado na equação 1.

$$y = 28,267 x + 0,0744 \quad (1)$$

Onde x é a concentração e y a absorvância obtida. O coeficiente linear da curva (R^2) foi de 0,9861, e R^2 acima de 0,9 apontam para um modelo satisfatório. A partir desta equação, as concentrações de atorvastatina foram estimadas matematicamente. Os filamentos analisados foram pesados, e para estimar a quantidade de fármaco presente em cada fragmento foi calculado tendo como base a proporção de 2,4 g de ATV para 20 g de PCL.

Foram feitos 2 processos de liberação. O primeiro consistiu em avaliar a liberação em intervalos de 1 hora, este ensaio foi feito em um shaker com temperatura programada em 37 °C. O perfil das varreduras de absorvância em função da hora é mostrado na Figura 35.

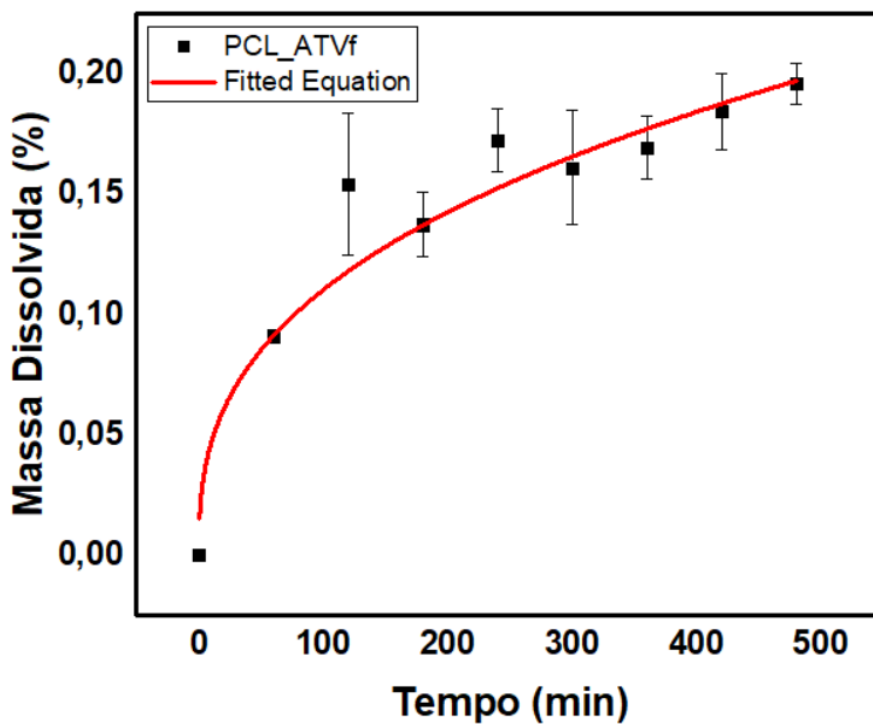
Figura 35: Varredura do filamento de PCL_ATVf - 8h.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O percentual de massa dissolvida em função do tempo é mostrado na Figura 36.

Figura 36: Perfil de liberação da ATV contida nos filamentos de PCL_ATVf.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados experimentais de liberação foram ajustados por uma equação não-linear com a utilização do programa OriginPRO. A Tabela 16 abaixo mostra os dados do modelo ajustado.

Tabela 16: Dados da equação ajustada.

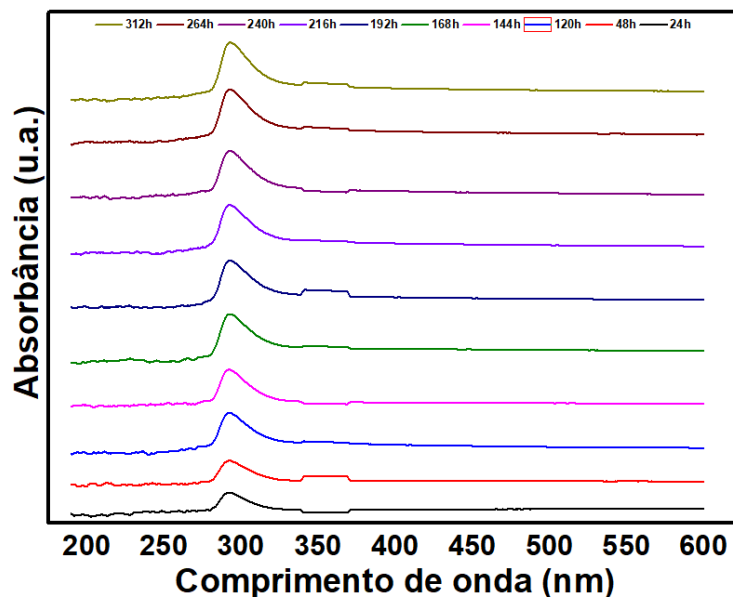
Equação	$y = a \cdot t^b$	
Chi ²	0,70999	
R ²	0,97857	
	Valor	Erro
a	0,02003	0,00188
b	0,37037	0,01847

Fonte: Elaborada pelo autor.

Onde y é o percentual da massa dissolvida e t o tempo de liberação.

O segundo consistiu em avaliar a liberação em intervalos de 24 horas, este ensaio foi feito em temperatura ambiente. O perfil das varreduras de absorbância em função da hora é mostrado na Figura 37.

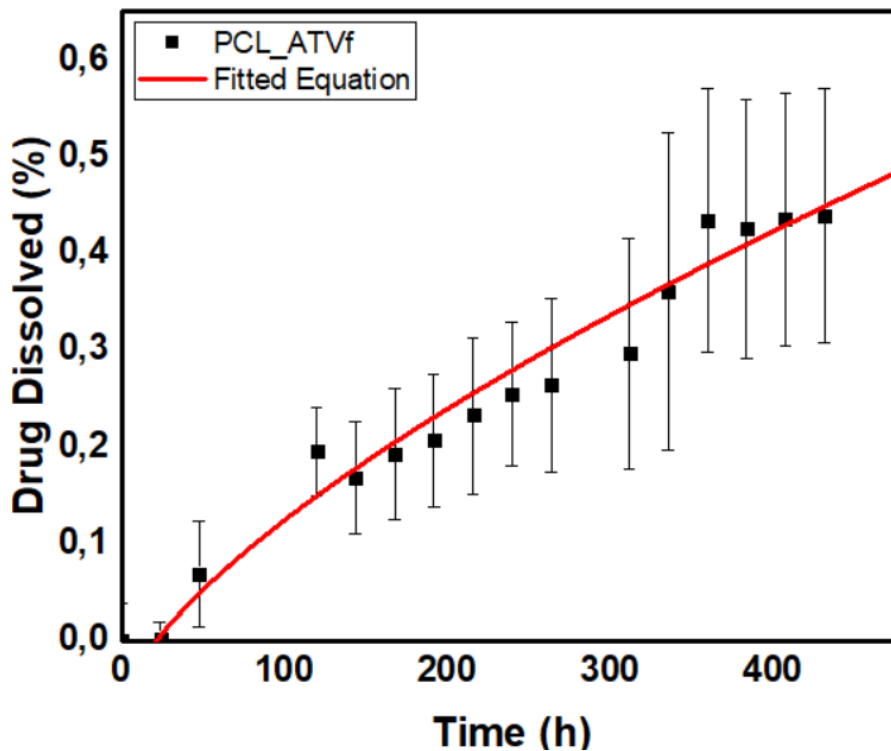
Figura 37: Varredura do filamento de PCL_ATVf - 20 dias.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O percentual de massa dissolvida em função do tempo é mostrado na Figura 38.

Figura 38: Perfil de liberação da ATV em filamentos de PCL_ATVf.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados experimentais de liberação foram ajustados por uma equação não-linear com a utilização do programa OriginPRO. A Tabela 17 abaixo mostra os dados do modelo ajustado.

Tabela 17: Dados da equação ajustada.

<i>Equação</i>	$y = b \cdot t^c$	
Chi ²	0,15483	
R ²	0,9978	
	Valor	Erro
b	0,0086	0,00381
c	0,67505	0,06607

Fonte: Elaborada pelo autor.

É possível observar que o filamento avaliado diariamente, depois de 20 dias não liberou 100 % da atorvastatina, mas apenas 0,50 %. Enquanto o avaliado a cada hora, após 8 horas liberou 0,20 %. Vale destacar a diferença entre o perfil de liberação nos dois ensaios, uma vez que o diário liberou apenas 0,07 % nas primeiras 48 horas. Por outro lado, o de 8 h liberou pouco mais de 0,15 % na primeira hora. Isso pode ser justificado pela variação na metodologia do ensaio, uma vez que o diário foi feito a temperatura ambiente.

De acordo com Lima *et al.*, (2019) e Cai *et al.*, (2002) as propriedades poliméricas influenciam diretamente na liberação do fármaco. O sistema de liberação de matrizes poliméricas geralmente é regido por um coeficiente de difusão e este é influenciado pelo grau e cristalinidade, polaridade, intumescimento, taxa de degradação, hidrofilicidade/hidrofobicidade.

Segundo Liecht *et al.*, (2010) e Rong *et al.*, (2012) a liberação controlada pode ser caracterizada quando a dissolução do fármaco no meio não alcança 50 % após 4 dias. Neste trabalho, após 20 dias apenas 0,50 % da massa foi dissolvida.

A partir dos principais modelos matemáticos encontrados na literatura para a cinética de liberação de fármaco, os resultados foram ajustados para os seguintes modelos:

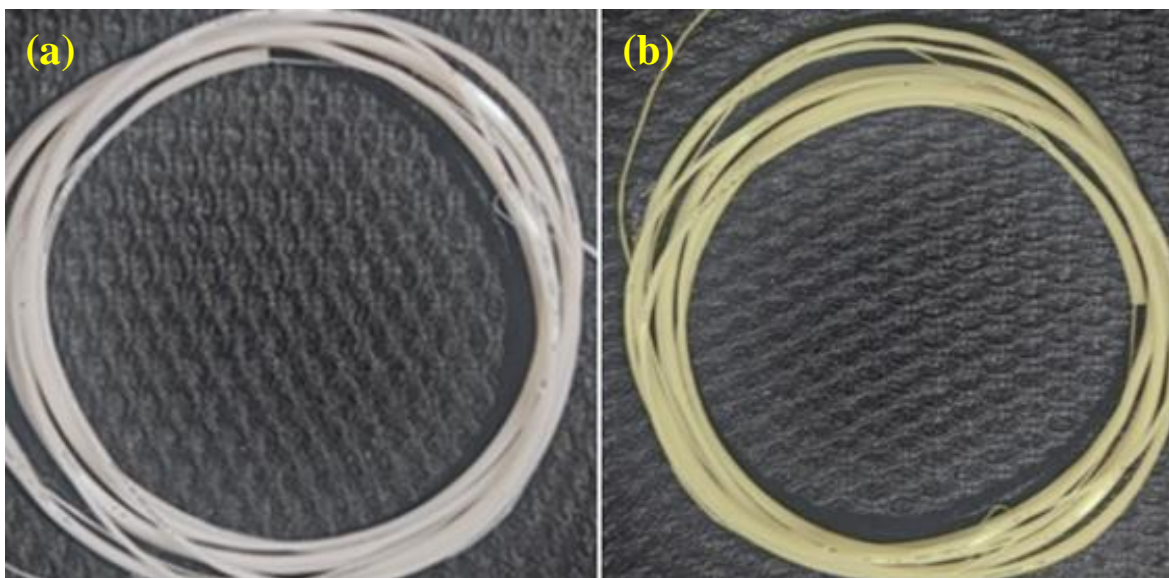
- Ordem zero;
- Primeira ordem;
- Higuchi;
- Hixson-Crowell; e
- Korsmeyer-Peppas.

Nenhum dos modelos ajustados teve resultado satisfatório. O coeficiente de correlação (R^2) foi de aproximadamente 0,5. De acordo com a literatura, para que um modelo seja considerado aceitável.

5.4 Impressão do “scaffold”

Os filamentos de PCL/ATV produzidos foram submetidos ao processo de impressão 3D utilizando a técnica de FDM (*Fused Deposition Modeling*). É possível observar que os filamentos produzidos não são uniformes, ou seja, na extensão há variação na sua espessura, conforme Figura 39.

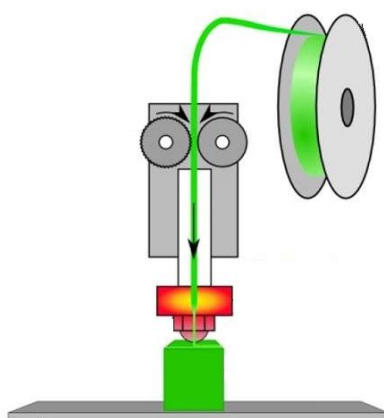
Figura 39: (a) Filamento de PCL puro; (b) Filamento de PCL incorporado com ATV.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise térmica do PCL apresenta um pico endotérmico aproximadamente em 58 °C, este correspondente a temperatura de fusão. Vale destacar que não foi observado pico referente a temperatura de transição vítrea (T_g). Em razão disso, inicialmente utilizou-se uma temperatura próxima a T_m para as condições de impressão. O procedimento de impressão envolve o carregamento do fármaco, através de um sistema de roldanas localizado próximo à zona de aquecimento, conforme Figura 40.

Figura 40: Esquema do processo de impressão por FDM.



Devido às características térmicas do polímero e à dificuldade de garantir um pleno isolamento térmico, ao ser tracionado o filamento sofre deformação como apresentado na Figura 41. Devido a isso, foram feitos ajustes na impressora 3D

visando aumentar a distância entre a roldana e a zona de aquecimento de modo a favorecer o carregamento.

Figura 41: Deformação causada pelas engrenagens de tração da impressora 3D.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Com esse novo arranjo foi possível carregar o filamento de PCL. Contudo, foi observado que acima da T_m (aproximadamente 20 °C acima da fusão do PCL) do PCL, o produto obtido tende a ficar de forma esférica conforme apresentado na Figura 42.

Figura 42: Formação de esfera no bocal de deposição da impressora.



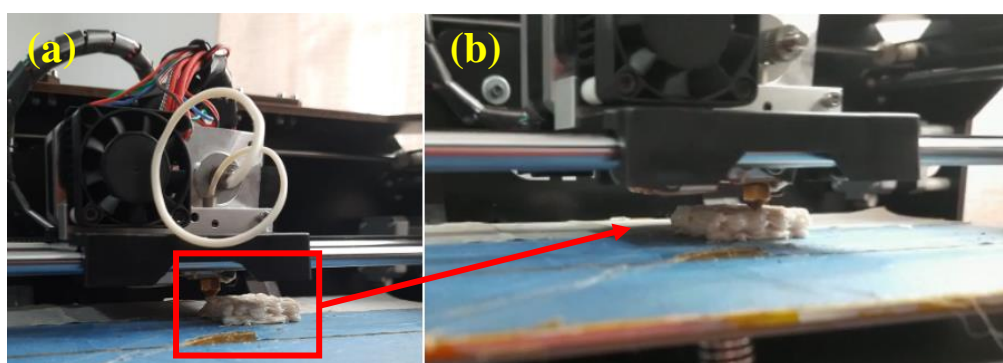
Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a impressão 3D é necessário que o material fundido escoe e se deposite sobre a bandeja. Desse modo, a formação dessa forma esférica inviabiliza a produção, uma vez que em contato com a temperatura ambiente, esta solidifica e impede o escoamento do filamento. Inicialmente, visando contornar os problemas causados pela tensão superficial duas ações foram realizadas, a primeira consistiu no aumento da temperatura setada a fim de tornar o filamento mais fluido, facilitando escoamento, o que não ocorreu. Em seguida alterou-se o

bico de extrusão, aumentando o diâmetro do bocal de deposição e a alteração da alimentação do filamento. Para tal, uma sessão guia foi criada através da expansão do canal de alimentação e no lugar da roldana o filamento foi empurrado com auxílio de uma chave em L acoplada à sessão de extrusão da impressora 3D.

Tendo isso em vista, adaptações foram suficientes para que fosse possível a obtenção do “*scaffold*”, conforme Figura 43.

Figura 43:(a) Alteração da forma de alimentação; (b) Detalhe durante a impressão do “*scaffold*”.



Fonte: Elaborada pelo autor.

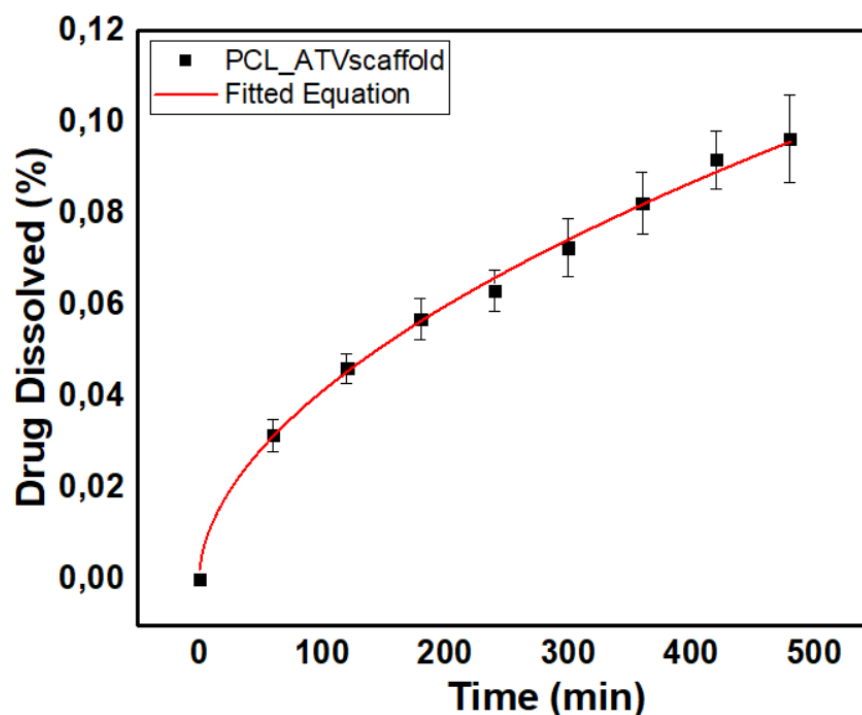
Por fim, é possível observar, conforme Figura 41, que a impressão do “*scaffold*” pela técnica de FDM utilizando o filamento de PCL/ATV é possível. Porém são necessárias adaptações na forma de alimentação/carregamento do filamento e no bocal de deposição.

5.5 Estudo da liberação – “*scaffolds*”

Com o intuito de avaliar a liberação de fármaco nos “*scaffolds*”, estes foram submetidos a ensaio de liberação. Este ensaio foi realizado mantendo os “*scaffolds*” submersos em solução tampão fosfato (PBS) durante 8h, com análises para quantificação por UV-vis sendo feitas a cada 60 minutos. A curva analítica preparada em solução de PBS apresentou máxima absorção na faixa de comprimento de onda de 292,5 nm.

O modelo linear que estabelece a correlação entre a absorbância e a concentração é dada pela equação 1. A partir desta equação foram calculados os valores de concentração de atorvastatina nos intervalos determinados. A curva obtida é apresentada na Figura 44.

Figura 44: Perfil de liberação do “*scaffold*”.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados experimentais de liberação foram ajustados por uma equação não-linear com a utilização do programa OriginPRO. A Tabela 18 abaixo mostra os dados do modelo ajustado.

Tabela 18: Dados da equação ajustada.

Equação	$y = a \cdot x^b$	
Chi ²	0,1191	
R ²	0,9936	
	Valor	Erro
a	0,0034	3,30e-4
b	0,5373	0,01731

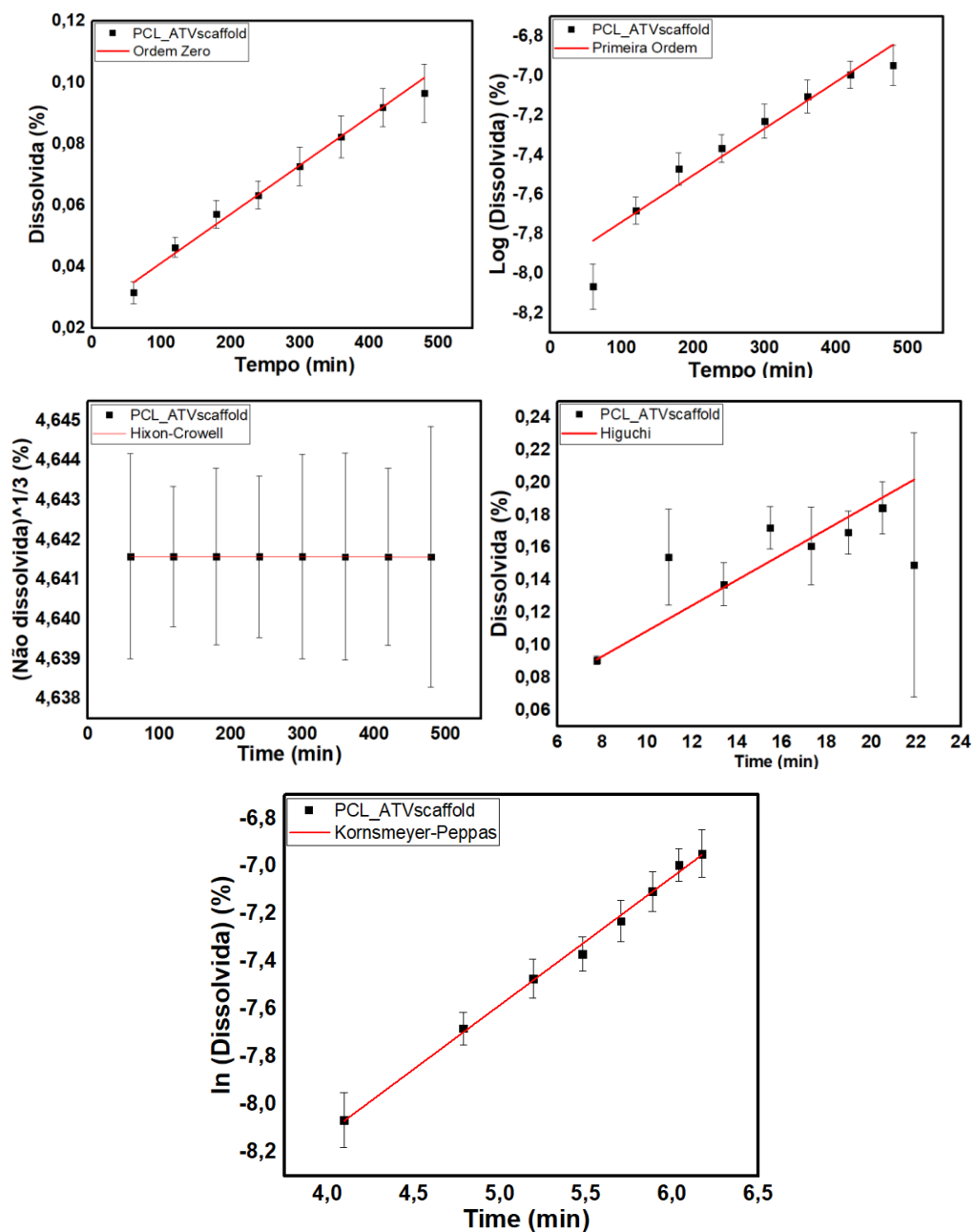
Fonte: Elaborada pelo autor.

É possível observar que ao final do ensaio, os “*scaffolds*” não liberaram toda a atorvastatina presente nas matrizes. Segundo a literatura, a morfologia das matrizes, a quantidade de poros, a orientação desses poros tem grande influência no perfil de liberação (ALEX *et al*, 2016; THADAVIRUL, PAVASANT, SUPAPHOL; 2017)

Vale ressaltar que nas imagens da análise de SEM, a superfície dos filamentos utilizados para a produção dos “*scaffolds*” não tinha aglomerados de atorvastatina em suas superfícies, o que pode causar uma desaceleração no processo de liberação.

Assim como para os filamentos, os dados experimentais foram ajustados pelos de liberação mais comuns: ordem zero, primeira ordem, Hixson-Crowell, Higuchi e Korsmeyer-Peppas, a fim de se obter um melhor entendimento dos fenômenos envolvidos. Os gráficos de cada modelo são apresentados na Figura 45. Os coeficientes de correlação (R^2) obtidos estão apresentados na Tabela 19.

Figura 45: Avaliação do perfil de liberação da atorvastatina no “scaffold”: (a) ordem zero; (b) primeira ordem; (c) Hixson-Crowell; (d) Higuchi; (e) Korsmeyer-Peppas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 19: Coeficientes de correlação dos modelos cinéticos.

Modelo	(R²)
Ordem zero	0,9826
Primeira Ordem	0,9326
Hixon-Crowell	0,9875
Higuchi	0,9460
Kornsmeyer-Peppas	0,9930

Fonte: Elaborada pelo autor.

A partir dos gráficos e da tabela apresentados, é possível dizer que o valor de R² indica que o modelo que pode descrever o comportamento da liberação de atorvastatina nos “*scaffolds*” é o modelo de Kornsmeyer-Peppas.

Considerando que os dados experimentais não apresentam perfil exponencial e essa é a principal característica do modelo de Kornsmeyer-Peppas. Este modelo ser o mais adequado pode ser justificado por ser o único que considera que o perfil geométrico que está sendo analisado têm influência sobre a liberação. Além disso, geralmente, esse modelo é o melhor ajuste para sistemas onde a etapa de liberação é regida por mais de um modelo. Ou seja, o processo de liberação pode ocorrer de forma convencional durante a primeira hora e ser seguida por um perfil controlado durante um intervalo. Também é possível que 2 mecanismos de liberação ocorram em paralelo, conforme observado por Alex *et al* (2016), que verificou que o mecanismo de difusão ocorre simultaneamente com a erosão.

6 Conclusões

Apenas os filamentos obtidos pelo método 2 apresentaram uma superfície sem a presença de aglomerados.

As análises térmicas comprovam a presença da atorvastatina no filamento, uma vez que é possível observar picos no DSC correspondentes tanto à policaprolactona quanto à atorvastatina. A análise química por espectroscopia com transformada de Fourier na região do infravermelho mostra que nenhuma nova ligação entre a atorvastatina e a policaprolactona foi formada durante o processamento do filamento.

Quanto à análise de liberação do fármaco dos filamentos indicou que ao final dos 20 dias, a dissolução chegou ao máximo de 0,50 % da massa total de atorvastatina. Em razão disso, pode-se inferir que há uma liberação prolongada de ATV. Quanto aos “*scaffolds*”, a dissolução chegou ao máximo de 0,10 % após 8h de ensaio.

Os dados dos experimentos dos filamentos e dos “*scaffolds*” foram ajustados aos modelos mais comuns encontrados na literatura. Para os filamentos, nenhum dos modelos ajustados apresentou coeficiente de correlação que pudessem ser considerados fortes ($R^2 > 0,95$). Para os “*scaffolds*”, o modelo que mostrou o melhor ajuste foi o de Korsmeyer-Peppas. Este modelo apresentou coeficiente de correlação (R^2) de 0,9963. Este modelo tem por característica a liberação exponencial do fármaco.

Diante do exposto é possível inferir que os filamentos de PCL/ATV tem condições adequadas para serem utilizados como suprimento para o processo de manufatura aditiva (FDM) para a produção dos “*scaffolds*”.

7 Sugestão para trabalhos futuros

- Aumentar a concentração de fármaco utilizada na preparação das matrizes;
- Alterar o tipo de impressão para perpassar o problema de alimentação por FDM;
- Aquisição de novos “*nozzles*” com diâmetros distintos para deposição por FDM.
- Utilizar um banho acoplado a extrusão a fim de obter um filamento de espessura uniforme;
- Estimar o parâmetro de Flori para avaliar a solubilidade do fármaco na matriz polimérica.
- Quantificar a quantidade de solvente presente na matriz por espectrometria de massa, a fim de avaliar se ainda existe clorofórmio nos filamentos e “*scaffolds*” analisados.
- Avaliar o filamento e o “*scaffold*” após o processo de liberação a fim de avaliar a perda de massa e possível erosão da matriz polimérica.

8 Referências Bibliográficas

ABTO – Associação Brasileira de Transplante de Órgãos, Dimensionamento dos transplantes no Brasil e em cada estado – Ano 2019, n. 4 – Registro Brasileiro de Transplantes, n.4, 2019.

ACKELRUD, L. Fundamentos da Ciência de Polímeros, Manole Ed., Barueri, São Paulo, 2007.

ADAMI, G.; FASSIO, A.; ROSSINI, M.; CAIMMI, C.; GIOLLO, A.; ORSOLINI, G.; VIAPINI, O.; GATTI, D. Osteoporosis in rheumatic diseases, International Journal of Molecular Sciences, v. 20, n. 23, 2019.

ALEX, A.T.; JOSEPH, A.; SHAVI, G.; RAO, J.V.; UDUPA, N. Development and evaluation of carboplatin-loaded PCL nanoparticles for intranasal delivery, Drug Delivery, v. 23, p. 2144-2153, 2016.

ALMEIDA H.R.O, PATRICIO B.F.C, GARCIA Y.A., DA SILVA T. G., PEREIRA D.B., Production of biodegradable rods of polycaprolactone/olanzapine for potential application in the treatment of Schizophrenia. Journal of Applied Polymer Science 2021; 138 (37) 50944

ALMEIDA, A.S. Obtenção e caracterização de nanocompósitos de poli(L-lactídeo) e nanopartículas de argila sódica, argilas organofílicas e óxidos de sílica, Dissertação de Mestrado, Ciência e Tecnologia de Polímeros – Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

ANSEL, H.C.; ALLEN, L.C.; POPOVICH, N.G. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos, Editora Artmed, 8ª Edição, 2007.

ANTÔNIO, S.G. Aplicação da difração de raios X por policristais e do método de Rietveld de refinamento de estruturas cristalinas no estudo de polimorfos cristalinos de fármacos, Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Programa de Pós-Graduação em Química, 2010.

BARBANTI, S.H.; ZAVAGLIA, C.A.; DUEK, E.A.R. Polímeros biorreabsorvíveis na engenharia de tecidos, Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.

BENETTI, C. Estudo da reparação óssea por espectroscopia ATR-FTIR após remoção de fragmento da região mandibular com laser de Er-Cr: YSGG ou broca multilaminada, Tese de Doutorado em Tecnologia Nuclear, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2014.

BLIUC, D.; ALARKAWI, D.; NGUYEN, T.V.; EISMAN, J.A.; CENTER, J.R. Risk of subsequent fractures and mortality in elderly women and men with fragility fractures with and without osteoporotic bone density: the Dubbo Osteoporotic Epidemiology Study, *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 30, n. 4, p. 637-646, 2015.

BOSE, S.; ROY, M.; BANDYOPADHYAY, A. Recent advances in bone tissue engineering “*scaffolds*”, *Trends in Biotechnology*, v. 30, n. 10, p. 546-554, 2012.

BOTEZ, C.E.; STEPHENS, P.W.; NUNES, C.; SURYANARAYANAN, R. Crystal structure of anhydrous delta-d-mannitol, *Powder Diffraction*, v.18, n. 3, p. 214-218, 2003.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P; ARAUJO, E.M.; MÉLLO, T.J.A. Biopolímero: Polímero biodegradável, *Polímero Verde*, 2011.

BYARD, S.J. Studies on the crystallinity of a pharmaceutical development drug substance. *J. Pharm. Sci.* 94, 1321–1335, 2005

CALLISTER JR., W.D. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 5ª ed., LTC, v. 1, São Paulo, 2002.

CANEVAROLO JR., S.V. *Ciências dos Polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros*, 2ª Edição, São Paulo, Artliber Ed. 2002.

CAO, W.; HENCH, L.L. Bioactive materials, *Ceramic International*, v. 22, n. 6, p. 493-507, 2006.

CASTNER, D.G.; RATNER, B.D. Biomedical surface science: Foundations to frontiers, Surface Science, v. 500, p, 28-60, 2002.

CHEN, S.C.; YANG, M.H.; CHUNG, T.W.; JHUANG, T.S.; YANG, K.C.; CHEN, K.C.; CHEN, W.J.; HUANG, Y.F.; JONG, S.B.; TSAI, W.C.; LIN, P.C.; TYAN, Y.C. Preparation and characterization of hyaluronic acid-polycaprolactone copolymer micelles for the drug delivery of radioactive iodine-131 labeled lipiodol, BioMed Research International, p.1-8, 2017.

COELHO, R.C.G.; MARQUES, A.L.P.; OLIVEIRA, S.M., DIOGO, G.S.; PIRRACO, R.P.; MOREIRA-SILVA, J.; XAVIER, J.C.; REIS, R.L.; SILVA, T.H.; MANO, J.F. Extraction and characterization of collagen from Antarctic and Sub-Antarctic squid and its potential application in hybrid “*scaffolds*” for tissue engineering, Materials Science and Engineering C, v. 78, p. 787-795, 2017.

CORREIA, T.R. Desenvolvimento de novos biomateriais para aplicação na área de engenharia de tecidos, Tese de Doutorado, Universidade de Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2017.

COSTA, P.; LOBO, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles, European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 13, p. 123-133, 2001.

COSTA-SCHARPLATZ, M.; RAMANATHAN, K.; FRIAL, T.; BEAMER, B. Cost-effectiveness analysis of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin and pravastatin from a Canadian healthy system perspective, Clinical Therapeutics, v. 30, n. 7, p. 1345-1357, 2008.

da SILVA T.G., PEREIRA D.B., PATRICIO B.F.C, SARCINELLI M. A., Polycaprolactone/alendronate systems intended for production of biomaterials. Journal of Applied Polymer Science; 138 (28) 50678, 2021.

DA SILVA, E. P., PEREIRA, M. A. V., DE BARROS LIMA, I. P., LIMA, N. G. P. B., BARBOSA, E. G., ARAGÃO, C. F. S., & GOMES, A. P. B. Compatibility study between

atorvastatin and excipients using DSC and FTIR. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 123(2), 933–939, 2010.

DAMINABO, S.C.; GOEL, S.; GRAMMATIKOS, S.A.; NEZHAD, H.Y.; THAKUR, V.K. Fused deposition modeling-based additive manufacturing (3D printing): Techniques for polymer material systems, *Materials Today Chemistry*, v. 16, p. 1-23, 2020.

DAVOODI, P.; SRINIVASAN, M.P.; WANG, C.H. Synthesis of intracellular reduction sensitive amphiphilic polyethyleneimine and poly(ϵ -caprolactone) graft copolymer for on demand release of doxorubicin and P53 Plasmid DNA, *ACTA Biomaterialia*, v. 39, p. 79-83, 2016.

DEDAVID, B.A.; GOMES, C.I.; MACHADO, G.; *Microscopia eletrônica de varredura – Aplicações e preparação de amostras, Materiais Poliméricos, Metálicos e Semicondutores, EDIPUCRS, Porto Alegre, 2007.*

DENARI, G.B. Contribuições ao ensino de análise térmica, *Dissertação de Mestrado, Instituto de Química de São Carlos, Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções, Universidade de São Paulo, 2003.*

DIMITRIOU, R.; MATALIOTAKIS, G.; ANGOULES, A.G.; KANAKARIS, N.K.; GIANNOUDIS, P.V. Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: a systematic review, *International Journal of the Care of the Injured*, v. 42, n. 2, p. 3-15, 2011.

DOMINGOS, M. Caracterização mecânica e biológica de “*scaffolds*” produzidos por biocell printing, *Tese de Doutorado, Universidade de Girona, Girona, Espanha, 2012.*

DROSOS, G.I.; BABOURDA, E.; MAGNISSALIS, E.A.; GIATROMANOLAKI, A.; KAZAKOS, K.; VERETTAS, D.A. Mechanical characterization of bone graft substitute ceramic cements, *Internacional Journal of the Care of the Injured*, v. 43, n. 3, p. 266-271, 2012.

DU, Y.; LIU, H.; YANG, Q.; WANG, S.; WANG, J.; MA, J.; NOH, I.; MIKOS, A.G.; ZHANG, S. Selective laser sintering “*scaffold*” with hierarchical architecture and gradient composition for osteochondral repair in rabbits, *Biomaterials*, v. 137, p. 37-48, 2017.

DURÁN, N.; MATTOSO, L.H.C.; MORAIS, P.C.de. *Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação*, São Paulo: Artiliber, 2006.

ENDO, A.; KURODA, M.; TANZAWA, K. Competitive inhibition of 3 hydroxy-3-methylglutaril coenzyme a reductase by ML-236A and ML-236B fungal metabolites, having hypocholesterolemic activity, *FEBS Press*, v. 72, n. 2, p. 323-326, 1976.

FEDORE, C.W.; TSE, L.Y.L.; NAM, H.K.; BARTON, K.L.; HACHT, N.E. Analysis of polycaprolactone “*scaffolds*” fabricated via precision extrusion deposition for control of craniofacial tissue mineralization, *Orthodontics and Craniofacial Research*, v. 20, p. 12-17, 2017.

FERREIRA JR. Avaliação do alendronato de sódio, atorvastatina cálcica, ipriflavona e óleo de linhaça no tratamento da osteoporose induzida com dexametosona, Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2016.

FERREIRA, K. N. Estudo da liberação controlada de sinvastatina utilizando nanofibras de PLA/PEG produzidas por fiação por sopro em solução, Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2017.

FULLER, J. H. The safety and tolerability of atorvastatin 10mg in the collaborative atorvastatin diabetes study (CARDS), *Diabetes and Vascular Disease Research*, v. 5, n. 3, p. 177-183, 2008.

FURLAN, A.; BERNARDO, H. P.; PEZZIN, S. H.; PIRES, A. T. N.; DUEK, E. A. R. Blendas biodegradáveis de poli(3-hidroxibutirato) e poli(ϵ -caprolactona): obtenção e estudo de miscibilidade, *Materials Research*, v. 6, n. 3, p. 359-365, 2003.

GHORBANI, F.M.; KAFASHI, B.; SHOKROLLAHI, P.; SEYEDJAFARI, E.; ARDESHIRYLAJIMI, A. PCL/Chitosan/Zn – Doped NHA electrospun nanocomposite “*scaffold*” promotes adipose derived stem cells adhesion and proliferation, Carbohydrate Polymer, v. 118, p. 133-142, 2015.

GIANNITELLI, S.M.; ACCOTO, D.; TROMBETTA, M.; RAINER, A. Current trends in the design of “*scaffolds*” for computer-aided tissue engineering, ACTA Biomaterialia, v. 10, n. 2, p. 580-594, 2014.

GOES, P.; LIMA, A.P.; MELO, I.M.; RÊGO, R.O.; LIMA, V. Effect of atorvastatin in radiographic density on alveolar bone loss in wistar rats, Brazilian Dental Journal, v. 21, n. 3, p. 193-198, 2010.

GOMES, L.S. Biomateriais em artroplastia de quadril: Propriedades de estrutura e composição, O quadril ed., p. 121-143, São Paulo, 2010.

GÓMEZ-LIZÁRRAGA, K. K., FLORES-MORALES, C., DEL PRADO-AUDELO, M. L., ÁLVAREZ-PÉREZ, M. A., PIÑA-BARBA, M. C., & ESCOBEDO, C. Polycaprolactone- and polycaprolactone/ceramic-based 3D-bioplotting porous “*scaffolds*” for bone regeneration: A comparative study. Materials Science and Engineering C, 79, 326–335, 2017.

HAMLET, S.M.; VAQUETTE, C.; SHAH, A.; HUTMACHER, D.W.H, IVANOVSKI, S. 3-Dimensional functionalized polycaprolactone-hyaluronic acid hydrogel constructs for bone tissue engineering, Journal of Clinical Periodontology, v. 44, n. 4, p. 428-437, 2017.

HAN, G.; CHEN, Y.; HOU, J.; LIU, C.; CHEN, C.; ZHUANG, J.; MENG, W. Effect of simvastatin on relapse and remodeling of periodontal tissues after tooth movements in rats, American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, v. 138, n. 5, p. 1-7, 2010.

HAWKER, G.A. Osteoarthritis is a serious disease, Clinical and Experimental Rheumatology, v. 37, n. 120, p. 3-6, 2019.

HAYASHI, T. Biodegradable polymers for biomedical uses, *Progress in Polymer Science*, v. 19, p. 663-702, 1994.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 52, n. 12, p. 1145-1149, 1963.

HOFFMAN, A.S. The origins and evolution of “controlled” drug delivery systems, *Journal of Controlled Release*, v. 132, p. 153-163, 2008.

HOLLANDER, J.; GENINA, N.; JUKARAINEN, H.; KHAJEHEIAN, M.; ROSLING, A.; MAKILA, E.; SANDLER, N. Three-Dimensional printed PCL-Based implantable prototypes of medical devices for controlled drug delivery, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, p. 1-12, 2016.

HOLLISTER, S.J. Porous “*scaffold*” design for tissue engineering, *Nature Materials*, v. 4, n. 7, 2005.

HOLZAPFEL, B.M.; REICHERT, J.C.; SCHANTZ, J.T.; GBURECK, U.; RACKWITZ, I., NOTH., U.; JAKOB, F.; RUDERT, M.; GROLL, J.; HUTMACHER, D.W. How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 65, n. 4, p. 581-603, 2013.

HORIUCHI, N.; MAEDA, T. Statins and bone metabolism, *Oral Diseases*, v. 12, p. 85-101, 2006.

HSU, K.H.; FANG, S.P.; LIN, C.L.; LIAO, Y.S.; YOON, Y.K.; CHAUAN, A. Hybrid electrospun polycaprolactone mats consisting of nanofibers and microbeads for extend release of dexamethasone, *Pharmaceutical Research*, v. 33, p. 1509-1516, 2016.

HUTMACHER, D.W.; SCHANTZ, J.T.; LAM, C.X.F.; TAN, K.C.; LIM, T.C. State of the art and future directions of “*scaffolds*”-based bone engineering from a

biomaterials perspective, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, v. 1, n. 4, p. 245-260, 2007.

HUTMACHER, D.W.; SITTINGER, M.; RISBUD, M.V. “*scaffold*”-based tissue engineering: Rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems, *Trends in Biotechnology*, v. 22, n. 7, p. 354-362, 2004.

ISTVAN, E. Statin inhibition of HMG-COA reductase: A 3-Dimensional View, *Atherosclerosis Supplement*, v. 4, n. 1, p. 3-8, 2003.

JAIN, S.; TRAN, T.H.; AMIJI, M.; Macrophage repolarization with targeted alginate nanoparticles containing IL-10 plasmid DNA for the treatment of experimental arthritis, *Biomaterials*, v. 61, p. 162-177, 2015.

JIN, J.; MACHADO, E.R.; YU, H.; ZHANG, X.; LU, Z.; LI, Y.; LOPES-VIRELLA, M.F.; KIRKWOOD, K.L.; HUANG, Y. Simvastatin inhibits LPS-induced alveolar bone loss during metabolic syndrome, *Journal of Dental Research*, v. 93, n. 3, p. 294-299, 2014.

K.H.; DOSCHAK, M.R. Bone-targeting parathyroid hormone conjugates outperform unmodified PTH in the anabolic treatment of osteoporosis in rats, *Drug Delivery and Translation Research*, v. 7, n. 4, p. 482-496, 2017.

KAJI, H.; NAITO, J.; INOUE, Y.; SOWA, H.; SUGIMOTO, T.; CHIHARA, K. Statins suppresses apoptosis in osteoblastic cells: Role of transforming growth factor beta-SMAD3 pathway, *Hormone e Metabolic Research*, v. 40, n. 11, p. 746-751, 2008.

KIM, M. S., JIN, S. J., KIM, J. S., PARK, H. J., SONG, H. S., NEUBERT, R. H. H., & HWANG, S. J. . Preparation, characterization and in vivo evaluation of amorphous atorvastatin calcium nanoparticles using supercritical antisolvent (SAS) process. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(2), 454–465. 2018.

KLOSS, J.; BUGAY, C.; AKCELRUD, L.; ZAWADZKI, S.F., WANG, S. Correlação entre propriedades mecânicas e parâmetros estruturais de poliuretanos à base de poli(ϵ -caprolactona), *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, p. 1-5, 2005.

KOUTSOS, V. *Polymeric Materials: An introduction*. In: FORDE, M.; TELFORD, T. *Ice manual of construction materials*, p. 571-577, London, 2009.

KUMAR, A.; BENDELE, A.M.; BLANKS, R.C.; BODICK, N. Sustained efficacy of a single intra-auricular dose of FX006 in a rat model of repeated localized knee arthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, v. 23, n. 1, p. 151-160, 2015.

LABET, M., THIELEMANS, W. Synthesis of polycaprolactone: A review, *Chemical Society Reviews*, v. 38, p. 3848-3504, 2009.

LAKSHMI NARASIAH, V., KALYAN REDDY, B., KISHORE, K., RAJ KUMAR, M., SRINIVASA RAO, P., & VENKATESWARA REDDY, B. Enhanced dissolution rate of atorvastatin calcium using solid dispersion with PEG 6000 by dropping method. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8), 484–491, 2010.

LANZA, R; LANGER, R; VACANTI, J; *Principles of Tissue Engineering*; Academic Press; 2001.

LEITE, M.D.R. Estruturas porosas de policaprolactona/mel produzidas a partir do sistema bioextruder, *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2016.

LIECHTY, W.B.; KRYSCIO, D.R.; SLAUGHTER, B.V.; PEPPAS, N.A. Annual review of chemical and biomolecular engineering, *Polymers for Drug Delivery Systems*, v. 1, n. 1, p. 149-173, 2010.

LIMA, A.C.; CUNHA, C.; CARVALHO, A.; FERREIRA, H.; NEVES, N. Interleukin-6 neutralization by antibodies immobilized at the surface of polymeric nanoparticles as a

therapeutic strategy for arthritic diseases, ACS Applied Materials & Interfaces, v. 10; n. 16, p. 13839-13850,2018.

LIMA, A.C.; FERREIRA, H.; REIS, R.L.; NEVES, N.M. Biodegradable polymers: An update on drug delivery in bone and cartilage diseases, Expert Opinion on Drug Delivery, v. 16, p. 795-813, 2019.

LIU, F.; VYAS, C.; POOLOGASUNDARAMPILLAI, G.; PAPE, I.; HINDUJA, S.; MIRIHANAGE, W.; BARTOLO, B.J. Process-driven microstructure control in melt-extrusion-based 3D printing for tailorable mechanical properties in a polycaprolactone filament, Macromolecular Materials and Engineering, v. 303, n.8, p. 1-6, 2018.

LIU, Y.; LIM, J.; TEOH, S. Review: development of clinically relevant “*scaffolds*” for vascularized bone tissue engineering, Biotechnology Advances, v. 31, n. 5, p. 688-705, 2013.

LOESER, R.F.; GOLDRING, S.R.; SCANZELLO, C.R.; GOLDRING, M.B. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ, Arthritis & Rheumatology, v. 64, n. 6, p. 1697-1707, 2012.

LOPES, C.M.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos, Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

MA, Z.; HADDADI, A.; MOLAVI, O.; LAVASANIFAR, A.; LAI, R.; SAMUEL, J. Micelles of poly(ethylene oxide)-B-poly(e-caprolactone) as vehicles for the solubilization stabilization and controlled delivery of curcumin, Journal of Biomedical Materials Research, v.86, p. 300-310, 2007.

MADRID, A.P.M.; VRECH, S.M.; SANCHEZ, M.A.; RODRIGUEZ, A.P. Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering “*scaffolds*”, Materials Science and Engineering, v. 100, p. 631-644, 2019.

MAEDA, T.; MATSUNUMA, A.; KAWANE, T.; HORIUCHI, N. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3-E1 cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 280, n. 3, p. 874-877, 2001.

MAEDA, T.; MATSUNUMA, A.; KURAHASHI, I.; YANAGAWA, T.; YOSHIDA, H.; HORIUCHI, N. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cell, *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 92, n. 3, p. 458-471, 2004.

MAGALHÃES, M.; ALMEIDA, M.; TAVARES-DA-SILVA, E.; ROLEIRA, M.F.F.; VARELA, C.; JORGE, J.; GONÇALVES, A.C.; CARVALHO, R.A.; VEIGA, F.; SANTOS, A.C.; FIGUEIRAS, A. MIR-145-loaded micelleplexes as a novel therapeutic strategy to inhibit proliferation and migration of osteosarcoma cells, *European Journal Pharmaceutical Science*, v. 123, p. 28-42, 2018.

MALIKMAMMADOV, E.; TANIR, T.E.; KIZILTAY, A.; HASIRCI, V.; HASIRCI, N. PCL and PLC-based materials in biomedical applications, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, v. 29, p. 863-893, 2018.

MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. A dissolução ““*in vitro*”” na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 4, 2002.

MANO, E.B.; MENDES, L.C. *Introdução à polímeros*, Ed. Edgar Blucher, 2ª edição, São Paulo, 1999.

MARON, D.J.; FAZIO, S.; LINTON, M.F. Current perspectives on statins, *Circulation*, v. 101, n. 2, p. 207-213, 2000.

MARTIN, W.B; SICARD, R.; NAMIN, S.M.; GANEY, T. Methods of cryoprotectant preservation allogenic cellular bone grafts and potential effects, *BioMed Research International*, v.4, p. 1-7, 2019.

MASI, L. Epidemiology of osteoporosis, *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, v. 5, n. 1, p. 11-13, 2008.

McTAGGART, F.; BUCKETT, L.; DAVIDSON, R.; HOLDGATE, G.; McCORMICK, A.; SCHNECK, D.; SMITH, G.; WARNICK, M. Preclinical and clinical pharmacology of rosuvastatin: A new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, *American Journal of Cardiology*, v. 87, p. 28-32, 2001.

MELCHELS, F.P.W.; DOMINGOS, M.A.N.; KLEIN, T.J.; MALDA, J.; BARTOLO, P.J.; HUTMACHER, D.W. Additive manufacturing of tissues and organs, *Progress in Polymer Science*, v. 37, p. 1079-1104, 2012.

MORAES, G.H.K.; BRAGINE, D.F.J.; CARDOSO, C.A. Efeitos do alendronato de sódio, atorvastatina cálcica e ipriflavona sobre a osteoporose induzida com dexametasona em ratas, *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 26, n. 1, p. 63-70, 2005.

MUKHTAR, R.Y.A.; REID, J.; RECKLESS, J.P.D. Pitavastatin, *Internacional Journal of Clinical Practice*, v. 59; p. 239-252, 2005.

MUNDY, G.; GARRET, R.; HARRIS, S.; CHAN, J.; CHEN, D.; ROSSINI, G.; BOYCE, B.; ZHAO, M.; GUTIERREZ, G. Stimulation of bone formation “*in vitro*” and in rodents by statins, *SCIENCE*, v. 286, p. 1946-1949, 1999.

MUNDY, G.R. Statins and their potential for osteoporosis, *Bone*, v. 29, n. 6, p. 495-497, 2001.

NAVARRO, M.; MICHIARDI, A.; CASTAÑO, O.; PLANELL, J.A. Biomaterials in orthopaedics, *Journal of the Royal Society Interface*, v.5, n. 27, p. 1137-1158, 2008.

NEWMAN, C. B.; SZAREK, M.; COLHOUN, H.M.; BETTERIDGE, D. J.; DURRINGTON, P. N.; HITMAN, G. A.; NEIL, H. A.; DEMICCO, D. A.; AUSTER, S.; O'BRIEN, F.J. Biomaterials & “*scaffolds*” for Tissue Engineering, *Materials Today*, v. 14, n. 3, p. 88-95, 2011.

OLTZA, M.J.; CHENG, X.; JEE, S.S.; KUMAR, R.; KIM, Y.; KAUFMAN, M.J.; DOUGLAS, E.P.; GOWER, L.B. Bone structure and formation: A new perspective, v. 58, n.3-5, p. 77-116, 2007.

OLUBAMIJI, D.A.; IZADIFAR, Z.; SI, L.J.; COOPER, M.L.D.; EAMES, F.B.; CHEN, D.X.B. Modulating mechanical behavior of 3D-printed-cartilage-mimetic PCL “*scaffolds*”: influence of molecular weight and pore geometry. *Biofabrication*, v.8, n.2, p. 1-18, 2016.

ORÉFICE, R.L. Materiais poliméricos: Ciência e aplicação como biomateriais, In: ORÉFICE, R.L.; PEREIRA, M.; MANSUR, H.; Biomateriais: Fundamentos e Aplicações, 1ª ed., 1ª reimpressão, Cultura Médica, Guanabara Koogan, 2012.

PARENTE, R.A. Elementos estruturais de plástico reciclado, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

PARITHIMARKALAIIGNAN, S.; PADMANABHAN, T.V. Osseointegration: An Update, *The Journal of Indian Prosthodontic Society*, v. 13, n. 1, p. 2-6, 2013.

PATIL, H.; TIWARI, R.V.; REPKA, M.A. Hot-melt extrusion: From theory to application in pharmaceutical formulation, *AAS PharmSciTech*, v. 17, n. 1, p. 20-42, 2016.

PATRICIO, T.; DOMINGOS, M.; GLORIA, A.; BARTOLO, P. Characterization of PCL and PCL/PLA “*scaffolds*” for tissue engineering, *Procedia CIRP*, v. 5, p. 110-114, 2013.

PEREIRA, D.R.; REIS, R.L.; OLIVEIRA, J.M. Layered “*scaffolds*” for osteochondral tissue engineering. In: OLIVEIRA, J.; PINA, S.; REIS, R.; SAN ROMAN, J. Osteochondral tissue engineering advances in experimental medicine and biology, v. 1058, p. 193-218, 2018.

PEREIRA, T.M.M. Caracterização térmica (TG/DTG, TGA, DSC, DSC-fotovisual) de hormônios bioidêntico (Estríol e Estradiol), Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-

Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2013.

PERIĆ KAČAREVIĆ, Ž., RIDER, P., ALKILDANI, S., RETNASINGH, S., PEJAKIĆ, M., SCHNETTLER, R. An introduction to bone tissue engineering, *The International Journal of Artificial Organs*, v. 43, p. 69-86, 2019.

PINTO, A.S.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; DEL CARLO, R.J.; FONSECA, C.C.; PUPPI, D.; CHIellini, F. Biodegradable polymers for biomedical additive manufacturing, *Applied Materials Today*, v. 20, p. 1-7, 2020.

PUPPI, D.; MORELLI, A.; CHIellini, F. Additive manufacturing of poly(ϵ -caprolactone) blend “*scaffolds*” for tissue engineering, *Bioengineering*, v. 4, n. 2, p. 1-17, 2017.

RAJZER, I.; MENASZEK, E.; CASTANO, O. Electrospun polymer “*scaffolds*” modified with drugs for tissue engineering, *Materials Science and Engineering*, v. 77, p. 493-499, 2017.

RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S.; SCHOEN, F.J.; LEMONS, J.E. *Biomaterials science: An introduction to materials in medicine*, Elsevier Academic Press, 2^a Ed, p. 80-707, San Diego, United States of America, 2004.

RAVAL, J.P.; NAIK, D.R.; AMIN, K.A.; PATEL, P.S. Controlled release and antibacterial studies of doxycycline-loaded poly(ϵ -caprolactone) microspheres, *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 18, p. 566-573, 2014.

REINER, Z. Statins in the primary prevention of cardiovascular disease, *Nature Reviews Cardiology*, v. 10, n. 8, p. 453-464, 2013.

RESENDE, D.K. Preparação e avaliação do uso de nanocompósito de montmorilótina organofílica como matrizes de liberação prolongada, *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Macromoléculas Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, p. 99, Rio de Janeiro, 2006.

RESENDE, F.L.P. Comparação entre as técnicas de análise termogravimétrica e leito fluidizado para pirólise de biomassa, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Departamento de Engenharia Térmica e Fluidos, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

ROGERO, S.O.; MALMONGE, S.M.; LUGÃO, A.B.; IKEDA, T.I.; MIYAMARU, L.; CRUZ, A.S. Biocompatibility study of polymeric biomaterials, *Artificial Organs*, v. 27, n. 5, p. 424-427, 2003.

ROKKANEN, P.U.; BÖSTMAN, O.; HIRVENSALO, E.; MÄKELÄ, E.A.; PARTIO, E.K.; PÄTIÄLÄ, H.; VAINIONPÄÄ, S.; VIHTONEN, K.; TÖRMÄLÄ, P. Bioabsorbable fixation in orthopedic surgery and traumatology, *Biomaterials*, v. 21, n. 24, p. 2607-2613, 2000.

ROMANGNOLI, C.; ZONEFRATI, R.; GALLI, G.; PUPPI, D.; PIROSA, A.; CHIellini, F.; MARTELLI, F.S.; TANINI, A.; BRANDI, M.L. ““*in vitro*”” behavior of human adipose tissue-derived stem cells on poly(e-caprolactone) film for bone tissue engineering applications, *BioMed Research International*, p. 1-12, 2015.

RUELA, A.L.M. Partículas de polímeros de impressão molecular como sistemas para liberação controlada de fármacos, Tese de Doutorado, UNIFAL – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, 2015.

SAMPAIO, G.Y.H. Desenvolvimento de arcabouços biodegradáveis para regeneração de tecidos cartilagosos, Dissertação de Mestrado, Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, 2012.

SEBIO, L. Desenvolvimento de plástico biodegradável a base de amido de milho e gelatina pelo processo de extrusão: Avaliação das propriedades mecânicas, térmicas e de barreira, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2003.

SENEDESE, A.L.C. Estruturação tridimensional de “*scaffolds*” de policaprolactona via manufatura aditiva, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2011.

SHAFEI, S.; FOROUGH, J.; STEVENS, L.; WONG, C.S.; ZABIHI, O.; NAEBE, M. Electroactive nanostructured “*scaffold*” produced by controlled deposition of PPY on electrospun PCL fibres, *Research on Chemical Intermediates*, v. 43, n.2, p. 1235-1251, 2017.

SHASTRI, V.P.; ALTANKOV, G.; LENDLEIN, A. Advances in regenerative medicine: Role of nanotechnology, and engineering principles, *Biomedical Engineering*, 2010.

SHETE, G., PURI, V., KUMAR, L., & BANSAL, A. K. Solid state characterization of commercial crystalline and amorphous atorvastatin calcium samples. *AAPS PharmSciTech*, 11(2), 598–609, 2010.

SHIFROVICTH, Y.; BINDERMAN, I.; BAHAR, H.; BERDICEVSKY, I.; ZILBERMAN, M. Metronidazole-loaded bioabsorbable films as local antibacterial treatment of infected periodontal pockets, *Journal of Periodontology*, v. 80, n. 2, p. 330-337, 2009.

SIDDIQUI, N.; ASAWA, S.; BIRRU, B.; BAADHE, R.; RAO, S. PCL-based composite “*scaffold*” matrices for tissue engineering applications, *Molecular Biotechnology*, v. 60, p. 506-532, 2018.

SILVA, E. P da. Estudo da compatibilidade entre atorvastatina excipientes por técnicas térmicas (TG, DSC) e FTIR utilizando correlação de Pearson. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SILVA, G. M., SENNA, K. M. S., SOUSA, E. B., TURA, B. R.. Análise do impacto orçamentário da viscosuplementação no tratamento não cirúrgico da osteoartrite de joelho. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro , v. 35, n. 10, e00098618, . 2019.

SIMAS, M. P., SANTOS Jr., A. R. Regeneração Tecidual Guiada, Centro de Ciências Naturais e Humanas – Universidade Federal do ABC, 2009.

SIMÕES, M.F.; PINTO, R.M.A.; SIMÕES, S.; Hot-melt extrusion in the pharmaceutical industry: Toward filing a new drug application, *Drug Discovery Today*, v. 24, n. 9, p. 1749-1768, 2019.

SINHA, V.R.; BRASAL, K.; AUSSHIK, R.; KUMRIA, R.; TRENAM, A. Polycaprolactone microspheres and nanospheres: An overview, *International Journal of Pharmaceutics*, v. 278, n. 1, p. 1-23, 2004.

SINHORETTI, M.A.C.; VITTI, R.P.; CORRER-SOBRINHO, L. Biomateriais na odontologia: Panorama atual e perspectivas futuras, *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*, v. 67, n. 3, 2013.

SMITH, I.O.; LIU, X.H.; SMITH, L.A.; MA, P.X. Nanostructured polymer “*scaffolds*” for tissue engineering and regenerative medicine, *Advanced Review*, v. 1, p. 226-236, 2009.

STANKOVIC M, FRIJLINK W.F., HINRICHS W. Polymeric formulations for drug release prepared by hot melt Extrusion: application and characterization. *Drug Discovery Today*, 00 (00), 2015.

STEPHENSON, G.A. Applications of X-ray powder diffraction in the pharmaceutical industry, *The Rigaku Journal*, v. 22, n. 1, p. 2-15, 2005.

STEVENS, M.M. Biomaterials for bone tissue engineering review, *Materials Today*, v. 5, n. 11, p. 18-25, 2008.

SULTANOVA, Z.; KALELI, G.; KABAY, G.; MUTLU, M. Controlled release of hydrophilic drug from coaxially electrospun polycaprolactone nanofibers, *International Journal of Pharmaceutics*, v. 505, p. 133-138, 2016.

SUN, Y.; YE, X.; CAI, M.; LIU, X.; XIAO, J.; ZHANG, C.; WANG, Y.; YANG, L.; LIU, J.; LI, S.; KANG, C.; ZHANG, B.; ZHANG, Q.; WANG, Z.; HONG, A.; WANG, X. Osteoblast-targeting-peptide modified nanoparticle for SiRNA/Microrna delivery, ACS Nano, v. 10, n. 6, p. 5759-5768, 2016.

THADAVIRUL, N.; PAVASANT, P.; SUPAPHOL, P. Fabrication and evaluation of polycaprolactone-poly(hydroxybutyrate) or poly(3-hydroxybutyrate) dualleached porous "scaffolds" for bone tissue engineering applications, Macromolecular Materials and Engineering, v. 302, n. 3, p. 1600289, 2017.

THAKUR, V.K.; THAKUR, N.K.; Handbook of polymers for pharmaceutical Technologies, 2015.

TRONI, K.L. Aprimoramento da técnica de calorimetria exploratória diferencial na determinação de dados de temperatura de ebulição de compostos puros e misturas binárias, Tese de Doutorado em Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2017.

VILLANOVA, J.C.O.; ORÉFICE, R.L. Aplicações farmacêuticas de polímeros, Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

VILLANOVA, J.C.O.; ORÉFICE, R.L.; CUNHA, A.S. Aplicações farmacêuticas de polímeros, Polímeros, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010.

VOGELSANGER, N.; FORMOLO, M. C.; PEZZIN, A. P. T.; SCHNEIDER, A. L. S. WANG, M.; CAI, X.; YANG, J.; WANG, C.; TONG, L.; XIAO, J.; LI, L. A targeted and pH-responsive bortezomib nanomedicine in the treatment of metastatic bone tumors, ACS Applied Materials Interface, v. 10, n. 48, p. 41003-41011, 2018.

WEIVODA, M. M.; HOHL, R. J. The effects of direct inhibition of genarylgenaryl pyrophosphate synthase on osteoblast differentiation, Journal of Cellular Biochemistry, v. 112, n. 6, p. 1506-1513, 2011.

WILLIAMS, D.F. Definitions in biomaterials, *Journal of Polymer Science*, v. 26, n. 9, p. 66-71, 1987.

WILLIAMS, D.F. On the nature biomaterials, *Biomaterials*, v. 30, p. 5897-5909, 2009.

WONG, R. W.; RABIE, A. B. Early healing pattern of statin-induced osteogenesis, *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, v. 43, n. 1, p. 46-50, 2005.

WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D.W. The return of a forgotten polymer – Polycaprolactone in the 21st century, *Progress in Polymer Science*, v. 35, p. 1217-1256, 2010.

WOOLF, A.D.; PFLEGER, B. Burden of major musculoskeletal conditions, *Bulletin of the World Health Organization*, v. 81, n. 9, p. 646-656, 2003.

XU, Y.; CHEN, C.; HELLWARTH, P.B.; BAO, X. Biomaterials for stem cell engineering and biomanufacturing, *Bioactive Materials*, v. 4, p. 366-379, 2019.

YANG, Y.; AGHAZADEH-HABASHI, A.; PANAHIFAR, A.; WU, Y.; BHANDARI, YANG, Y.; SYKES, M. Xenotransplantation: Current status and a perspective on the future, *Nature Reviews Immunology*, v. 7, p. 519-531, 2007.

ZANETTI, M.; MAZON, L.R.; de MENESES, A.C.; SILVA, L.L.; de ARAÚJO, P.H.H.; FIORI, M.A.; de OLIVEIRA, D. Encapsulation of geranyl cinnamate in polycaprolactone nanoparticles, *Materials Science and Engineering*, v.97, p. 198-207, 2019.

ZHANG, Y.; BRADLEY, A. D.; WANG, D.; REINHARDT, R. A. Statins: Bonemetabolism and treatment of bone catabolic diseases, *Pharmacology Research*, v. 88, p. 53-61, 2004.

ZHANG, Y.F.; WEI, L.F.; MIRON, R.J.; SHI, B.; BIAN, Z. Anabolic bone formation via a site-specific bone-targeting delivery system by interfering with semaphorin 4D expression, *Journal of Bone Mineralogy Research*, v. 30, n.2, p. 286-296, 2015.

ZHOU, Q.; ZHOU, Y.; CHEN, H.; WANG, Z.; TANG, Z.; LIU, J. The efficacy and safety of certolizumab pegol (CZP) in the treatment of active rheumatoid arthritis expert opinion on drug delivery 811(RA): A meta-analysis from nine randomized controlled trials, *International Journal Clinical Experimental Medicine*, v. 7, n. 11, p. 3870-3880, 2014.