



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ANANINDEUA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS (PPGCEM-UFGPA)



TAINARA DE PAULA DE LIMA LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REDES SEMI-
INTERPENETRANTES DE PCL-pHEMA-COPAÍBA PARA POTENCIAL USO
COMO SCAFFOLDS NA ENGENHARIA DE TECIDOS**

ANANINDEUA
2024

TAINARA DE PAULA DE LIMA LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REDES SEMI-
INTERPENETRANTES DE PCL-pHEMA-COPAÍBA PARA POTENCIAL USO
COMO SCAFFOLDS NA ENGENHARIA DE TECIDOS**

Proposta de Dissertação de Mestrado
submetida ao Programa de Pós-graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM-
UFPA), do Campus Universitário de
Ananindeua, da Universidade Federal do Pará.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Marcele Fonseca
Passos

Área de concentração: Tecnologia de
Materiais

Linha de pesquisa: Biomateriais

ANANINDEUA

2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará**
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L732d Lima, Tainara de Paula de Lima.
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REDES
SEMI-INTERPENETRANTES DE PCL-pHEMA-COPAÍBA PARA
POTENCIAL USO COMO SCAFFOLDS NA
ENGENHARIA DE TECIDOS / Tainara de Paula de Lima Lima. —2024.
97 f. : il. color.

Orientador(a): Profª. Dra. Marcele Fonseca Passos Dissertação
(Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Campus Universitário de Ananindeua, Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais, Ananindeua, 2024.

1. Engenharia de tecidos. 2. scaffolds. 3. rede semi-IPN. 4. PCL-
pHEMA-copaíba. 5. óleos vegetais amazônicos. I. Título.

CDD 620.11

TAINARA DE PAULA DE LIMA LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REDES SEMI-
INTERPENETRANTES DE PCL-pHEMA-COPAÍBA PARA POTENCIAL USO
COMO SCAFFOLDS NA ENGENHARIA DE TECIDOS**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), do *Campus* Universitário de Ananindeua (CANAN), da Universidade Federal do Pará (UFPA), como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre(a) em Ciência e Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Tecnologia de Materiais

Linha de pesquisa: Biomateriais

Data de aprovação: 22/02/2024

Banca examinadora

Prof.^a Dr.^a Marcele Fonseca Passos

Orientadora – (PPGCEM/UFPA)

Prof. Dr. Alisson Clay Rios da Silva

Examinador interno – (PPGCEM/UFPA)

Prof. Dr. Rodrigo Alvarenga Rezende

Examinador externo –

Universidade de Araraquara (UNIARA) / Programa de Pós-graduação em Medicina
Regenerativa e Química Medicinal

Em memória de Ana Cristina Oliveira de Lima

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Ana Cristina Lima e Nelci Taciano Lima, por terem sido os alicerces fundamentais para minha formação.

À Prof.^a Dr.^a Marcele Fonseca Passos, pelos constantes ensinamentos, apoio e orientações durante a realização desse trabalho.

À Ruth Helena, Maria José e Rosa Maria por terem sido meu suporte em momentos tempestuosos.

A David Farias, por ter sido meu porto seguro durante essa trajetória.

A Lucas Lima, Felipe Lima, Eduardo Lima, Elaine Lima, Rafael Lima, e Renato Maloni, por terem sido assíduos incentivadores.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM) da UFPA.

Ao Laboratório de Biomateriais, Bioprodutos e Tecnologias de Biofabricação, local onde foram realizadas as etapas experimentais dessa pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão do aporte financeiro para realização dessa pesquisa.

“Allons-y”
(Doctor Who)

RESUMO

A engenharia de tecidos atua como uma alternativa para substituir órgãos e tecidos do sistema biológico que foram afetados por alguma enfermidade. Torna-se necessário, portanto, estudar com profundidade o tipo de material que será usado como *scaffold*. Entre os materiais nessa área, destacam-se os polímeros e hidrogéis, como: a poli (ϵ -caprolactona) (PCL) e o poli (2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA), respectivamente. A PCL é um polímero biorreabsorvível, biodegradável e biocompatível, no entanto, é hidrofóbica. Por outro lado, o PHEMA é um hidrogel biocompatível e hidrofílico, mas não apresenta boa degradabilidade. Além disso, é possível intercalar compostos bioativos, através do uso de óleos vegetais amazônicos, nessas estruturas, para potencializar, ainda mais, a regeneração do tecido e combater possíveis infecções por microrganismos. Visto isso, portanto, esse trabalho objetivou a obtenção e caracterização de redes semi-IPN de PCL-PHEMA-copaíba para uso como *scaffolds* na engenharia de tecidos, usando a técnica de rotofiação. Os resultados demonstraram, com sucesso, o processamento de fibras PCL (com e sem óleo de copaíba) e a formação de redes semi-IPN PCL-C-PHEMA. A cromatografia gasosa confirmou a presença de componentes bioativos no óleo essencial de copaíba, sendo majoritário o (β)-cariofileno (40,75%). O espectro de FTIR mostrou interações dos grupos funcionais dos materiais, confirmando a incorporação do óleo na estrutura da PCL e a formação de redes semi-interpenetrantes. As micrografias e topografias revelaram microfibras emaranhadas e desorganizadas em todas as amostras, com diferentes diâmetros, porosidades e rugosidades. As amostras de PCL, PCL-C, e PCL-C-PHEMA apresentaram variação de diâmetros de fibras em torno de 18,40 a 19,50 μm , 3,11 a 24,44 μm , e 6,29 a 8,14 μm , respectivamente. As análises do ângulo de contato (PCL: 86,96°, PCL-C: 93,99°, PCL-PHEMA: 29,42°, e PCL-C-PHEMA: 56,02°) e teste de inchamento (PCL: 4,49%, PCL-C: 2,73%, PCL-PHEMA: 21,57%, e PCL-C-PHEMA: 10,11%) demonstraram que a adição do hidrogel à estrutura do PCL otimizou as propriedades hidrofílicas do material. Os ensaios sol-gel indicaram que os materiais PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA apresentaram 73,5 e 74,3% de fração gel, respectivamente. Os termogramas confirmaram que o material não sofreu alteração significativa na estabilidade térmica com a adição do hidrogel e do óleo. Testes microbiológicos confirmaram a ação antimicrobiana do óleo de copaíba e dos scaffolds (PCL-C-PHEMA e PCL-C) contra bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, com halo de inibição de 9, 7, e 5 mm, respectivamente. E os ensaios de citotoxicidade concluíram que os scaffolds de PCL, PCL-PHEMA e PCL-C apresentaram boa viabilidade celular, todavia

torna-se necessário otimizar o processo de fotopolimerização da rede semi-IPN, haja vista que os materiais PCL-C-PHEMA deram moderada toxicidade. Espera-se, por fim, que um novo biomaterial seja desenvolvido para uso na engenharia de tecidos valorizando o uso de recursos naturais amazônicos.

Palavras-chave: Engenharia de tecidos; *scaffolds*; rede semi-IPN; PCL-pHEMA-copaíba; óleos vegetais amazônicos.

ABSTRACT

Tissue engineering is an alternative to replace organs and tissues in the biological system affected by an illness. Therefore, it is necessary to study the material used as a scaffold in depth. Among the materials in this area, polymers and hydrogels stand out, such as poly (ϵ -caprolactone) (PCL) and poly (2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA), respectively. PCL is a bioresorbable, biodegradable, and biocompatible polymer. However, it is hydrophobic. On the other hand, pHEMA is a biocompatible and hydrophilic hydrogel but does not show good degradability. Furthermore, it is possible to intersperse bioactive compounds through the use of Amazonian vegetable oils in these structures to further enhance tissue regeneration and combat possible infections by microorganisms. Therefore, this work aimed to obtain and characterize PCL-PHEMA-copaiba semi-IPN networks for scaffolds in tissue engineering using the rotospinning technique. The results successfully demonstrated the processing of PCL fibers (with and without copaiba oil) and the formation of PCL-C-PHEMA semi-IPN networks. Gas chromatography confirmed the presence of bioactive components in copaiba essential oil, the majority being (β)-caryophyllene (40.75%). The FTIR spectrum showed interactions of the materials' functional groups, confirming the incorporation of the oil into the PCL structure and the formation of semi-interpenetrating networks. Micrographs and topographies revealed tangled and disorganized microfibers in all samples, with different diameters, porosities, and roughness. The PCL, PCL-C, and PCL-C-PHEMA samples presented fiber diameters ranging from 18.40 to 19.50 μm , 3.11 to 24.44 μm , and 6.29 to 8.14 μm , respectively. Contact angle analyses (PCL: 86.96°, PCL-C: 93.99°, PCL-PHEMA: 29.42°, and PCL-C-PHEMA: 56.02°) and swelling test (PCL: 4.49%, PCL-C: 2.73%, PCL-PHEMA: 21.57%, and PCL-C-PHEMA: 10.11%) demonstrated that the addition of the hydrogel to the PCL structure optimized the hydrophilic properties of material. The sol-gel tests indicated that the PCL-PHEMA and PCL-C-PHEMA materials presented 73.5 74.3% gel fractions. Thermograms confirmed that the material did not significantly change in thermal stability with the addition of the hydrogel and oil. Microbiological tests confirmed the antimicrobial action of copaiba oil, PCL-C-PHEMA, and PCL-C scaffolds against the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*, with an inhibition halo of 9, 7, and 5 mm, respectively. Moreover, the cytotoxicity tests concluded that the PCL, PCL-PHEMA, and PCL-C scaffolds showed good cell viability. However, optimizing the photopolymerization process of the semi-IPN network is necessary, given that the PCL-C-PHEMA materials were

moderately toxic. Finally, a new biomaterial is expected to be developed for use in tissue engineering, valuing the use of natural Amazonian resources.

Keywords: Tissue engineering; scaffolds; semi-IPN network; PCL-pHEMA-copaiba; Amazonian vegetable oils.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ilustração dos componentes chave da engenharia de tecidos (scaffolds, células e fatores de crescimento).....	23
Figura 2- Ilustração referente às etapas da Engenharia de Tecidos.....	24
Figura 3 - Evolução dos biomateriais	25
Figura 4- Modelo de scaffold 3D com poros interligados para a proliferação de células	27
Figura 5- Ilustração comparativa entre o cultivo celular em scaffolds (a) e em plataformas 2D (b)	28
Figura 6 - Esquema da síntese da PCL por diferentes rotas	33
Figura 7 – Ilustração da técnica de rotofiação	34
Figura 8 - Representação das reticulações física e química dos hidrogéis	36
Figura 9 - Processo de polimerização do (PHEMA)	37
Figura 10 – Representação ilustrativa das ligações de hidrogênio presentes nos hidrogéis de PHEMA	37
Figura 11 - Ilustração da dispersão da Copaifera ao redor do mundo	41
Figura 12- Etapas experimentais para obtenção dos scaffolds	44
Figura 13- Fluxograma da metodologia	45
Figura 14 - Sistema de rotofiação.....	46
Figura 15- Processo de fotopolimerização dos hidrogéis de PHEMA na estrutura da PCL (formação das redes semi-IPN)	47
Figura 16- Fibras de PCL obtidas pela técnica de rotofiação, (a) durante o processo, (b) fibras de PCL-óleo de copaíba (PCL-C), e (c) fibras de PCL controle (PCL)	55
Figura 17 – (a) Scaffolds de PCL cortados com auxílio do paquímetro, (b) scaffolds de PCL e, (c) PCL-C	55
Figura 18 - Comparação macroscópica entre os scaffolds	56
Figura 19 - Valores médios e desvio padrão do ângulo de contato da superfície dos scaffolds	57
Figura 20 - Micrografias dos scaffolds estudados: A: PCL a magnitude de 200 KX, B: PCL a 1000 KX, C: PCL-C a 200KX, D: PCL-C a 1000 KX, E: PCL-C-PHEMA a 200KX, F: PCL-C-PHEMA a 1000 KX, G: PCL-PHEMA a 200KX, e H: PCL-PHEMA a 1000 KX.	59
Figura 21- Topografias 3D obtidas via microscopia confocal, com lente de ampliação de 10×, dos scaffolds: (A) – PCL, (B) – PCL-PHEMA, (C) – PCL-C, (D) – PCL-C-PHEMA	60

Figura 22 - Imagens ópticas via microscopia confocal: (A) – PCL, (B) – PCL-PHEMA, (C) – PCL-C, (D) – PCL-C-PHEMA.....	61
Figura 23- Espectro FTIR dos scaffolds de PCL, PCL-C, PHEMA, PCL-C-PHEMA, e O.C62	
Figura 24 - TGA dos scaffolds de PCL, PCL-C, PCL-PHEMA, e PCL-C-PHEMA.....	64
Figura 25- DrTGA dos scaffolds de PCL, PCL-C, PCL-PHEMA, e PCL-C-PHEMA	65
Figura 26 - Perfil de absorção de fluídos das amostras estudadas, em PBS.....	67
Figura 27 - Cristalinidade dos scaffolds estudados: PCL, PCL-C-PHEMA, PCL-PHEMA e PCL-C.....	69
Figura 28 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de copaíba contra: (a) <i>Klebsiella pneumoniae</i> , (b) <i>Escherichia coli</i> , e (c) <i>Staphylococcus aureus</i> . Atividade antimicrobiana dos scaffolds contra <i>Staphylococcus aureus</i> : (D1) PCL-C-PHEMA, (D2) PCL-C, (E3) PCL-PHEMA, e (E4) PCL	70
Figura 29 - Atividade antimicrobiana dos scaffolds e do óleo sem a incorporação do Tween 80.	71
Figura 30 – Viabilidade celular dos fibroblastos 3T3 nos scaffolds de PCL, PCL-C, PHEMA, PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA. CTL – sem tratamento, grupo controle. CTLD – células mortas, grupo controle de reação. (*) diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) em comparação ao grupo controle (#).	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Exemplos de biomateriais e suas aplicações	26
Tabela 2 - Principais materiais usados para síntese de scaffolds	29
Tabela 3 - Principais polímeros naturais	30
Tabela 4 - Composição de diterpenos e sesquiterpenos do óleo de copaíba (<i>Copaifera officinalis</i>).....	41
Tabela 5 - Identificação dos scaffolds estudados	47
Tabela 6 - Composição química do óleo essencial de copaíba via cromatografia gasosa.....	52
Tabela 7 - Tabela referente a rugosidade média dos materiais, obtidos via tratamento no software Gwyddion	60
Tabela 8 - Parâmetros das curvas TGA e DrTGA dos scaffolds: temperatura de início da degradação (Tonset), temperatura máxima de degradação (Tdmax), perda de massa (%) e porcentagem de resíduo.	64
Tabela 9 - Fração Sol-Gel dos scaffolds em PBS.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(2D)	Bidimensional
(3D)	Tridimensional
(ATEMA)	2-(acetiltio)etil metacrilato
(CG)	Cromatografia em fase gasosa
(CGI)	Colágeno tipo I
(CNCs)	Nanocristais de celulose(CNCs)
(ECM)	Matriz extracelular
(FBS)	Soro bovino fetal
(FDA)	<i>Food and Drug Administration</i>
(FTIR)	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
(GelMA)	Metacrilato de gelatina
(HEMA)	2-hidroxietil metacrilato
(KBr)	Brometo de potássio
(MDO)	2-metileno-1,3-dioxepano
(MEV)	Microscopia eletrônica de varredura
(MM)	Massa molecular
(MPC)	Zwitteriônico 2-metacrilato de fosforilcolina
(MSCs)	Células-tronco mesenquimais humanas
(MTT)	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5 difeniltetrazólio
(PBAE)	Poli(β -aminoéster)
(PBS)	Solução tampão fosfato-salina
(PCL)	Poli(ϵ -caprolactona)
(PHB)	Polihidroxibutirato
(pHEMA)	Poli (2-hidroxietil metacrilato)
(PLA)	Poli(ácido láctico)
(PLGA)	Poli(ácido láctico-co glicólico)
(PLLA)	Poli (L-ácido láctico)
(PU)	Poliuretano
(PVP)	Polivinilpirrolidona (PVP)
(RJS)	<i>Rotary jet spinning</i>
(RROP)	Polimerização de abertura do anel radical

(SBS)	<i>Solution blowspinning</i>
(semi-IPN)	Semi-interpenetrantes (semi-IPN)
(TE)	Engenharia de tecidos
(UV)	Radiação ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	20
1.1.	Objetivos.....	21
1.1.1.	Objetivo Geral	21
1.1.2.	Objetivos específicos.....	21
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1.	Engenharia de tecidos	23
2.2.	Biomateriais	24
2.3.	<i>Scaffold</i> , o dispositivo chave da engenharia de tecidos e cultura celular	26
2.4.	Principais tipos de <i>scaffolds</i>	28
2.4.1.	<i>Materiais Poliméricos</i>	30
2.4.1.1.	<i>Poli (ε-caprolactona) (PCL) e rotofiação</i>	32
2.4.2.	Hidrogéis poliméricos.....	35
2.4.2.1.	<i>Poli (2-Hidroxietil Metacrilato) (PHEMA) e scaffolds a base de hidrogel / PCL</i>	36
2.5.	Redes semi-interpenetrantes (semi-IPNs)	39
2.5.1.	<i>Composto medicinal natural da região amazônica – óleo de copaíba (Copaifera officinalis)</i>	40
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1.	Materiais.....	43
3.2.	Metodologia.....	43
3.3.	Preparo da solução de PCL	45
3.4.	Rotofiação: obtenção das mantas a base PCL	45
3.5.	Preparo da solução de PHEMA	46
3.6.	Preparo das redes semi-interpenetrantes	46
3.7.	Caracterizações	48

3.7.1. Determinação dos componentes químicos do óleo essencial de Copaíba	48
3.7.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	48
3.7.3. Microscopia confocal a laser.....	48
3.7.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	49
3.7.5. Difração de Raio-x.....	49
3.7.6. Capacidade de intumescimento e Fração sol-gel	49
3.7.7. Ângulo de contato	50
3.7.8. Análise Termogravimétrica	50
3.7.9. Avaliação da atividade antibacteriana dos scaffolds e do óleo essencial de copaíba	50
3.7.9.1. <i>Microrganismos</i>	50
3.7.9.2. <i>Preparo de Inóculo Bacteriano</i>	51
3.7.9.3. <i>Teste antimicrobiano de Difusão em Disco</i>	51
3.7.10. Testes in vitro.....	51
3.7.10.1. <i>Cultivo de fibroblastos 3T3</i>	51
3.7.10.2. <i>Avaliação da citotoxicidade pelo ensaio MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]</i>	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1. Cromatografia gasosa do óleo essencial de copaíba	52
4.2. Formação das fibras de PCL e Rede semi-IPNs	54
4.3. Ângulo de Contato	56
4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	58
4.5. Microscopia Confocal a Laser	60
4.6. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	62
4.7. Análise Termogravimétrica (TGA).....	63
4.8. Ensaio de Inchamento e fração sol-gel.....	66
4.9. Difração de Raio-X	68
4.10. Ensaios Microbiológicos.....	69

4.11. Ensaio in vitro	71
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
6. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS.....	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
8. ANEXOS	76

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O ser humano está imerso em uma constante busca de soluções que possam contornar problemáticas e garantir melhor qualidade de vida para a sociedade. O avanço da engenharia de tecidos é uma prova concreta disso. Diante as desvantagens que acometem o transplante tecidual (rejeição, número limitado de doadores, utilização de imunossuppressores, etc.), pesquisadores não medem esforços para desenvolver dispositivos biomiméticos que substituam tecidos naturais danificados (FATHI-ACHACHELOUEI *et al.*, 2019). Portanto, é realizada a união entre diversas áreas do conhecimento (engenharia, medicina, biologia e biotecnologia), permitindo a elaboração de materiais cada vez mais realísticos com as funções teciduais (RAHMATI *et al.*, 2021).

Basicamente, para mimetizar essa estrutura, são utilizados suportes tridimensionais (3D) (*scaffolds*), células e fatores de crescimento, que, juntos, vão criar um ambiente propício para o desenvolvimento celular (JAMMALAMADAKA; TAPPA, 2018). Nessa aplicação, portanto, o *scaffold* acaba sendo um pilar essencial para que toda adaptação e proliferação de células, *in vitro* e *in vivo*, ocorra, além de ser uma alternativa interessante para substituir o cultivo bidimensional (2D). Pois, o cultivo 3D possibilita a avaliação mais fidedigna do comportamento das células. Sendo assim, parâmetros como geometria, morfologia, porosidade, propriedade mecânica e biocompatibilidade, desses biomateriais, devem ser minuciosamente analisados durante sua síntese (NAUREEN *et al.*, 2021).

Materiais como metais, cerâmicas, polímeros e compósitos são estudados com frequência para o desenvolvimento dos *scaffolds*, todavia, os materiais poliméricos ganharam maior destaque nos últimos anos. Os polímeros podem ser de origem sintética ou natural, apresentam potencial de biocompatibilidade, biodegradabilidade, e facilidade de processamento. Entre sua vasta opção, pode ser destacada a policaprolactona (PCL). Esse material, embora hidrofóbico (não interessante para o crescimento celular), apresenta um perfil favorável para atuar como *scaffold*. É biodegradável, biorreabsorvível pelo organismo e apresenta boa propriedade mecânica, além de ser processado por várias técnicas. Uma forma de se obter *scaffolds* de PCL é através da rotofiação. Essa técnica utiliza alta rotação que expõe a solução e forma fibras ao redor de um coletor. Trata-se de um processo acessível economicamente, rentável e rápido (ROGALSKI; BASTIAANSEN; PEIJS, 2017). Vida et al. (2018), por exemplo, desenvolveram *scaffolds* de PCL e poli (L-ácido lático) (PLLA), via método de rotofiação (VIDA et al., 2018).

Uma forma interessante de modificar as propriedades de um material, todavia, é unindo suas características individuais mais vantajosas com as de outros materiais. Sendo

assim, para otimizar a característica hidrofóbica da PCL, podem ser produzidas redes semi-interpenetrantes (semi-IPN). As redes se caracterizam pela combinação de um polímero na forma linear ou ramificada (PCL, neste caso), e o outro, na forma reticulada (hidrogel, por exemplo). Os hidrogéis são estruturas tridimensionais reticuladas que possibilitam alta absorção de líquidos, sem se desfazer (ADVINCULA et al., 2021) (ZHAO et al., 2022). Um exemplo de hidrogel que pode ser empregado para essa finalidade é o poli (2-hidroxietil metacrilato) (pHEMA). O pHEMA foi um dos primeiros hidrogéis usados como biomaterial, mais especificamente, na síntese de lentes de contato. Sua alta hidrofiliabilidade, biocompatibilidade, estímulo na adesão e proliferação celular ampliaram seu leque de aplicações.

Em conjunto a esses dois materiais, podem ser adicionados compostos bioativos que aceleram a regeneração do tecido. Sabe-se que diversos óleos vegetais, oriundos da região Norte do Brasil, apresentam propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, cicatrizantes, etc. E um deles é o óleo essencial de copaíba. Tradicionalmente utilizada pela população amazônica, a copaíba apresenta propriedades que a tornaram alvo de estudo dos pesquisadores (PINTO et al., 2023a). Pinto et al. (2020), por exemplo, adicionaram o óleo essencial de copaíba em filmes de quitosana para possível uso na engenharia de tecidos (PINTO et al., 2023b). Portanto, neste projeto, unir as propriedades da PCL-óleo de copaíba- PHEMA representou uma estratégia terapêutica na elaboração de scaffolds, sob a premissa de ajuste de suas propriedades físico-químicas e biológicas para potencial aplicação na engenharia de tecidos.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar *scaffolds* de PCL-copaíba-PHEMA, pela técnica de rotofiação, para potencial aplicação na engenharia de tecidos.

1.1.2. Objetivos específicos

- Avaliar a composição química do óleo essencial de copaíba via cromatografia gasosa (CG)
- Obter fibras de PCL (sem/com óleo de copaíba) a partir da técnica de rotofiação;
- Sintetizar hidrogéis de PHEMA sob membranas rotofiadas à base de PCL, obtendo, assim, a rede semi-interpenetrante de PCL-PHEMA e PCL- óleo de copaíba -PHEMA;

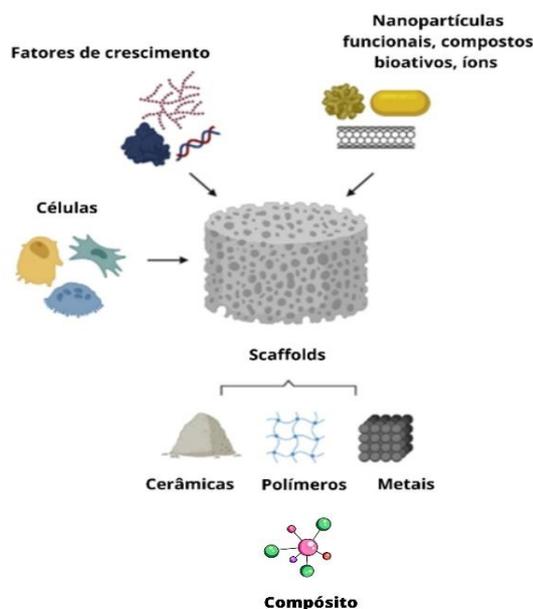
- Analisar a interação estrutural entre o óleo/ polímero/ hidrogel, usando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Estudar a cristalinidade dos materiais via difração de raios-x (DRX);
- Compreender a estabilidade térmica dos scaffolds através da análise termogravimétrica (TGA);
- Determinar a capacidade de inchamento das redes em PBS e realizar ensaio Sol-Gel;
- Caracterizar a superfície, a morfologia, e topografias das redes, por meio de medidas de ângulo de contato, microscopia eletrônica de varredura, e microscopia confocal a laser;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de copaíba e dos scaffolds;
- Analisar a viabilidade celular do material através dos ensaios *in vitro* (MTT).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Engenharia de tecidos

A Engenharia de Tecidos (ET) é um ramo que tem se demonstrado bastante promissor na substituição e tratamento de tecidos e órgãos lesionados (SPICER, 2020). Através da interdisciplinaridade entre várias áreas do conhecimento (engenharia, medicina, ciências dos materiais, biologia, etc.), foi possibilitado o desenvolvimento de materiais que biomimetizam a funcionalidade de tecidos afetados do sistema biológico (tecido cutâneo, cartilaginoso, ósseo, nervoso, cardíaco, etc.) (MABROUK; BEHEREI; DAS, 2020). Com isso, essa nova linha de pesquisa surgiu como uma alternativa interessante para substituir métodos antigos, como, por exemplo, o enxerto de tecidos (HABIBZADEH; MAHDI; MANSOORI, 2022), suprir o excesso de demanda de transplantes de órgãos, além de minimizar, consideravelmente, o índice de rejeição por parte do sistema imunológico do indivíduo receptor (PRAMANIK et al., 2022). Entretanto, para que ocorra a síntese de um novo tecido, torna-se imprescindível a presença de um ambiente que favoreça a proliferação celular. Sendo assim, a ET utiliza, para a elaboração de seus materiais, a associação de um biomaterial (scaffold, neste caso) com células e fatores de crescimento (Figura 1) (ZHANG et al., 2021) (ZHOU et al., 2022).

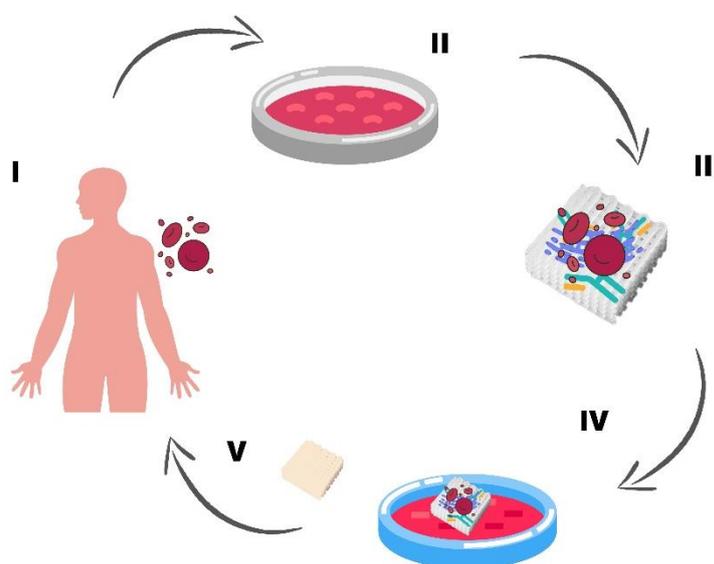
Figura 1 – Ilustração dos componentes chave da engenharia de tecidos (*scaffolds*, células e fatores de crescimento)



Fonte: Adaptado de Jodati, Yilmaz e Evis (2020)

Todo o procedimento, até a criação de um novo tecido, é complexo e pode ser compreendido nas seguintes etapas (Figura 2): primeiramente, é realizada a biópsia do tecido lesionado alvo (I). Após esse procedimento, as células são cultivadas e multiplicadas em laboratório (II). As células, então, são realocadas nos *scaffolds*, em conjunto com os fatores de crescimento, para estimular a proliferação celular (III). Logo após, o material, com as células, é colocado em um meio de cultura para estimular o crescimento celular e formar um novo tecido (IV). Por fim, a nova estrutura formada pode ser implantada para substituir o tecido danificado, sem ocasionar ações adversas no sistema biológico do paciente (V) (SHARMA et al., 2019).

Figura 2- Ilustração referente às etapas da Engenharia de Tecidos



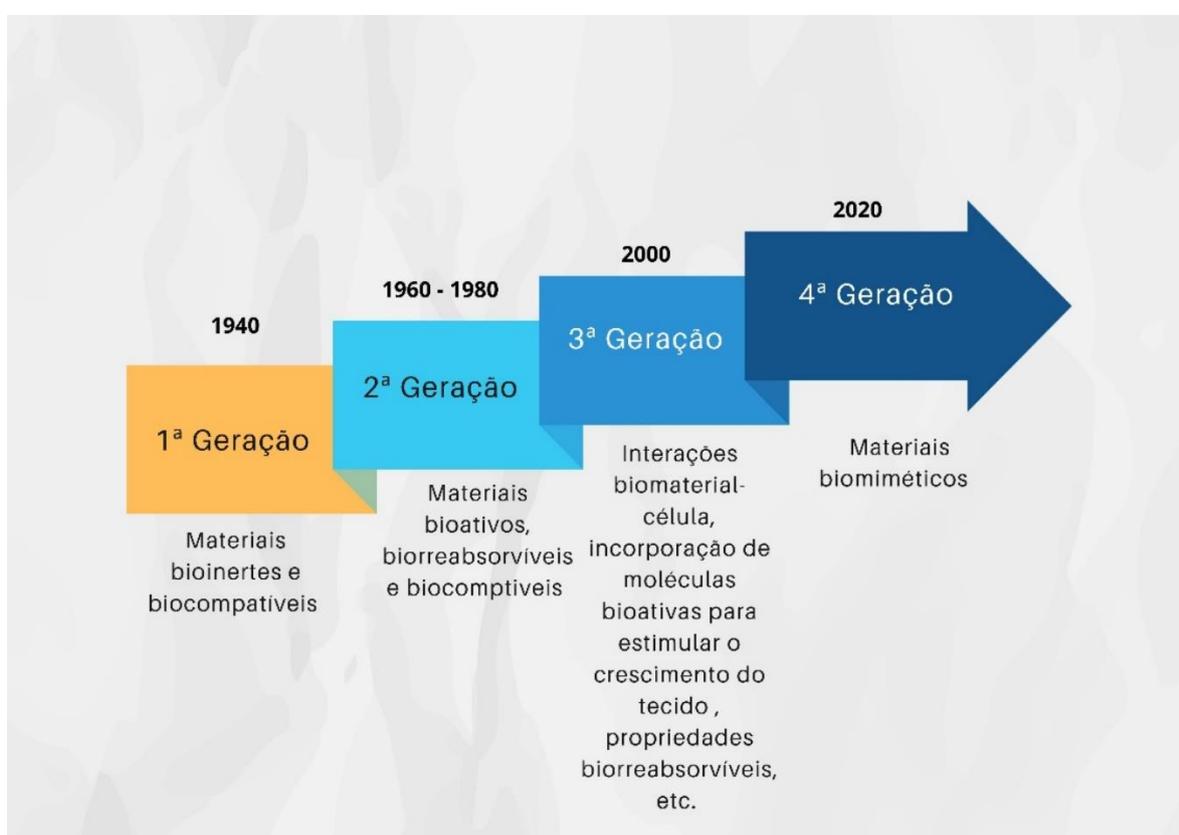
Fonte: Autora (2023).

2.2. Biomateriais

A Engenharia de Tecidos trabalha em conjunto com materiais específicos conhecidos como biomateriais. Os biomateriais podem ser constituídos por metais, compósitos, polímeros e/ ou cerâmicas, que entram em contato com o sistema biológico com o intuito de reparar ou substituir órgãos, tecidos e/ou funções do organismo (DEC; MODRZEJEWSKI; PAWLIK, 2023). Simultaneamente a isso, esses materiais podem ser usados para a liberação de medicamentos ou compostos bioativos, tornando ainda mais efetiva a restauração tecidual. Historicamente, há relatos de dispositivos que eram colocados no corpo, com o intuito de suprir alguma necessidade (PEREZ-PUYANA et al., 2020). Exemplos disso são os implantes

dentários a base de ferro, datados de 200 d.C., encontrados em restos mortais na França, e as suturas de linho que foram utilizadas pelos primeiros egípcios (RATNER; ZHANG, 2020). Entretanto, nesses períodos, não havia estudos profundos indicando se o material poderia ou não causar reações adversas no organismo dos indivíduos. Esse questionamento foi primeiramente feito em meados do século XX (MARIN; BOSCHETTO; PEZZOTTI, 2020). A partir de então, o campo de pesquisa sobre biomateriais foi ampliado (Figura 3) e novas conceituações e parâmetros foram formalizados, a fim de garantir qualidade, segurança e eficácia nos produtos comercializados para a sociedade (SONG et al., 2022).

Figura 3 - Evolução dos biomateriais



Fonte: Adaptado de Bhaskar et al. (2021)

Portanto, antes de um biomaterial ser aprovado para uso clínico, ele deve seguir vários critérios: físico-químicos, biológicos, mecânicos, morfológicas, térmicos, etc. Além disso, algumas características são requisitadas para esses materiais como: biocompatibilidade, atoxicidade, não ocasionar a formação de coágulos sanguíneos, não causar alergias, não ser mutagênico, não ser antigênico e, dependendo da aplicação, podem ser biorreabsorvível e biodegradável (PAXTON et al., 2019) (BISWAL; KUMAR; PRADHAN, 2020)

(ABDULGHANI; MITCHELL, 2019) (RAHMATI; MILLS; URBANSKA, 2021). Na Tabela 1, a seguir, destacam-se alguns dos principais biomateriais utilizados.

Tabela 1- Exemplos de biomateriais e suas aplicações

Biomateriais	Aplicações	Referências
Zircônia (Cerâmica)	Odontologia	(SHARANRAJ et al., 2019)
Alginato (Polímero natural)	Curativos cutâneos	(POOPROMMIN et al., 2022)
Titânio (Metal)	Implantes ortopédicos	(WANG et al., 2021a)
Nanofibras a base de quitosana, vidro bioativo e álcool polivinílico (PVA) (Compósito)	Liberação de fármacos	(EL-OKAILY et al., 2021)
Poli (ϵ-caprolactona) (PCL) (Polímero sintético)	<i>Scaffolds</i> / Engenharia de Tecidos	(HOU; WANG; BARTOLO, 2022)
Poli (2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA) (Hidrogel polimérico)	Lentes de contato	(LI et al., 2020)

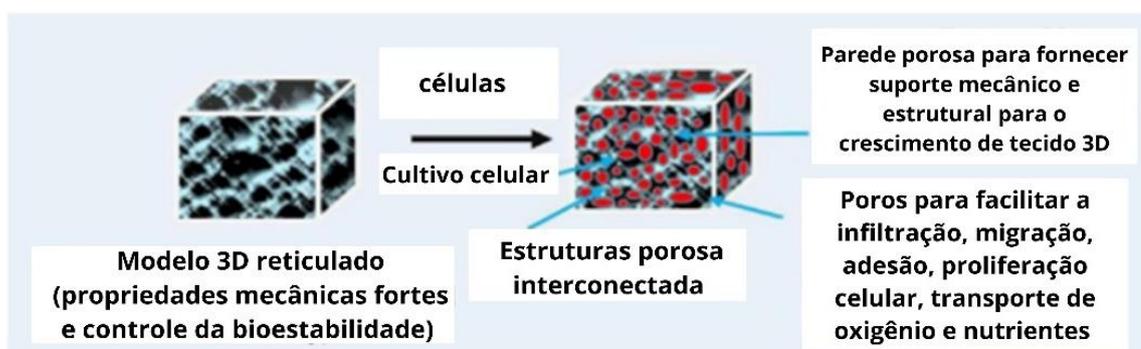
2.3. *Scaffold*, o dispositivo chave da engenharia de tecidos e cultura celular

A utilização de *scaffolds* tornou-se amplamente almejada na engenharia de tecidos, uma vez que esses materiais conseguem mimetizar a matriz extracelular (ECM) dos tecidos nativos, são biocompatíveis, podem ser biodegradáveis, apresentam poros que permitem a adesão, diferenciação, proliferação celular e difusão de nutrientes, além de garantir sustentação mecânica para as células (CHRISTMAN, 2019) (RIBAS et al., 2019)

(CHOCHOLATA; KULDA; BABUSKA, 2019) (HANUMANTHARAO; RAO, 2019) (TAN; ZHOU, 2020).

Os *scaffolds* são suportes/ matrizes nos quais as células são cultivadas com o propósito de construir um tecido *in vitro*. São, de fato, os principais agentes que permitem o crescimento das células em uma orientação tridimensional, podendo ter a conformidade do tecido avaliado (JING et al., 2019). Portanto, parâmetros como: geometria dos poros, diâmetro médio e interconectividade entre os poros são necessários para avaliar tanto a eficiência do desenvolvimento celular ao longo da matriz 3D, como também a resistência mecânica do material (LIVERANI et al., 2019) (JODATI; YILMAZ; EVIS, 2020) (PANAYI; ORGILL, 2019). Essas características (porosidade, propriedade mecânica e proliferação celular) devem sempre estar em harmonia para garantir uma estrutura estável e ter êxito na formação de um novo tecido (Figura 4) (RUIZ-ALONSO et al., 2021). Huang *et al.* (2020) elucidam muito bem esse argumento através da sua pesquisa, em que *scaffolds* à base de fibroína de seda foram sintetizados, via técnica de eletrofiação, com diferentes tamanhos de poros (pequeno, médio e grande) e avaliados usando células do tipo L929. Os autores, então, verificaram que cada material apresentou características diferentes. No caso dos poros pequenos (microporos com diâmetro médio de $5,9 \pm 1,4 \mu\text{m}$), houve restrição na infiltração e proliferação das células. Já os médios (mesoporos com diâmetro médio de $11,6 \pm 1,4 \mu\text{m}$) apresentaram uma melhora no crescimento celular. Por fim, os materiais com maior diâmetro de poros (macroporos com diâmetro médio de $37,2 \pm 12,9 \mu\text{m}$) promoveram melhores condições para infiltração celular no interior do *scaffold*.

Figura 4- Modelo de *scaffold* 3D com poros interligados para a proliferação de células

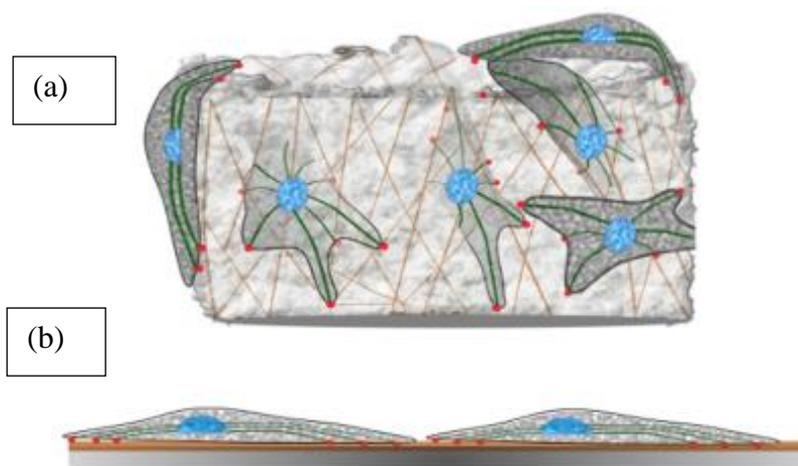


Fonte: Adaptado de Ullah e Chen (2020).

Essa nova abordagem de cultivo celular, usando *scaffolds*, contorna algumas problemáticas encontradas no cultivo em superfície plana bidimensional (2D) (AFEWERKI et

al., 2018) (BADEKILA; KINI, 2020) (Figura 5), onde existe uma limitação na interação entre as células e a matriz extracelular, contribuindo para alterações na morfologia, comportamento celular e funções biológicas (CASTIAUX; SPENCE; MARTIN, 2019) (HUANG et al., 2020). Uma comprovação disso pode ser vista na pesquisa de Fontoura *et al.* (2020). Nesse trabalho, os autores desenvolveram *scaffolds* à base de polihidroxibutirato (PHB) para serem usados no cultivo celular de melanoma murino B16 F10 e células de câncer de mama murino 4T1. Os autores, então, compararam o crescimento celular nos modelos 2D e 3D. Os resultados indicaram que o cultivo realizado nos *scaffolds* (modelo 3D) permitiram melhor contato e organização entre as células, além de apresentar maior semelhança com a morfologia celular *in vivo*.

Figura 5- Ilustração comparativa entre o cultivo celular em *scaffolds* (a) e em plataformas 2D (b)



Fonte: Adaptado de Campuzano, Pelling e Ellis (2019)

Compreende-se, deste modo, que a utilização de estruturas tridimensionais possibilita uma avaliação mais completa e complexa do comportamento celular e da formação tecidual, contribuindo para a criação de estruturas mais fidedignas com as funções do corpo humano (HABANJAR et al., 2021).

2.4. Principais tipos de *scaffolds*

Com o crescente avanço da tecnologia, um número significativo de *scaffolds* vem sendo desenvolvido para ser aplicado no campo da ET. Eles podem ser de origem variada (metais, cerâmicas, compósitos e polímeros), e dependendo da região onde a lesão será sanada, cada um desses materiais deve apresentar características específicas para garantir êxito na restauração tecidual (Tabela 2) (LIVERANI et al., 2019) (BADEKILA; KINI, 2020). Por

exemplo, no caso de regeneração de regiões mais duras (ossos), os *scaffolds* devem ser capazes de suportar constantes cargas e, em paralelo, guiar a formação do novo tecido (ELTOM; ZHONG; MUHAMMAD, 2019). Já em relação a regiões moles, os materiais devem ser preparados para mudar suas propriedades mecânicas com o tempo, imitando a matriz extracelular do tecido natural (CHAWLA et al., 2020).

Tabela 2 - Principais materiais usados para síntese de scaffolds

Materiais	Vantagens	Desvantagens	Referências
Metais	Boa propriedade mecânica.	Pode causar corrosão e liberação de íons tóxicos no corpo, caso o material não possua resistência ao desgaste.	(LV et al., 2021) (ELIAZ, 2019)
Polímeros	Boa biocompatibilidade, biodegradabilidade ajustável, contribui positivamente na adesão e proliferação celular	Resistência mecânica fraca (no caso de polímeros de origem natural)	(ABBASIAN et al., 2019) (OGUERI et al., 2019)
Cerâmicas	Boa osteocondutividade, compatibilidade tecidual e porosidade.	Baixa ductilidade, usinabilidade e sinterização	(PUNJ; SINGH; SINGH, 2021) (HERMENEAN et al., 2017)
Compósitos	Biocompatibilidade superior, pode ser processado por diferentes métodos, propriedades mecânicas e biológicas otimizadas	Dificuldades no preparo	(PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015)(YAQUB KHAN; MOHD YAQUB; MIN-HUA, 2019)

2.4.1. Materiais Poliméricos

Mesmo com opções diversificadas, os polímeros tornaram-se, nos últimos anos, o foco de estudo pela maioria dos pesquisadores para a síntese de *scaffolds* (LIU *et al.*, 2022). Esse fato pode ser facilmente compreendido, já que esses materiais apresentam características potenciais favoráveis, como: biocompatibilidade, biodegradabilidade, variedade de processamento, além de alguns serem reabsorvidos pelo organismo (GUO; POOT; GRIJPM, 2021).

Os polímeros podem ser classificados de duas formas: naturais e sintéticos. Os naturais, geralmente, são derivados de proteínas e polissacarídeos, motivo pelo qual exibem excelente biodegradabilidade e compatibilidade (EBHODAGHE, 2021) (ABDULGHANI; MITCHELL, 2019). Entre o leque abundante de polímeros naturais, destacam-se: colágeno, gelatina, quitosana, alginato, fibroína de seda e ácido hialurônico (WU *et al.*, 2021). Sendo que, cada um, apresenta vantagens e desvantagens individuais que influenciam diretamente na síntese de novos *scaffolds*, como pode ser visto na Tabela 3.

Tabela 3 - Principais polímeros naturais

Polímero natural	Vantagem	Desvantagem	Referência
Colágeno	Apresenta similaridade com a matriz extracelular, citocompatibilidade, versatilidade de processamento, além de ser aprovada pela <i>Food and Drug Administration</i> (FDA)	Baixa propriedade mecânica e apresenta problemas relacionados a taxa de degradação	(DONNALOJA <i>et al.</i> , 2020) (REZVANI GHOMI <i>et al.</i> , 2021) (COPES <i>et al.</i> , 2019)
Gelatina	Baixo custo, boa biocompatibilidade, biodegradabilidade previsível	Propriedade mecânica ruim e alta degradabilidade	(ZHANG; KING, 2020) (SUAMTE; TIRKEY; BABU, 2023) (GUO <i>et al.</i> ,

		em condições fisiológicas normais	2021)
Quitosana	Biodegradável, biocompatível, apresenta propriedade antibacteriana, estimula a proliferação celular	Fraca resistência e estabilidade mecânica	(JAZAYERI et al., 2019) (SARAVANAN; LEENA; SELVAMURUGAN, 2016)
Alginato	Não-tóxico, boa absorção de fluidos, apresenta biocompatibilidade e biodegradabilidade	É bioinerte, possui baixa propriedade mecânica e rápida taxa de degradação	(KOSTENKO; SWIOKLO; CONNON, 2022)
Ácido Hialurônico	Propriedades não-imunogênicas, biodegradabilidade controlada	Baixa propriedade mecânica e rápida degradação <i>in vivo</i>	(TIWARI; PATIL; BAHADUR, 2019)

Todavia, quando se aborda polímeros naturais existe uma desvantagem que aflige quase todos os materiais mencionados acima, que é baixa propriedade mecânica e reprodutibilidade, e isso afeta, consideravelmente, o desempenho do *scaffold*. Portanto, com o intuito de contornar tal problemática, geralmente esses materiais são misturados (“*blended*” - *blenda*, no português) com os polímeros sintéticos (KESHVARDOOSTCHOKAMI et al., 2021) (MOHAMMADALIZADEH; BAHREMANDI-TOLOUE; KARBASI, 2022).

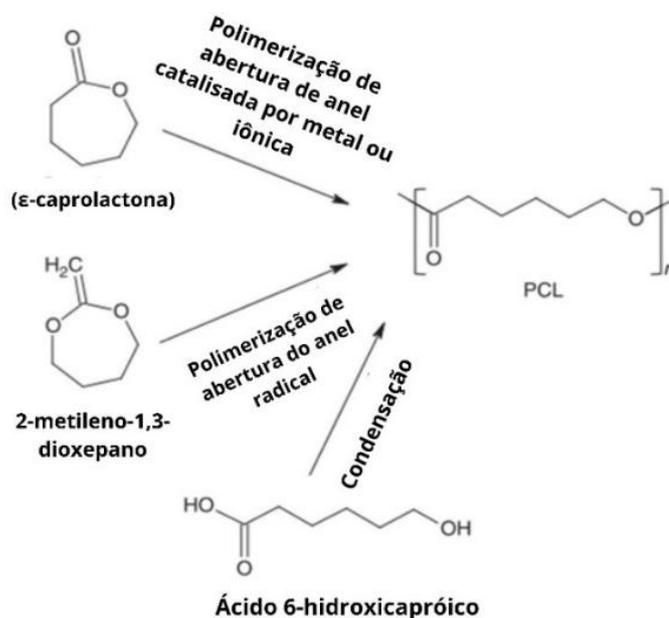
Os polímeros sintéticos podem ser projetados e modificados para atender funções distintas como *scaffold*, possuem boas propriedades mecânicas, biodegradabilidade, biocompatibilidade, e podem ser processados por diferentes métodos (WASYŁECZKO; SIKORSKA; CHWOJNOWSKI, 2020) (YE et al., 2022). Eles também dispõem de uma

amplitude considerável de materiais que podem ser estudados, sendo os mais populares: poli (ϵ -caprolactona) (PCL), poli (ácido láctico-co glicólico) (PLGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli (l-lactídeo) (PLLA), poli (2-hidróxiethyl metacrilato) (PHEMA) e poliuretano (PU) (JAZAYERI et al., 2019) (MCMAHAN et al., 2020). Como mencionado anteriormente, esses materiais contribuem para a melhora das propriedades mecânicas dos polímeros naturais, através das blendas, e isso pode ser visto em diversos trabalhos (JOSEPH et al., 2019). Wang *et al.* (2021), por exemplo, fabricaram *scaffolds* micro e nanofibrosos à base de PCL e gelatina. Foi constatado, através das técnicas de caracterização, que a PCL garantiu um apoio estrutural e orientou a proliferação celular, enquanto a gelatina permitiu o aumento da hidrofiliabilidade do material e adesão das células.

2.4.1.1. Poli (ϵ -caprolactona) (PCL) e rotofiação

Policaprolactona é um polímero sintético e semicristalino pertencente à classe dos poliésteres alifáticos biodegradáveis, tendo seu uso aprovado pela FDA (ILYAS et al., 2022). Não apresenta toxicidade; é biorreabsorvível; é biocompatível; possui boas propriedades mecânicas, reológicas e viscoelásticas, tornando-a, deste modo, uma escolha em potencial para ser utilizada na elaboração de *scaffolds* para engenharia de tecidos (SOWMYA; HEMAVATHI; PANDA, 2021) (BEHTAJ et al., 2021) (DWIVEDI et al., 2020). Ademais, a PCL é solúvel em grande parte dos solventes orgânicos (tolueno, diclorometano, clorofórmio, benzeno, tetracloreto de carbono, etc.), embora seja hidrofóbica (MAHMOUD SALEHI et al., 2021). Os primeiros pesquisadores a reportarem a síntese de PCL foram Van Natta e colaboradores (1934) (NATTA; AND; CAROTHERS, 1934). A partir de então, variados métodos de síntese da PCL surgiram na literatura, sendo o mais comum a polimerização por abertura do anel (ROP), onde o monômero (ϵ -caprolactona) sofre reações iônicas (aniônica e catiônica), catalisada por íons e metais (BARTNIKOWSKI et al., 2019). Encontram-se, também, menções a respeito da polimerização de abertura do anel radical (RROP) de 2-metileno-1,3-dioxepano (MDO) e condensação de ácido 6-hidroxicapróico (Figura 6) (SOWMYA; HEMAVATHI; PANDA, 2021).

Figura 6 - Esquema da síntese da PCL por diferentes rotas



Fonte: Adaptado de Guarino et al. (2017)

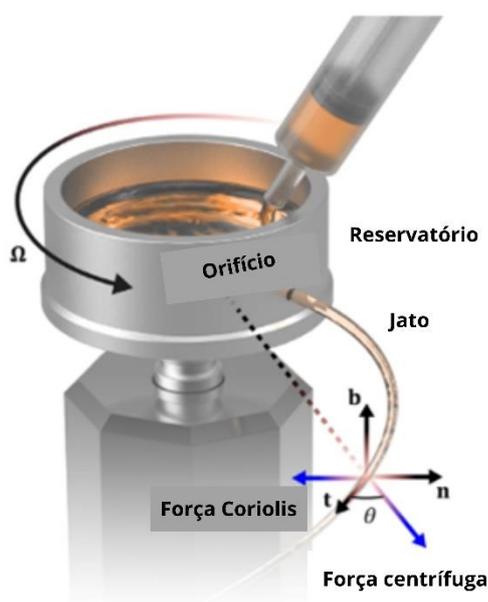
Devido a sua hidrofobicidade e degradação mais lenta (quando comparada a outros polímeros sintéticos), a PCL geralmente é copolimerizada ou misturada com outros materiais, e, assim, suas propriedades físico-químicas se tornam modificadas e otimizadas (MANDAL; SHUNMUGAM, 2020) (YAO et al., 2017) (SINGH et al., 2020).

Outro fator interessante é que esse polímero pode ser processado de diferentes modos para atuar como *scaffold*, destacando a eletrofiação, impressão 3D, bioimpressão 3D, evaporação de solventes e rotofiação (SOUZA et al., 2022a) (HEDAYATI et al., 2020) (BEHTAJ et al., 2021). Cada técnica pode formar estruturas diferentes, dependendo do tipo de aplicação desejada na engenharia de tecidos. Atualmente, na literatura, existe um abundante acervo de estudos referente a *scaffolds* de PCL processados através das técnicas de manufatura aditiva (impressão 3D e bioimpressão 3D) (CIUZAS; KRUGLY; PETRIKAITÈ, 2022) e eletrofiação (ALLAFCHIAN et al., 2019) (JANMOHAMMADI; NOURBAKHS, 2019). No entanto, a rotofiação (ou *rotary jet spinning (RJS)*, ou, ainda, *centrifugal spinning*, como é comumente conhecida na língua inglesa), mesmo que “tímida”, surge como uma alternativa interessante para obter *scaffolds* com micro e até nanofibras (altamente porosas),

já que possui fácil operação e apresenta uma produção com bom rendimento (HAIDER et al., 2020) (GUNER et al., 2020). Deve-se destacar, também, que a utilização de fibras (alinhadas ou desalinhadas) garantem maior estabilidade mecânica e auxiliam melhor a orientação do crescimento celular quando comparada com materiais sem fibras (comumente obtidos via técnica de evaporação de solvente) (JANOUSHKOVÁ, 2018). Isso pois, na técnica de evaporação, como pode haver resquício de solventes residuais, geralmente são preparados materiais com espessura pequena, além do fato de que a alta miscibilidade entre polímero-solvente tende a ocasionar baixa porosidade, o que interfere no desenvolvimento celular (MONTANHEIRO et al., 2022).

A RJS, basicamente, utiliza a alta velocidade rotacional para ejetar soluções poliméricas através de pequenos orifícios. O solvente, então, é rapidamente evaporado e as estruturas poliméricas são formadas ao redor de um coletor (Figura 7) (ROGALSKI et al., 2020). Portanto, não existe a necessidade em utilizar fonte de alta tensão ou soluções condutoras, diminuindo, assim, seu custo (DE SOUZA et al., 2021) (BAHÚ et al., 2022).

Figura 7 – Ilustração da técnica de rotofiação



Fonte: Adaptado de Liu e Parker (2018)

De Nadai Dias *et al.* (2022) desenvolveram e avaliaram *scaffolds* à base de PCL com diferentes concentrações de polifenol resveratrol, produzidos pela técnica de RJS. Os materiais apresentaram uma morfologia acessível para adesão e proliferação celular

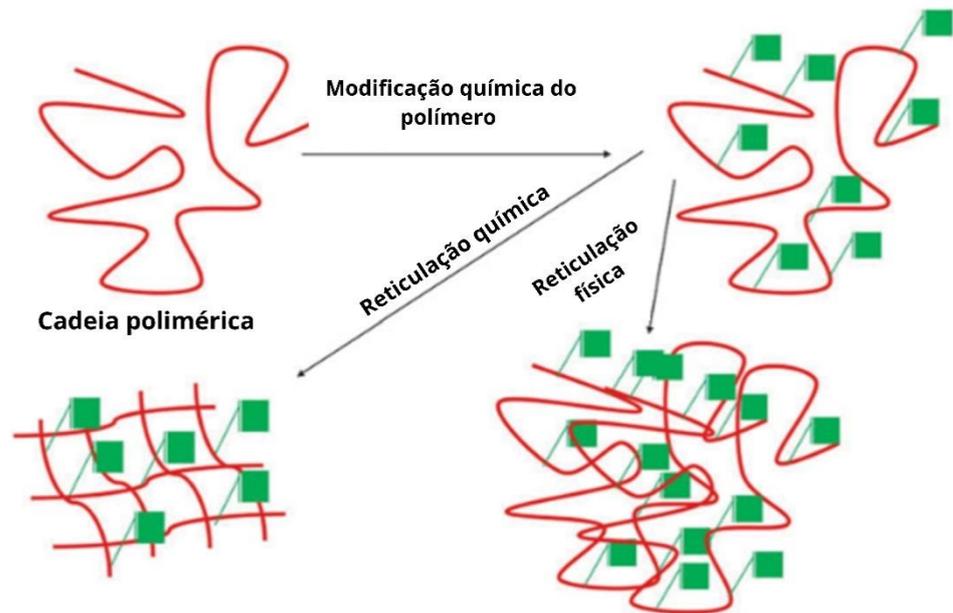
(microfibras e microporos) e não exibiram citotoxicidade. Já na pesquisa de Machado-Paula *et al.* (2020), foi feita uma comparação entre a técnica de eletrofiação e RJS para obter *scaffolds* de PCL. Constatou-se, que a PCL apresentou morfologias distintas: fibras rugosas com a RJS e fibras lisas com a eletrofiação, onde ambas favoreceram a proliferação de células de mamíferos.

2.4.2. Hidrogéis poliméricos

Outro material bastante requisitado para atuar como *scaffold*, são os hidrogéis. Eles são formados a partir de redes poliméricas (naturais e/ou sintéticas) tridimensionais reticuladas, com capacidade de absorver uma quantidade significativa de água e/ou fluidos biológicos (>90%), sem se dissolver (MONTASERI *et al.*, 2023) (LIMA; PASSOS, 2021). Essa propriedade ocorre devido à presença de grupos hidrofílicos como -COOH, -CONH₂, -CONH, -OH, SO₃H, e - NH₂. No entanto, quando estão em excesso, podem influenciar negativamente na propriedade mecânica do material (MADDUMA-BANDARAGE; MADIHALLY, 2020). Outrossim, os hidrogéis apresentam semelhança estrutural com a matriz extracelular, biocompatibilidade, consistência macia e elástica, alta porosidade, promovem a proliferação das células e são altamente permeáveis, contribuindo para troca de nutrientes e oxigênio (SAMIEI *et al.*, 2021).

A reticulação de um hidrogel pode ser classificada de dois modos: física ou química (NIKOLOVA; CHAVALI, 2020) (Figura 8). Na reticulação química, ocorre a formação de ligações covalentes, na rede polimérica, por intermédio de um agente de reticulação (PATEL; THAREJA, 2022). Através dessa técnica, os materiais apresentam boa estabilidade mecânica (UNAL; WEST, 2020). Entretanto, como a maioria dos agentes de reticulações é tóxico, deve-se removê-los completamente antes da aplicação final. Por outro lado, a reticulação física é formada por reações não-covalentes reversíveis, podendo ser do tipo: ligações de hidrogênio, força de Van der Waals, interações hidrofóbicas, radiação ultravioleta (UV) ou interações iônicas (GHANE *et al.*, 2020) (HU; WANG; XIAO, 2019). Ao contrário da reticulação química, esse método não requer a utilização de agentes tóxicos, todavia, acaba gerando instabilidade mecânica e fraqueza em seus materiais diante de estímulos externos (temperatura, pH, etc.) (PETERS *et al.*, 2021).

Figura 8 - Representação das reticulações física e química dos hidrogéis

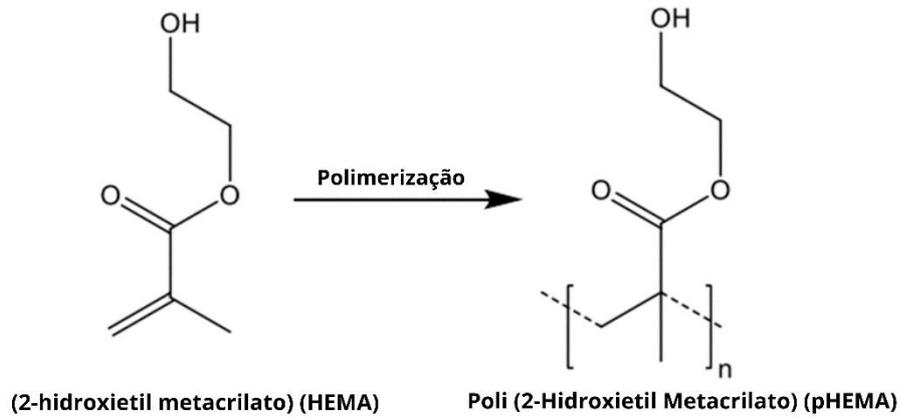


Fonte: Adaptado de Farrukh et al (2018)

2.4.2.1. Poli (2-Hidroxietil Metacrilato) (PHEMA) e scaffolds a base de hidrogel / PCL

O PHEMA é um hidrogel formado por redes poliméricas tridimensionais reticuladas, a partir da polimerização do monômero (2-hidroxietil metacrilato) (HEMA) (Figura 9). Esse processo pode ser realizado via polimerização em massa, em solução, em suspensão, ou em emulsão, sob influência de iniciadores térmicos, agentes químicos ou radiação ultravioleta (UV).

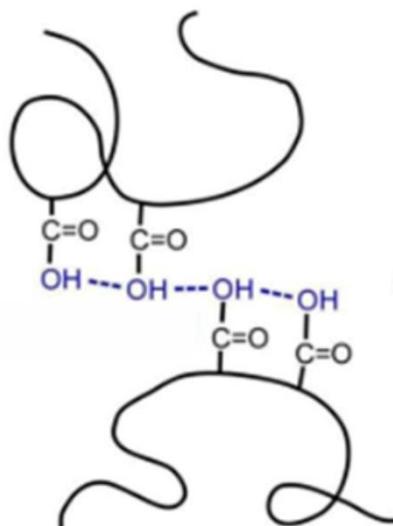
Figura 9 - Processo de polimerização do (PHEMA)



Fonte: Adaptado de Praveen *et al.* (2021)

No âmbito estrutural, o PHEMA contém um grupo carbonila (C=O) e uma hidroxila (O-H), onde o grupo (C=O) atua como receptor de prótons, e o grupo (O-H) como receptor e doador, o que possibilita a formação de ligações de hidrogênio (OH...OH e C=O...HO) (Figura 10) (MA; WEN, 2020) (KASPRÓW *et al.*, 2021). A presença dessas ligações é que proporciona a alta hidrofiliicidade (ACHILIAS; SIAFAKA, 2017) e a formação de uma rede tridimensional desse material.

Figura 10 – Representação ilustrativa das ligações de hidrogênio presentes nos hidrogéis de PHEMA



Fonte: Adaptado de Morita (2014)

Historicamente, o PHEMA foi um dos primeiros hidrogéis a serem estudados para aplicações biomédicas, sendo Wichterle e Lim (1960) os precursores, propondo a sua utilização como lentes de contato (PAYDAYESH; HELEIL; DADKHAH, 2022). A partir de então, diversas pesquisas identificaram que esse material apresenta boa biocompatibilidade, hidrofiliabilidade, facilidade de fabricação em diferentes configurações e propriedades mecânicas ajustáveis, ampliando, deste modo, seu acervo de aplicações (SVOZILOVÁ et al., 2021) (PASSOS et al., 2019) (BARUI, 2018). É válido ressaltar, também, que esse hidrogel não é um material degradável, e sua solubilidade em água depende da massa molar (MACKOVA et al., 2017).

Atualmente, o PHEMA pode ser utilizado como *scaffold* na engenharia de tecidos, liberação de fármacos, elaboração de córneas artificiais, curativos cutâneos, cartilagem articular, etc. (ZARE et al., 2021) (SAPTAJI et al., 2021). Janoušková *et al.* (2019) desenvolveram *scaffolds* macroporosos a base de hidrogel de PHEMA para atuarem no cultivo celular 3D. Já Arica e colaboradores (2021), sintetizaram fibras de metacrilato de gelatina (GelMA), por eletrofiação, circundadas com matriz de PHEMA, para serem usadas como *scaffold* na engenharia de tecido corneano. Os resultados da pesquisa mostraram que as células endoteliais da córnea tiveram uma boa adaptabilidade e proliferação, sem o registro de citotoxicidade. No trabalho de Singh *et al.* (2019) foi elaborado um *scaffold* oriundo de uma rede interpenetrante entre alginato/gelatina/PHEMA para aplicação na engenharia de tecido cartilaginoso. De acordo com os autores, os estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que o material promoveu a neovascularização, teve a capacidade de formar tecido conjuntivo com elevados teores de colágeno na estrutura e conseguiu recrutar células do tecido circundante, sem ocasionar resposta imune no hospedeiro.

Yao *et al.* (2022), sintetizaram *scaffolds* de PCL intercalado com hidrogel de alginato e com o composto melatonina (antioxidante natural) para serem usados na regeneração de tendão. Os resultados *in vitro* e *in vivo* demonstraram a eficácia na adaptação e proliferação celular, além da otimização da hidrofobicidade da PCL (YAO et al., 2022). Khandaker *et al.* (2022) desenvolveram *scaffolds* de PCL com diacrilato de polietileno glicol (PEGDA-PCL), PCL com alginato de sódio (PCL-SA) e PCL com colágeno tipo I (PCL-CG1). Em cada um dos materiais foram cultivados fibroblastos dérmicos humanos para verificar sua eficácia no reparo da pele. Os resultados mostraram que, embora todos os materiais tenham favorecido a adesão e o desenvolvimento das células, o *scaffold* PCL-CG1 indicou superioridade nas características mecânicas e biológicas. Já no caso do PHEMA, Filipovic e equipe (2022) tentaram melhorar a sua degradabilidade através da síntese de *scaffolds* de PHEMA

combinado com poli(β -aminoéster) (PBAE), gelatina e nanohidroxiapatita. Macková *et al.* (2017) desenvolveram *scaffolds* biodegradáveis a partir da copolimerização do PHEMA com 2-(acetiltio) etil metacrilato (ATEMA) e zwitteriônico 2-metacrililoiloxietil fosforilcolina (MPC) para serem usados no cultivo de células-tronco mesenquimais humanas (MSCs).

2.5. Redes semi-interpenetrantes (semi-IPNs)

Os polímeros/hidrogéis, conforme comentado anteriormente, de forma individual, podem apresentar desvantagens que influenciam nas características físico-químicas, mecânicas, morfológicas e biológicas para uso como *scaffold*. A PCL, por exemplo, é um material com alto grau de hidrofobicidade. O PHEMA, não é um material degradável. Então, para contornar essa problemática, muitos pesquisadores desenvolvem misturas e blendas entre os polímeros (RAJENDRA *et al.*, 2022). Alguns materiais, por exemplo, podem ser preparados simultaneamente em uma solução, ou o material pode ser sintetizado em um outro já processado, que é o caso das redes semi-interpenetrantes (semi-IPNs).

De acordo com Suo *et al.* (2018), as redes semi-IPNs ocorrem quando uma rede polimérica é sintetizada, independentemente, na presença de outras cadeias poliméricas. Através dessa prática, é possível garantir mais estabilidade mecânica, elasticidade e hidrofiliabilidade na nova estrutura formada. Malcher *et al.* (2021) sintetizaram *scaffolds* poliméricos semi-IPNs a base de poli (ácido L-lático) (PLLA) e PHEMA. O material apresentou boas propriedades térmicas, morfológicas, ausência de toxicidade, e contribuiu para a aderência e crescimento celular. Em outra pesquisa, Shahrousvand *et al.* (2019) desenvolveram redes semi-IPNs de poliuretano (PU) e PHEMA (reticulado na presença de nanocristais de celulose (CNCs)) para serem usadas como *scaffolds*. As análises demonstraram que o material possuiu biodegradabilidade, hidrofiliabilidade, atoxicidade, bom comportamento mecânico e boas taxas de proliferação de células.

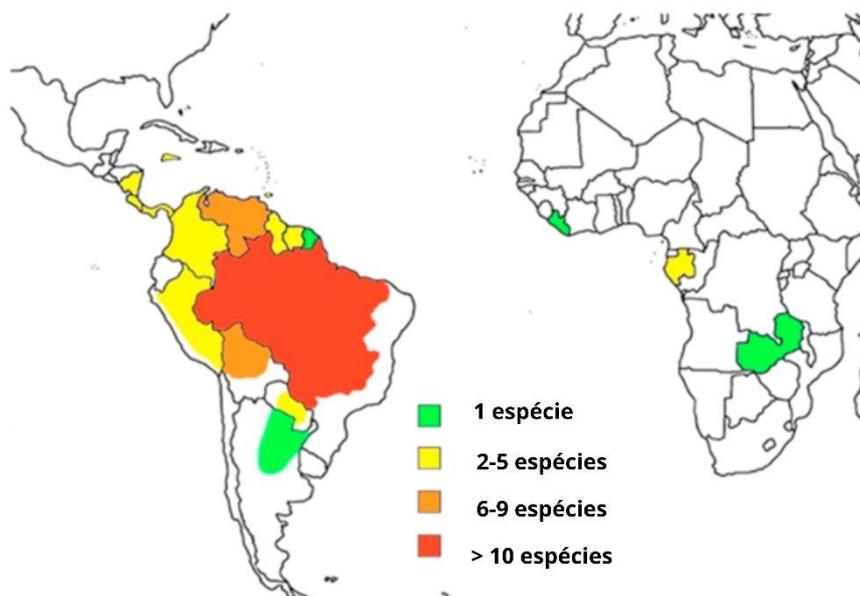
Sendo assim, unir as características da PCL com o PHEMA, via redes semi-IPNs, pode ser uma alternativa interessante na elaboração de novos *scaffolds* para a engenharia de tecidos. Algumas pesquisas, com a junção desses materiais, já foram realizadas e obtiveram excelentes resultados. Um exemplo disso, foi o estudo de Shams *et al.* (2020) que fabricaram *scaffolds* porosos, bioativos e biocompatíveis a base de PHEMA-PCL-apacita para ser usado como scaffold na engenharia de tecido ósseo, via técnica de evaporação de solvente. Já Damonte e colaboradores (2022), buscaram melhorar a propriedade mecânica dos hidrogéis de PHEMA através da polimerização com a PCL. Os resultados mostraram que os materiais tiveram elevada resistência a falha compressiva e estabilidade de inchamento, podendo ser

aplicado em várias áreas de pesquisa, incluindo uso como biomaterial. Todavia, até o momento presente, poucos trabalhos sobre o desenvolvimento de redes semi-IPN de PHEMA-PCL foram encontrados na literatura.

2.5.1. *Composto medicinal natural da região amazônica – óleo de copaíba (Copaifera officinalis)*

A floresta amazônica, entre seu vasto ecossistema, abriga uma das maiores biodiversidades do mundo, unindo espécies essenciais de fauna e flora (PEREIRA et al., 2019). Nessa região, encontra-se um leque abundante de plantas oleaginosas que apresentam características físico-químicas interessantes para o desenvolvimento de produtos medicinais, cosméticos, farmacêuticos, etc (SERRA et al., 2019) (IBIAPINA et al., 2021). Espécies como: andiroba (*Carapa guianensis*), babaçu (*Attalea speciosa*), patuá (*Oenocarpus bataua*), pracaxi (*Pentaclethra macroloba*), copaíba (*Copaifera officinalis*) e pequi (*Caryocar brasiliense*) já eram utilizadas, durante anos, por povos tradicionais da região para o tratamento de lesões, hidratação da pele e repelentes (SILVA et al., 2021) (ALVES et al., 2019) (HENRIQUES et al., 2022).

A copaíba é uma oleorresina extraída do tronco da leguminosa *Copaifera* (GHIZONI et al., 2017). Existem mais de 70 espécies de copaíferas distribuídas pelo mundo (*Copaifera officinalis*, *C. guianensis*, *C. majorina* Dwyer, *C. cearensis* Huber ex Ducke, etc.), embora sua maior concentração esteja alocada na América do Sul, especialmente, na região Norte do território brasileiro, tendo como espécies majoritárias a *C. multijuga* Hayne, *C. reticulata* Ducke, *C. langsdorffii* Desf, *C. paupera* (Herzog) Dwyer, etc. (Figura 11). Por esse motivo, o perfil químico desse material pode variar de acordo com clima, espécie ou composição do solo (TRINDADE; KELLY, 2018). Tradicionalmente, o seu uso medicinal ainda é utilizado com frequência pela população do Norte do Brasil, devido a herança dos povos antepassados.

Figura 11 - Ilustração da dispersão da *Copaifera* ao redor do mundo

Fonte: Adaptado de Arruda *et al.* (2019)

Através da oleorresina de copaíba é possível extrair sua fração volátil (óleo essencial) utilizando a técnica de destilação à vapor (URASAKI *et al.*, 2020). A busca por utilizar o óleo essencial de copaíba está relacionada com o potencial das propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antiproliferativas, analgésicas, cicatrizantes e antifúngicas, graças à presença de ácidos diterpenóides e sesquiterpenóides na composição química do óleo (PINTO *et al.*, 2023c) (TOBOUTI *et al.*, 2017) (Tabela 4). Tal fato contribuiu para sua aprovação como fitoterápico pela FDA (SOUZA *et al.*, 2022b).

Tabela 4 - Composição de diterpenos e sesquiterpenos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*)

<i>Copaifera officinalis</i>	
Ácidos diterpenóides	Sesquiterpenóides
Ácido poliáltico	β -cariofileno
Ácido copálico	β -bisaboleno
Ácido pinifólico	α -humuleno
Ácido catívico	β -selineno

Ácido ent-16B-caurano-19-óico	α -bisabolol
Ácido hardwickiico	α -elemeno
Ácido labdanico	γ -cadineno

Fonte: Adaptado de De Galúcio et al. (2016) e Narvaez et al. (2022).

Pesquisas realizadas por Ames-Sibin *et al.* (2018) investigaram a ação do β -cariofileno, maior constituinte do óleo essencial de copaíba, na inflamação sistêmica, no estado oxidativo e no metabolismo das células hepáticas de ratos com artrite induzida. Os resultados demonstraram que o β -cariofileno melhorou a inflamação sistêmica e o estado oxidativo de ratos artríticos e, além disso, não foi associado à hepatotoxicidade. Alvarenga *et al.* (2020) estudaram a eficácia da atuação da copaíba na inflamação e reparação tecidual de feridas orais em camundongos. Os resultados indicaram que o óleo promoveu aceleração na cicatrização do ferimento, com altos índices de reepitelização e otimização na organização das fibras colágena. Já Becker *et al.* (2020), investigaram os efeitos anti-inflamatórios e antinociceptivos de uma formulação em forma de creme (a base de Lanette N®, soluções de parabenos em propileno glicol, água e solução aquosa de imidazolidinil ureia) e óleo de copaíba para o tratamento de queimaduras cutâneas em camundongos.

A incorporação de óleos, com propriedades semelhantes à da copaíba, também foi estudada para o desenvolvimento de *scaffolds*. Em 2023, Souza e colaboradores, sintetizaram *scaffolds* de quitosana/gelatina incorporados com extrato de *Jatropha molíssima* (“pinhão-bravo”) como possível material para engenharia de tecido cutâneo (SOUZA et al., 2023). Bonan et al. (2015) desenvolveram nanofibras - via técnica de fiação da solução por sobre (*solution blowspinning (SBS)*) - à base de poli (ácido láctico) (PLA) e polivinilpirrolidona (PVP) intercaladas com óleo de copaíba para aplicações biomédicas. Os materiais tiveram ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Em outra pesquisa, Paranhos et al. (2022) sintetizaram membranas de quitosana, através do método de evaporação de solvente (“*casting method*”), carregadas com diferentes concentrações do óleo fixo de copaíba para serem aplicadas no tratamento de feridas cutâneas. Visto isso, as propriedades biológicas do óleo essencial de copaíba podem ser um potencial otimizador nos *scaffolds* rotofiadados de PCL-PHEMA, pois sabe-se que os implantes biomédicos podem sofrer com infecções ocasionadas por patógenos presentes no organismo, dificultando o processo de regeneração e recuperação dos pacientes. Para contornar tal problemática, compostos bioativos, como óleos essenciais,

podem ser adicionados para evitar a proliferação de microrganismos nos scaffolds (COMINI et al., 2022).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

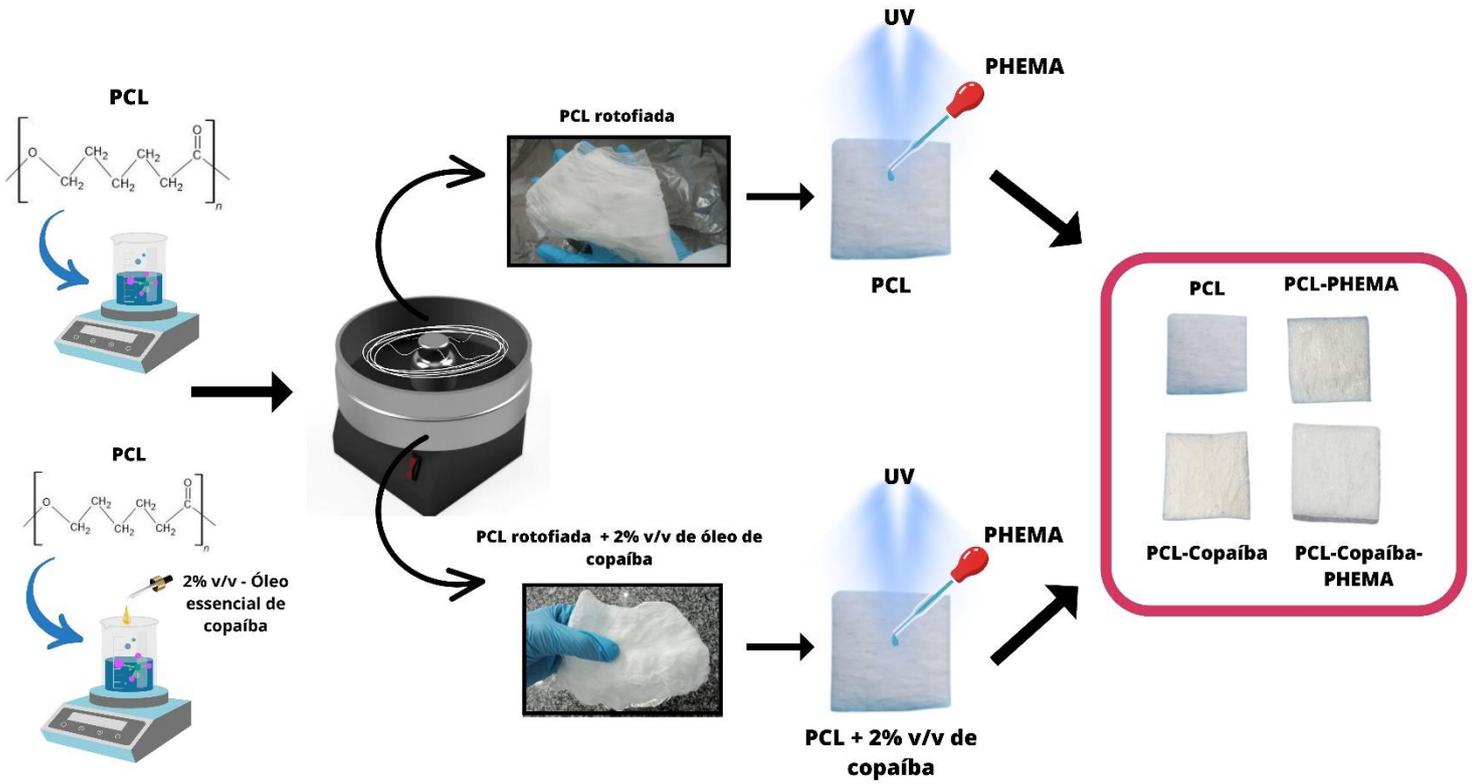
3.1. Materiais

Policaprolactona (PCL) (MM = 80,000 g/mol), solução tampão fosfato-salina (PBS) (10 vezes concentrado), óxido de 2, 4, 6 – trimetilbenzoildifenilfosfina (TPO), e 2-hidroxiethyl metacrilato (HEMA) (MM = 130,14 g/mol) foram fornecidos pela Sigma-Aldrich (Cotia-SP, Brasil). O óleo essencial de Copaíba (*Copaifera officinalis*) foi adquirido pela dōTERRA Cosméticos do Brasil Ltda (Barueri-SP, Brasil). Diclorometano P.A (MM = 84,93 g/mol e teor de pureza $\geq 99,5$ %) foi obtido pela Neon Comercial (Suzano-SP, Brasil).

3.2. Metodologia

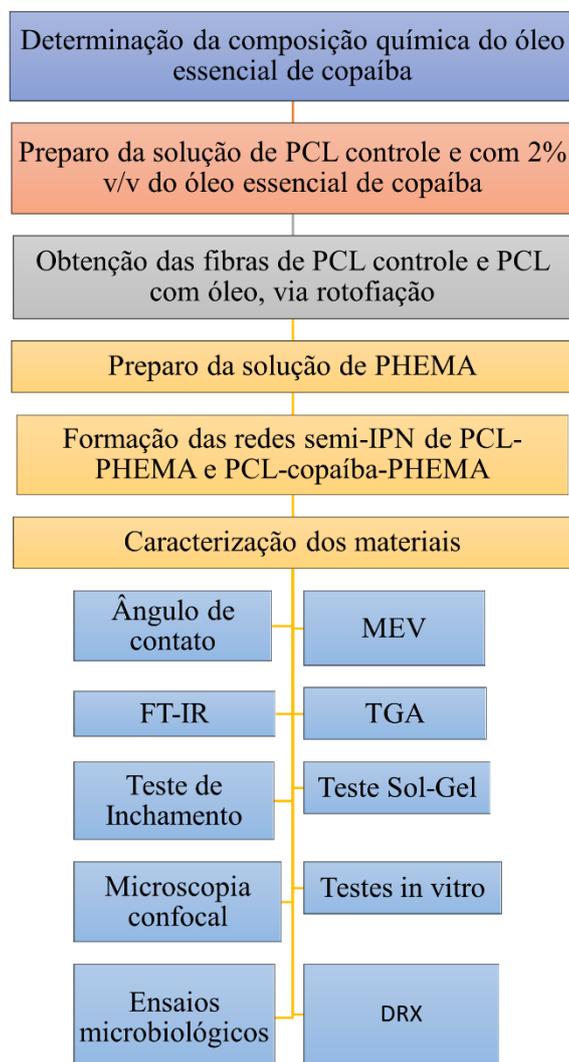
As Figura 12 e 13 mostram as etapas de processamento dos scaffolds e o fluxograma da metodologia deste trabalho, respectivamente. Os materiais foram desenvolvidos no Laboratório de Biomateriais, Bioprodutos e Tecnologias de Biofabricação (LABBIO3D), situado no Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará (UFPA). As caracterizações físico-químicas, de superfície e biológica ocorreram em parceria com o Museu Paraense Emílio Goeldi (Laboratório Adolpho Ducke) (Cromatografia gasosa), a Universidade Federal de São Paulo (Diadema / UNIFESP) (TGA e DRX), o Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) (microscopia confocal e ângulo de contato), o Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas (Belém / UFPA) (atividade antimicrobiana), Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões da UFPA (LEVAP/ UFPA) (FTIR), Laboratório de Microanálises do Instituto de Geociências (IG) da UFPA (MEV), e o Laboratório de Microscopia Eletrônica (Belém / IEC) do Instituto Evandro Chagas (testes *in vitro*).

Figura 12- Etapas experimentais para obtenção dos scaffolds



Fonte: Autora (2024)

Figura 13- Fluxograma da metodologia



Fonte: Autora (2024)

3.3. Preparo da solução de PCL

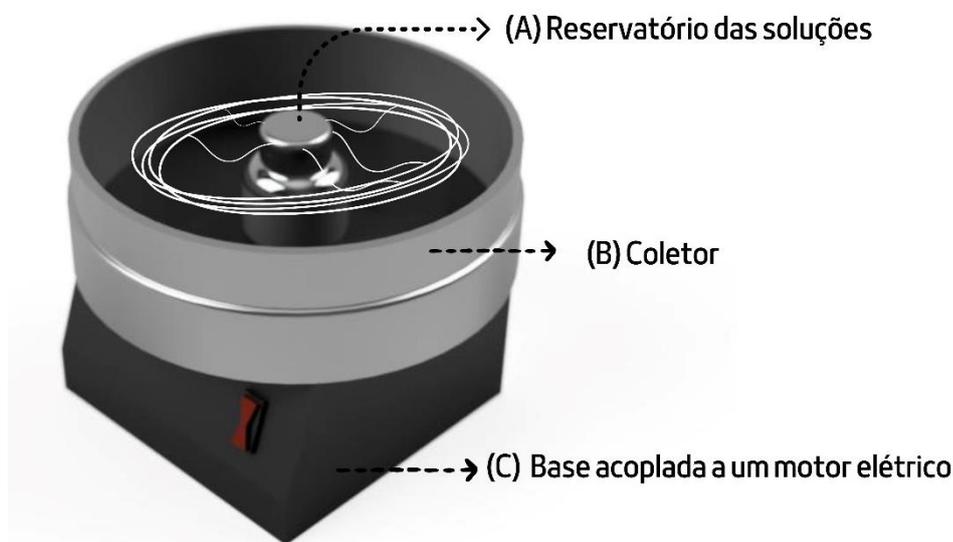
Pellets de PCL foram solubilizados em diclorometano, sob agitação magnética constante, obtendo uma concentração final da solução de 20% m/v. Para as amostras de PCL-óleo essencial de copaíba (PCL-C), 2% m/v de óleo, foi adicionado na solução de PCL totalmente homogeneizada, e o sistema foi mantido por mais duas horas de agitação, à temperatura ambiente.

3.4. Rotofiação: obtenção das mantas a base PCL

No processo de formação dos scaffolds fibrosos de PCL, foi utilizado o sistema de rotofiação desenvolvido pelo Laboratório de Biomateriais, Bioprodutos e Tecnologias de Biofabricação (LABBIO3D), da Universidade Federal do Pará, com adaptações de Andrade

(2017). O sistema é constituído basicamente de três componentes (Figura 14): (a) um reservatório central (recipiente das soluções), com quatro capilares na parede, utilizado para expulsão da solução; (b) um coletor de formato cilíndrico, onde as fibras recém rotofiadadas se depositam; e uma base circular, acoplada ao motor elétrico (127 V) com velocidade de rotação controlada - 19200 rpm (c). A distância entre o coletor e o reservatório central foi mantida constante (50 cm). Quatro mililitros da solução foram adicionados no recipiente do sistema de rotofiação, a cada giro, em seu próprio eixo. As fibras obtidas foram secas em estufa por 48hrs, à 40 °C, para eliminar possíveis solventes residuais. Em seguida, os materiais foram cortados em quadrados, nas dimensões 1x1 cm e armazenados sob refrigeração para caracterizações posteriores.

Figura 14 - Sistema de rotofiação



Fonte: Adaptado de Lima *et al.* (2023)

3.5. Preparo da solução de PHEMA

Soluções de PHEMA foram preparadas na concentração de 60/40% m/m, usando água como solvente e trimetilbenzoil-difenil-fosfina (TPO) como fotoiniciador (1% m/ m em relação à massa do monômero), à temperatura ambiente.

3.6. Preparo das redes semi-interpenetrantes

O PHEMA 60/40% m/m foi gotejado (1mL), com uma pipeta, nos *scaffolds* de PCL rotofiados (com/sem o óleo de copaíba), de área 1,0 x 1,0 cm, e o excesso de solução foi

retido em papel toalha. Em seguida, hidrogéis de PHEMA foram obtidos via polimerização em solução na presença das cadeias lineares e/ ou ramificadas da PCL. As reações foram conduzidas via fotopolimerização durante 20 min (Figura 15). A Tabela 5 mostra a identificação das mantas estudadas.

Figura 15- Processo de fotopolimerização dos hidrogéis de PHEMA na estrutura da PCL (formação das redes semi-IPN)



Fonte: Autora (2024)

Tabela 5 - Identificação dos scaffolds estudados

Identificação das amostras	Composição
PCL	PCL 20% (m/v) – controle
PCL-C	PCL 20 % (m/v) / óleo essencial de copaíba (2% v/v)
PCL-PHEMA	PCL 20 % (m/v) / PHEMA (60/40 m/m)
PCL-C-PHEMA	PCL 20 % (m/v) / óleo essencial de copaíba (2% v/v) / PHEMA (60/40 m/m)

3.7. Caracterizações

3.7.1. Determinação dos componentes químicos do óleo essencial de Copaíba

A composição química dos constituintes voláteis do óleo essencial de copaíba foi analisada no Laboratório Adolpho Ducke (LAD), do Museu Paraense Emílio Goeldi por cromatografia de fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), em sistema Shimadzu QP Plus- 2010 equipado com coluna capilar de sílica DB-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 m de espessura do filme) nas seguintes condições operacionais: gás de arraste: hélio, em velocidade linear de 36,5 cm/s; tipo de injeção: sem divisão de fluxo (2 µL de óleo em 1mL de hexano); temperatura do injetor: 250 °C, programa de temperatura: 60-250 °C, com gradiente de 3 °C/min; temperatura da fonte de íons e outras partes 220 °C. O filtro de quadrupolo varreu na faixa de 39 a 500 daltons a cada segundo. A ionização foi obtida pela técnica de impacto eletrônico a 70 eV. A identificação dos componentes voláteis foi baseada no índice de retenção linear (IR) calculado em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcanos injetados nas mesmas condições das análises, e no padrão de fragmentação observados nos espectros de massas, por comparação destes com amostras autênticas existentes nas bibliotecas do sistema de dados e da literatura (ADAMS, 2007 MONDELLO, 2011; NIST, 2011).

3.7.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das amostras (diâmetro das fibras) foi investigada no Laboratório de Microanálises do Instituto de Geociências (IG) da UFPA usando o equipamento MEV Zeiss modelo SIGMAVP pertencente ao Instituto Tecnológico Vale (ITV), cedido em contrato de comodato para a UFPA. As condições de operação foram: corrente do feixe de elétrons secundários = 80 µA, voltagem de aceleração constante = 10 kv, distância de trabalho = 8,5 mm.

3.7.3. Microscopia confocal a laser

A medida topográfica dos scaffolds foi analisada através da microscopia confocal a laser, um equipamento que combina a microscopia ótica convencional e a laser (comprimento de onda = 408nm) para obter imagens com alta resolução espacial. O equipamento utilizado para as medidas foi um Microscópio Confocal a Laser (LSCM VK-X200 – Keyence, Osaka,

Japão), disponibilizado pelo Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano). O software utilizado nas medidas foi o VK Viewer e para as análises, o software usado foi o VK Analyser versão 3.3.0.0.

3.7.4. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Possíveis interações inter/intramolecular das cadeias poliméricas (PCL e PHEMA), e da adição do óleo essencial nos *scaffolds* foram avaliadas pela técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modo ATR, de 4000 a 650 cm^{-1} (espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo Vertex70v) e resolução de 4 cm^{-1} . As análises foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões da UFPA (LEVAP/UFPA).

3.7.5. Difração de Raio-x

Para mensurar a cristalinidade e avaliar estruturas cristalográficas dos materiais, utilizou-se o Difratorômetro de Raios X, marca Bruker (Germany) / D8 Advance DAVINCI, equipado com radiação Cu K α . As análises foram avaliadas a 30kV e 30 mA, intervalo de 2 θ (5-40 $^\circ$), a uma velocidade de 2 $^\circ$ /min, no Centro de Equipamentos e Serviços Multiusuários da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

3.7.6. Capacidade de intumescimento e Fração sol-gel

O teste de intumescimento e fração sol-gel (fração solúvel e gel) tem como intuito verificar a absorção de fluidos e a solubilidade ou degradação das amostras em meios específicos, respectivamente. No caso da fração sol-gel, é fundamental identificar a eficiência do processo de fotopolimerização, que tende a gerar monômeros residuais. Assim, caso o material não tenha formado ligações cruzadas, haverá a sua dissolução no meio (fração sol), sobrando a sua parte insolúvel (fração gel). Portanto, os materiais foram imersos em PBS, mantendo uma temperatura constante de 37 $^\circ\text{C}$, similar à do corpo humano. As massas das amostras foram verificadas em período de 72 horas (material seco (M_s) e inchado (M_i)) para calcular a capacidade de intumescimento (Equação 2). O procedimento foi feito em quintuplicata, e ao finalizar, os materiais foram lavados em água destilada e secos para calcular a massa residual (M_r), seguindo a metodologia de Salawi *et al.* (2022) (Equações 2, 3 e 4).

$$\text{Inchamento (\%)} = \frac{M_i - M_s}{M_s} * 100 \quad [2]$$

Na equação [2], M_i representa a massa dos scaffolds inchados e M_s representa a massa dos scaffolds secos.

$$\text{Fração sol (\%)} = \frac{M_o - M_r}{M_o} * 100 \quad [3]$$

$$\text{Fração gel (\%)} = 100 - \text{fração sol} \quad [4]$$

Na equação [3], M_o representa a massa inicial seca dos scaffolds e M_r representa a massa seca dos scaffolds após 72 horas de imersão em PBS.

3.7.7. Ângulo de contato

Medidas de ângulo de contato estático e aparente (θ) foram obtidas via observação de uma gota de água destilada na superfície de todos os scaffolds. As imagens foram capturadas usando o equipamento goniômetro de ângulo de contato óptico da marca One Attension, modelo Theta Lite, do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano/CNPEN), a fim de verificar a molhabilidade da superfície dos materiais.

3.7.8. Análise Termogravimétrica

Analisador termogravimétrico Shimadzu DTG-60H (TGA) (Kyoto, Japão) foi utilizado para determinar a estabilidade térmica dos scaffolds, na faixa de 25 a 600°C, usando atmosfera inerte, com fluxo de nitrogênio a 50ml / min e taxa de aquecimento a 10°C / min. Os ensaios foram realizados na Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). no Centro de Equipamentos e Serviços Multiusuários da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

3.7.9. Avaliação da atividade antibacteriana dos scaffolds e do óleo essencial de copaíba

3.7.9.1. *Microrganismos*

Foram utilizadas cepas padrão (*American Type Collection Culture* - ATCC) de *Staphylococcus aureus* 29213; *Escherichia coli* 25922, e *Klebsiella pneumoniae* 29212. As cepas bacterianas foram repicadas e cultivadas em ágar nutriente e mantidas no Laboratório de Microbiologia, do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará.

A análise da atividade antimicrobiana dos scaffolds e do óleo essencial foi realizada através dos métodos de difusão em ágar, pela técnica de microdiluição em caldo. Como controle positivo foram utilizados os antibióticos cloranfenicol (*Staphylococcus aureus*, e meropenem (*Escherichia coli*). Como controle negativo, para todas as espécies, foi utilizado o DMSO.

3.7.9.2. *Preparo de Inóculo Bacteriano*

Inicialmente, para o preparo do inóculo, utilizando-se uma alça bacteriológica, foram transferidas 3-4 colônias da cepa isolada em ágar nutriente, com a mesma morfologia e foram inoculadas em caldo Mueller-Hinton ou solução fisiológica 0,9%. A cultura foi incubada a 35 ± 2 °C até atingir a turbidez de 0,5 da escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL).

3.7.9.3. *Teste antimicrobiano de Difusão em Disco*

Ajustado o inóculo de acordo com a escala de McFarland, com auxílio de um swab estéril, o inóculo foi semeado na superfície de ágar Mueller-Hinton em três direções diferentes. A seguir, discos de papel de filtro estéreis de 6mm foram impregnados com 10uL de óleo essencial de copaíba e os controles foram colocados sobre a superfície do ágar Mueller-Hinton inoculado. Os halos de inibição para cada antimicrobiano testado foram interpretados nas categorias sensível, intermediário ou resistente, de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S28, 2018* (revisado anualmente), M02, 13th Ed., 2018 (*Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*).

3.7.10. Testes in vitro

3.7.10.1. *Cultivo de fibroblastos 3T3*

O ensaio de citotoxicidade utilizou fibroblastos murinos da linhagem BALB/c 3T3, clone A31, do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ:0047). As células foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) e mantidas em atmosfera com 5% de CO₂ a 37°C até a cultura atingir 80% de confluência. Nesse momento, os fibroblastos foram lavados com solução salina fosfatada estéril (PBS) e submetidos à ação da tripsina 0,05%, sendo incubados a 37 °C por 3 min, para o desprendimento dessas células da superfície do frasco. Em seguida, foi adicionado meio DMEM suplementado com SBF para neutralizar a ação da tripsina. O conteúdo do frasco foi então transferido para um tubo e

centrifugado (1500 RPM/5 min/4 °C). O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em PBS para lavagem, sendo novamente centrifugadas nas mesmas condições citadas acima. O sobrenadante foi novamente descartado e as células sedimentadas foram ressuspensas em DMEM, depois contadas e a sua concentração ajustada para 1.105 células/poço.

3.7.10.2. Avaliação da citotoxicidade pelo ensaio MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]

Em placas de 24 poços foram adicionados os scaffolds devidamente esterilizados seguido da adição de 1×10^4 células/mL sobre o curativo em cada poço. Nos poços foram adicionados meio DMEM contendo 5% de SBF, e as placas contendo as células e os scaffolds foram mantidas em estufa à 37 °C, em atmosfera contendo 5% de CO₂ por 48 horas. Após o período de incubação, o sobrenadante foi retirado dos poços e os mesmos lavados com PBS. Logo após a lavagem, foi adicionado 0,5 mg/mL de MTT ([3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]) diluído em PBS sendo, posteriormente, incubados à 37 °C em atmosfera contendo 5% de CO₂ por 3 horas. Após o término da incubação, foi retirado o sobrenadante, lavado 1 vez com PBS e adicionado 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) em cada poço para solubilização dos cristais de formazan e incubado em agitação por 10 minutos. Posteriormente, a solução resultante foi transferida para placa de 96 poços e lida em espectrofotômetro com um comprimento de onda de 570 nm (LIMA et al., 2023). Como controle do ensaio, um grupo de células foram mortas com solução de 10% de formol em PBS e como controle da viabilidade celular (considerado 100% de viabilidade) outro grupo de células foram cultivadas sem a presença de qualquer scaffold teste.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Cromatografia gasosa do óleo essencial de copaíba

Com o objetivo de identificar a composição química do óleo essencial de copaíba foi realizada a análise de cromatografia gasosa. Os resultados estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição química do óleo essencial de copaíba via cromatografia gasosa

IR	Compostos	Conteúdo (%)
1116	allo-Ocimeno	0,15

1252	2E-Decenal	0,11
1325	δ -Elemeno	0,75
1337	α -Cubebeno	1,2
1356	2E- Undecenal	0,13
1359	α -Ylangeno	0,19
1366	α-Copaeno	5,92
1378	7-epi-Sesquitujeno	0,41
1380	β -Elemeno	1,38
1393	α -Gurjuneno	0,43
1406	cis- α -Bergamoteno	0,17
1414	(β)-Cariofileno	40,75
1420	γ -Elemeno	3,2
1425	trans-α-Bergamoteno	10,25
1429	Aromadendreno	0,6
1432	(Z)- β -Farneceno	0,63
1435	α -Himachaleno	0,84
1442	Isogermacreno D	0,82
1444	(E)- β -Farneseno	0,53
1448	α-Humuleno	9,47
1451	allo-Aromadendreno	1,16
1458	dehydro-Aromadendrano	0,36
1463	9-epi-(E)-Cariofileno	0,27
1466	γ -Muurolene	1,99
1469	γ -Himachaleno	0,37
1472	Germacreno D	0,88
1475	trans- β -Bergamoteno	1,1
1480	β -Selineno	1,39
1483	γ -Amorfeno	0,29
1487	α -Selineno	1,01
1490	ϵ -Amorfeno	0,89
1492	(Z)- α -Bisaboleno	0,55
1499	β -Bisaboleno	4,54
1504	γ -Cadineno	0,65

1509	δ -Cadineno	2,49
1515	β -Sesquifelandreno	0,75
1518	(E)- γ - Bisaboleno	0,17
1524	<i>trans</i> -Cadina-1,4-dieno	0,16
1528	α -Cadineno	0,17
1532	(E)- α -bisboleno	0,54
1543	Hidrato de cis-sesquisabineno	0,06
1569	Cariolan-8-ol	0,41
1574	Óxido de cariofileno	0,69
1602	Epóxido de humuleno II	0,05
1615	Junenol	0,19
1620	1-epi-Cubenol	0,05
1636	Cubenol	0,13
1640	α -Muurolol	0,25
1650	α -Cadinol	0,16
1671	n-Tetradecanol	0,07

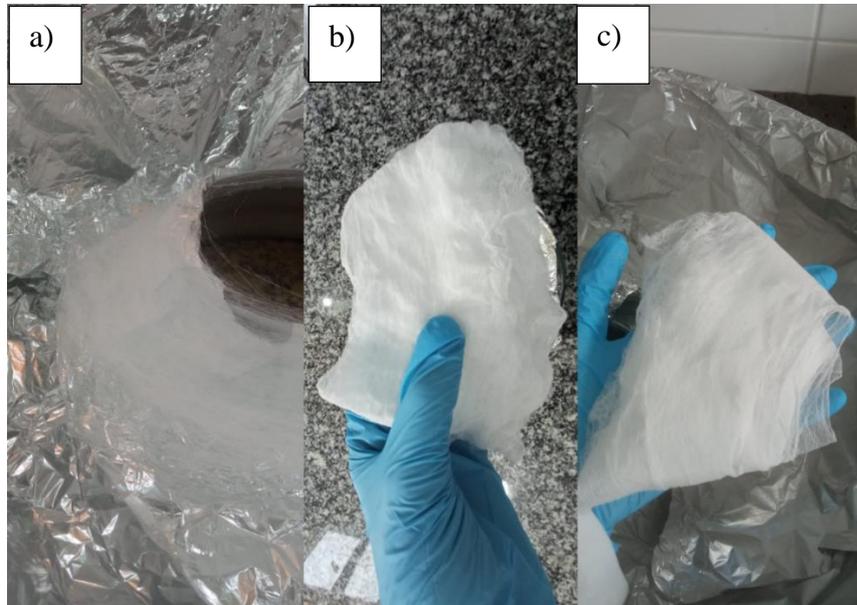
A análise identificou a presença de 50 compostos sesquiterpênicos, tendo como compostos majoritários o (β)-cariofileno (40,75%), *trans*- α -bergamoteno (10,25%), α -humuleno (9,47%), e α -copaeno (5,92%). Resultados similares podem ser encontrados nos trabalhos de Rodrigues *et al.* (2020) e Ames-Sibin *et al.* (2024) (RODRIGUES *et al.*, 2020) (AMES-SIBIN *et al.*, 2024). Como descrito na pesquisa de Pinto *et al.* (2023), o óleo essencial de copaíba apresenta propriedades interessantes para tratamento anti-inflamatório e antimicrobiano, graças a presença de sesquiterpenos como: β -cariofileno, α -copaeno, e α -humuleno (PINTO *et al.*, 2023b). Portanto, através dessa análise comprovou-se a presença de compostos químicos essenciais que podem contribuir para a otimização de ações anti-inflamatórias e antimicrobianas do óleo essencial estudado.

4.2. Formação das fibras de PCL e Rede semi-IPNs

Através da combinação de aceleração centrípeta e do processo de centrifugação, formaram-se as fibras de PCL, em batelada, na parede do coletor (Figura 16). Uma combinação de pressão hidrostática e de pressão centrífuga na extremidade do orifício excedeu o fluxo resistente das forças e expulsou o líquido na forma de um jato. Assim, o

solvente utilizado foi evaporado e contribuiu para formação dos *scaffolds*, como mantas/malhas poliméricas fibrosas.

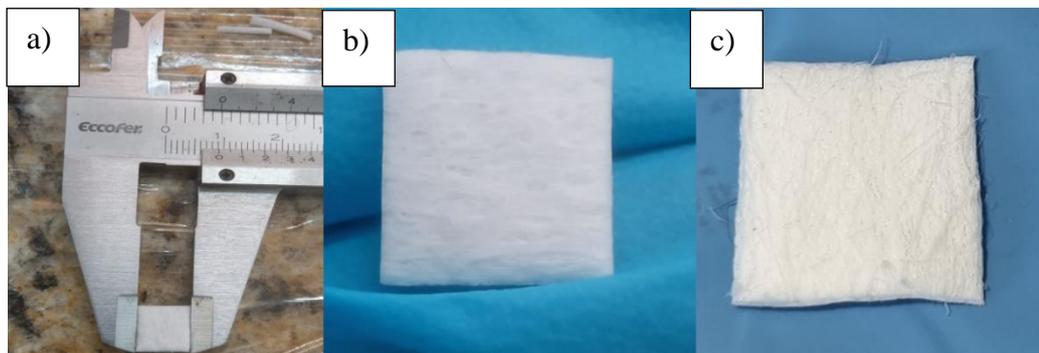
Figura 16- Fibras de PCL obtidas pela técnica de rotofiação, (a) durante o processo, (b) fibras de PCL-óleo de copaíba (PCL-C), e (c) fibras de PCL controle (PCL)



Fonte: Autora, (2024).

Visualmente, não houve diferença significativa entre as fibras de PCL e PCL-C, exceto pelo aroma característico do óleo. Após o processamento, o material foi encaminhado para estufa para eliminação de possíveis solventes residuais, mantendo uma temperatura constante de 40 °C durante 48 horas. Logo em seguida, as fibras foram cortadas e dobradas para formar os *scaffolds* nas dimensões de 1cm x 1 cm. Todo procedimento foi realizado com o auxílio de um paquímetro para melhor precisão (Figura 15). Essas etapas foram iguais para as amostras de PCL controle (PCL) e com o óleo essencial de copaíba (PCL-C).

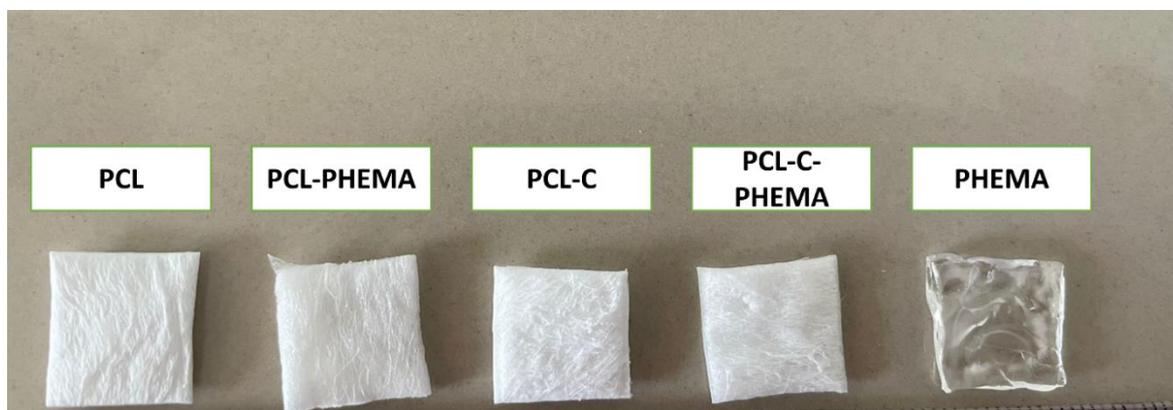
Figura 17 – (a) *Scaffolds* de PCL cortados com auxílio do paquímetro, (b) *scaffolds* de PCL e, (c) PCL-C



Fonte: Autora (2024)

A Figura 18 mostra a característica visual dos scaffolds desenvolvidos. As redes semi-IPNs foram sintetizadas com sucesso e, macroscopicamente, pôde-se perceber um brilho característico do hidrogel PHEMA na estrutura da PCL. Mesmo com a adição do hidrogel na estrutura, não houve o desaparecimento das fibras. Além disso, as amostras de PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA se tornaram mais rígidas ao tato quando comparadas com a PCL e PCL-C. Esse comportamento pode ser explicado pela mudança do estado vítreo do PHEMA, quando secos. Inchados em fluidos, o hidrogel tende a se tornar mais flexível.

Figura 18 - Comparação macroscópica entre os scaffolds

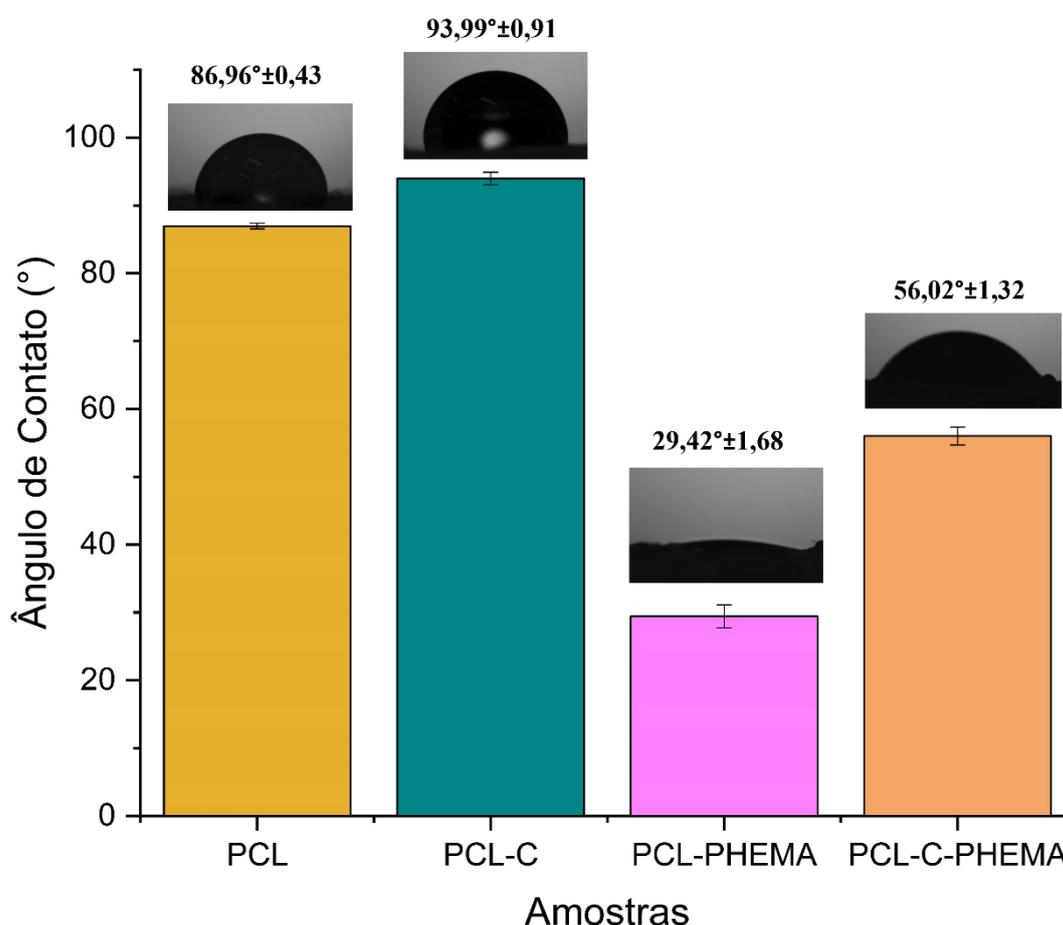


Fonte: Autora (2024)

4.3. Ângulo de Contato

A molhabilidade da superfície dos scaffolds é um parâmetro base que pode influenciar no comportamento celular (adesão e proliferação) (IDASZEK et al., 2016). Essa propriedade está ligada a fatores como porosidade, rugosidade superficial e composição química dos materiais (FILIPOVIC et al., 2022). Uma das formas de entender como a superfície dos scaffolds está se comportando é através da técnica de ângulo de contato, que consiste em realizar um gotejamento na superfície do material, com o intuito de verificar sua hidrofiliicidade. Caso a angulação da gota seja inferior a 90° , o material é considerado hidrofílico (PAXTON; WOODRUFF, 2022). Por outro lado, se o valor for superior a 90° , o material é hidrofóbico (KUNG et al., 2019). Deste modo, foi realizado o teste de ângulo de contato para entender o comportamento da superfície dos scaffolds estudados. Os resultados da análise podem ser vistos na Figura 19.

Figura 19 - Valores médios e desvio padrão do ângulo de contato da superfície dos scaffolds



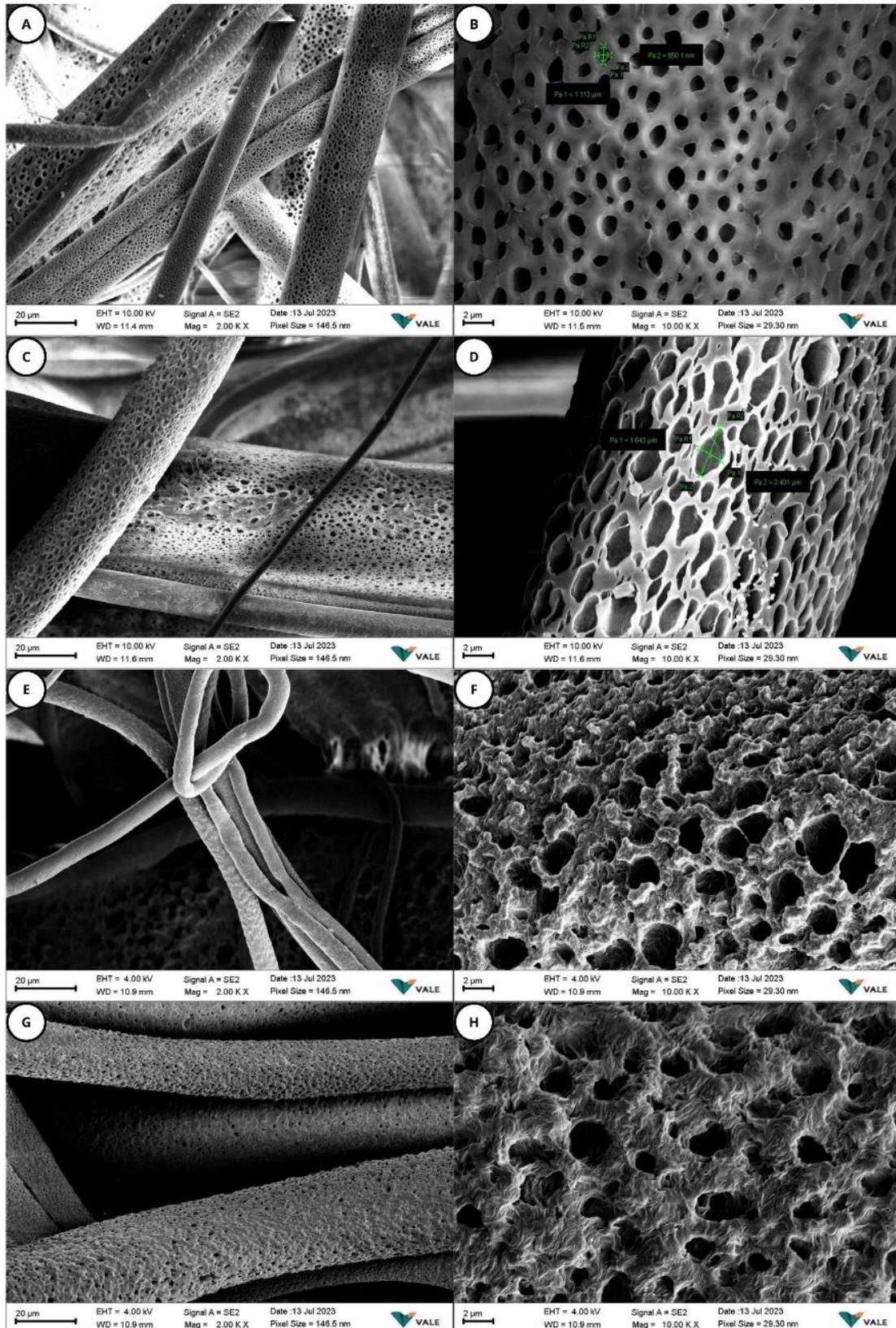
Verificou que as amostras de PCL apresentaram um comportamento hidrofílico, com angulação superficial média de 86,96°. Embora a PCL seja descrita na literatura como um material hidrofóbico (SHARIFI et al., 2020) (KAHDIM et al., 2023), o processo de fabricação dos scaffolds de PCL utilizado nesse trabalho (rotofiação), favoreceu o surgimento de porosidade dentro das fibras e entre as fibras do polímero, otimizando sua molhabilidade. Resultados similares foram encontrados no trabalho de Lima *et al.* (2023). Nas amostras PCL-C observou-se um comportamento hidrofóbico, com angulação média de 93,99°. Esse resultado está relacionado com a característica hidrofóbica do óleo acrescentado nos scaffolds de PCL (BONAN et al., 2015b). Sadaiyandi e colaboradores (2023) também demonstraram em sua pesquisa que o acréscimo de óleo essencial em fibras de PCL diminui a molhabilidade dos materiais. Em relação aos scaffolds do grupo PCL-PHEMA houve um aumento acentuado da hidrofiliabilidade do material, com uma angulação média de 29,42°. Esse fato está relacionado com a presença do hidrogel de PHEMA na estrutura da PCL (formação da rede semi-IPN). O PHEMA apresenta grupamentos hidrofílicos (COOH, C=O, O-H) em sua estrutura química otimizando a molhabilidade da superfície das amostras (TABATABAEE; BAHEIRAEI;

SALEHNIA, 2022). A melhora na hidrofiliçidade dos scaffolds, após o acréscimo do PHEMA, também podem ser vistas na pesquisa de Filipovic *et al.* (2022). Por fim, as amostras de PCL-C-PHEMA também apresentaram um comportamento hidrofílico, com angulação média de 56,02°. Todavia, quando comparada com as amostras do grupo PCL-PHEMA percebe-se uma menor molhabilidade, haja vista a presença do óleo essencial de copaíba.

4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias da superfície dos materiais podem ser vistas na Figura 20. Os resultados demonstraram a presença de uma região porosa nos scaffolds de PCL, além de formação de microfibras dispersas, com diâmetros variando de 18,40 a 19,50 μm , e ausência de *beads* (defeitos nas fibras). A presença do perfil poroso pode estar associada ao processo de rotofiação, em conjunto ao uso do solvente diclorometano (solvente volátil com ponto de fusão igual a 39,6°C). Nas amostras PCL-C (Figura 20 C e D) também foram identificadas fibras dispersas e porosas, com variação de diâmetros de 3,11 a 24,44 μm . Além disso, os poros (micro, macro e mesoporos) presentes nas fibras apresentaram maiores diâmetros (com variação de 288,5 nm a 3,40 μm), com perfil elíptico, quando comparado com as amostras controle. Tal fato pode estar associado com uma possível influência do óleo no processo de evaporação do solvente, durante a formação das fibras. Já as amostras PCL-C-PHEMA (Figura 20 E e F) tiveram uma variação do diâmetro das fibras de 6,29 a 8,14 μm , além de apresentar uma superfície rugosa e com poros variando de 1,41 a 4,33 μm . Quando comparada com a amostra controle, percebe-se o aumento da rugosidade nas fibras, sugerindo que o hidrogel de PHEMA foi fotopolimerizado na estrutura fibrilar do material. Perfil similar às amostras de PCL-C-PHEMA também pode ser visto nas amostras de PCL-PHEMA. Compreende-se, deste modo, que a porosidade e rugosidade encontradas nos materiais podem permitir maior adesão e proliferação de células (MACHADO-PAULA *et al.*, 2020).

Figura 20 - Micrografias dos scaffolds estudados: A: PCL a magnitude de 200 KX, B: PCL a 1000 KX, C: PCL-C a 200KX, D: PCL-C a 1000 KX, E: PCL-C-PHEMA a 200KX, F: PCL-C-PHEMA a 1000 KX, G: PCL-PHEMA a 200KX, e H: PCL-PHEMA a 1000 KX.



4.5. Microscopia Confocal a Laser

A microscopia confocal foi utilizada para estudar a rugosidade da superfície dos scaffolds (Figuras 21 e 22). Dados referentes a rugosidade média superficial (Ra) podem ser encontrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Tabela referente a rugosidade média dos materiais, obtidos via tratamento no software Gwyddion

Amostras	Rugosidade média da superfície (Ra) (μ)
PCL	$69,27 \pm 20,31$
PCL-C	$116,3 \pm 10,74$
PCL-PHEMA	$71 \pm 5,43$
PCL-C-PHEMA	$112,5 \pm 18,17$

Fonte: Autora (2024)

Figura 21- Topografias 3D obtidas via microscopia confocal, com lente de ampliação de 10 \times , dos scaffolds: (A) – PCL, (B) – PCL-PHEMA, (C) – PCL-C, (D) – PCL-C-PHEMA

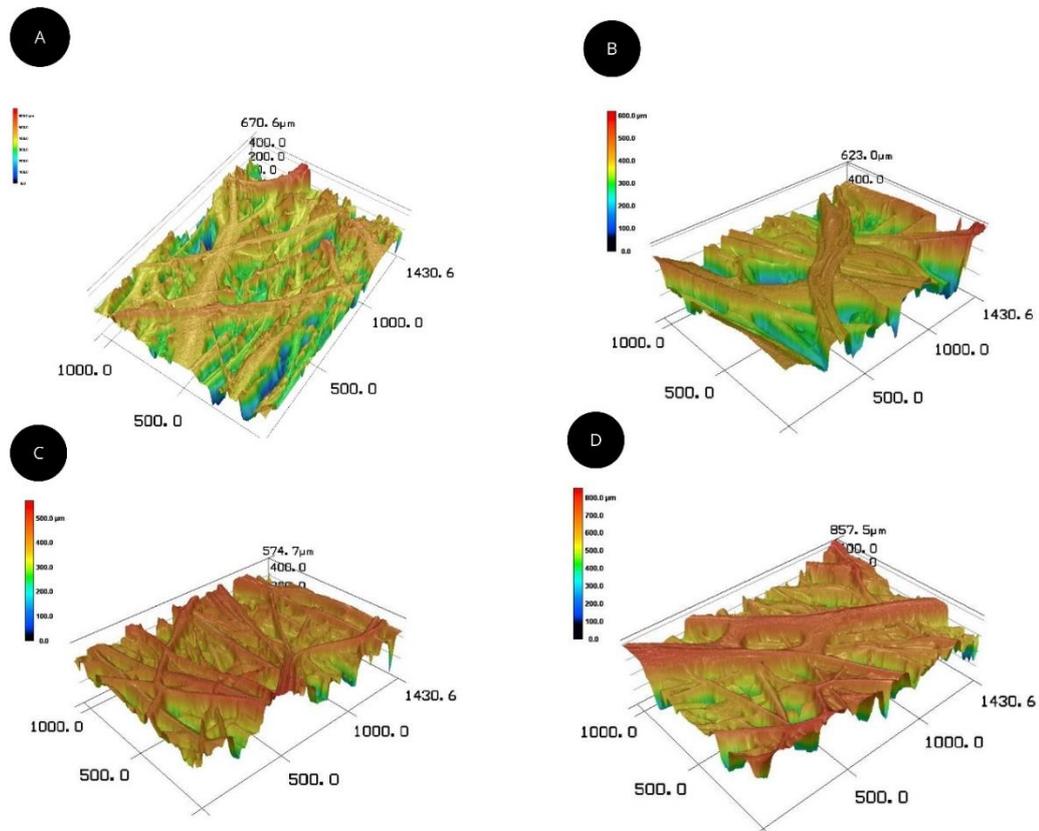
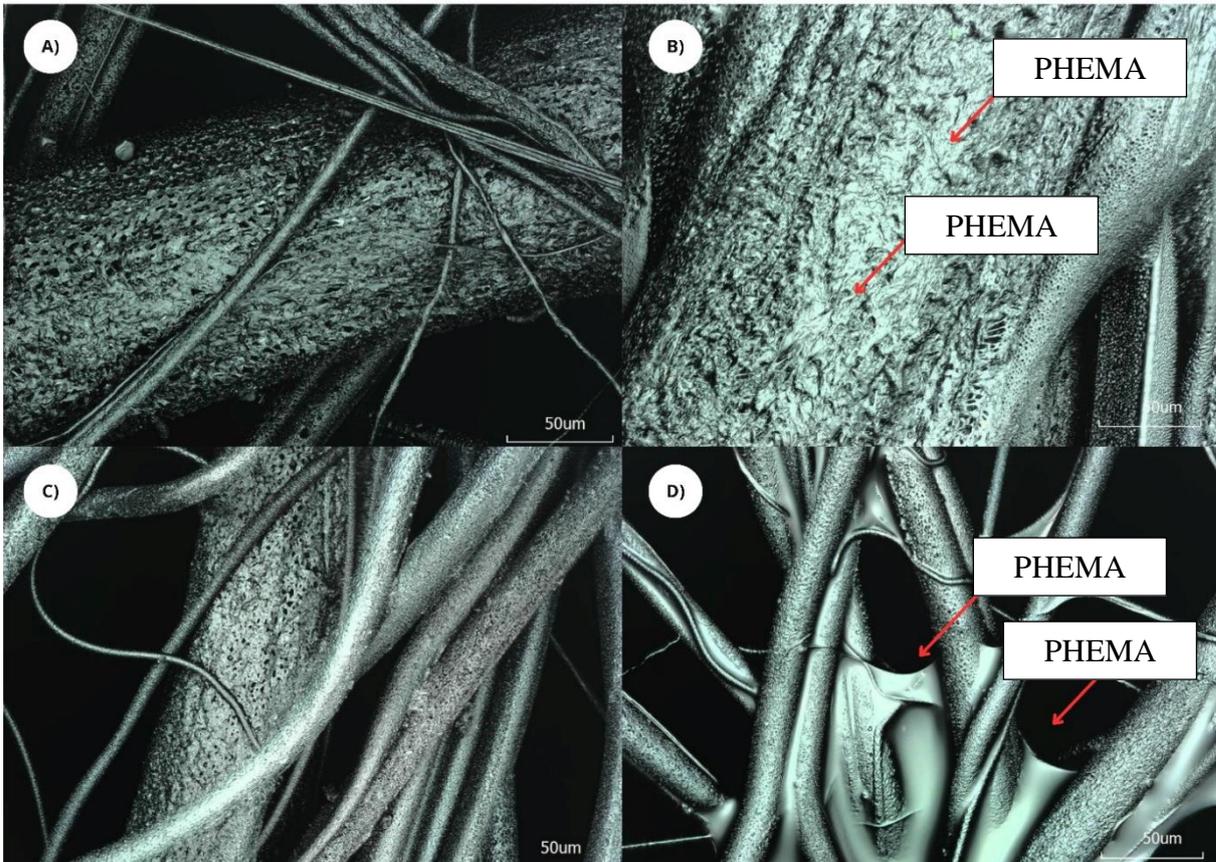


Figura 22 - Imagens ópticas via microscopia confocal: (A) – PCL, (B) – PCL-PHEMA, (C) – PCL-C, (D) – PCL-C-PHEMA

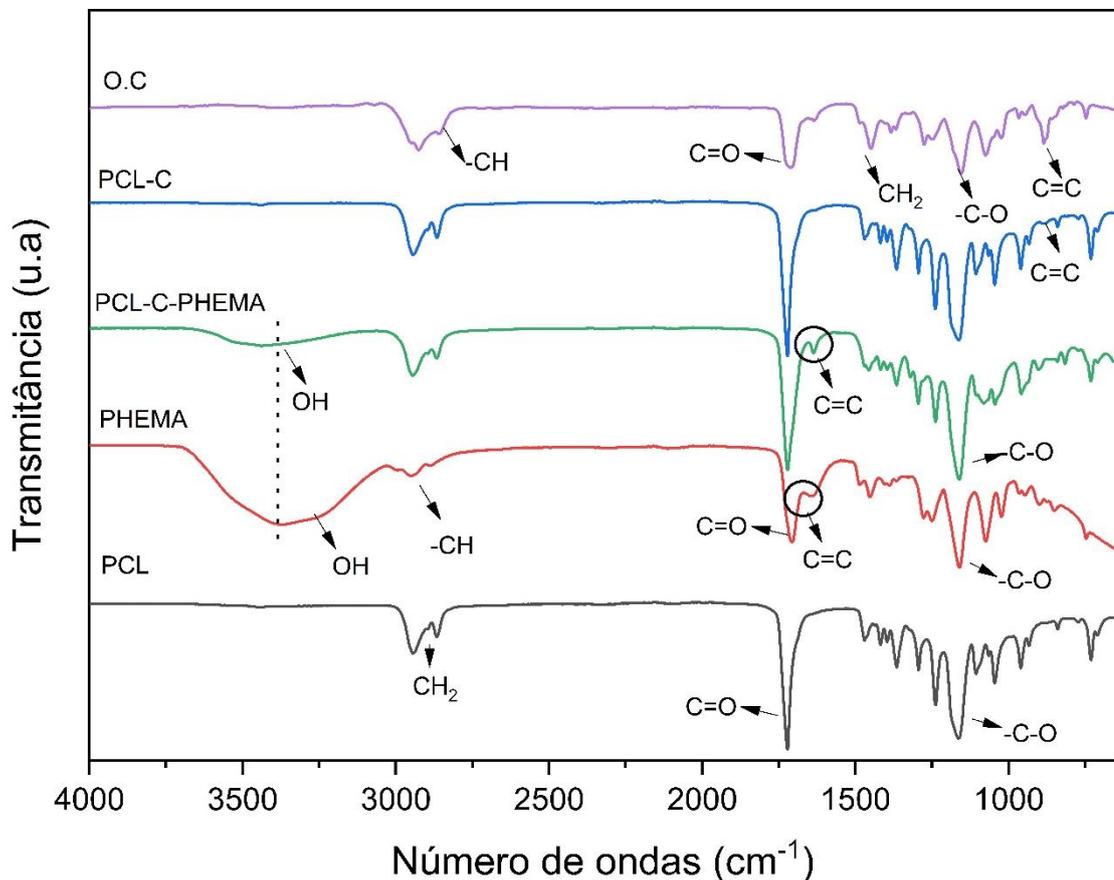


Observou-se que todos os materiais apresentaram rugosidade superficial, característica que está associada ao processo de obtenção das fibras (rotofiação). Diversos estudos na literatura relataram que o processo de rotofiação contribui para formação de materiais mais rugosos (MACHADO-PAULA et al., 2020) (VIDA et al., 2018). O acréscimo do hidrogel e do óleo essencial na estrutura da PCL potencializaram o aumento da rugosidade, como pode ser visto na Figura 22. O processo de adição do PHEMA pode ter contribuído para a formação da rede semi-IPN (por ligação de hidrogênio), não somente no interior do material, como também na superfície das fibras (Figura 22 b e d). A rugosidade torna-se uma propriedade interessante em scaffolds, já que favorece a ancoragem das células e contribui para o seu crescimento (CAN-HERRERA et al., 2021) (PLATH et al., 2023).

4.6. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 23 mostra os espectros de FT-IR dos *scaffolds* de PCL, PCL-C, PCL-C-PHEMA, do hidrogel de PHEMA e do óleo essencial de copaíba (O.C) (*in natura*), objetivando comparar as bandas de vibração correspondente aos principais grupos funcionais pertencentes aos *scaffolds* e ao óleo essencial de copaíba bruto. Este estudo vibracional é importante devido aos espectros de absorção no IR permitir inferir *insights* (informações) sobre a estrutura molecular de ambos os sistemas poliméricos investigados neste trabalho e do óleo *in natura*.

Figura 23- Espectro FTIR dos *scaffolds* de PCL, PCL-C, PHEMA, PCL-C-PHEMA, e O.C



Os espectros de absorção no IR do scaffold PCL apresenta bandas características e similares do polímero PCL: a 2944 cm⁻¹, estiramento assimétrico do grupo CH₂; a 2866 cm⁻¹, estiramento simétrico do grupo CH₂; a 1721 cm⁻¹, estiramento do grupo éster carbonila (C=O); e a 1293 cm⁻¹, estiramento no grupamento C-C e C-O (OBASI et al., 2018) (ELZEIN et al., 2004). Em relação ao óleo essencial de copaíba foram detectadas bandas a 2924 cm⁻¹ e 2853 cm⁻¹ referente a deformações axiais das ligações -CH dos compostos encontrados no óleo (como os sesquiterpenos, por exemplo); a 1713 cm⁻¹ foi detectada vibrações de

estiramento no grupo carbonila (C=O); a 1634 cm^{-1} sugere vibração de estiramento no grupamento alceno (C=C); a 1449 cm^{-1} indica estiramento no grupo $-\text{CH}_2$; a 1450 cm^{-1} foi detectada vibrações do grupamento C-O, e a 884 cm^{-1} flexão do grupo C=C (RODRIGUES et al., 2023) (PASCOAL et al., 2017). Já para o hidrogel de PHEMA, foram identificadas regiões características: estiramento na ligação O-H ($3600 - 3000\text{ cm}^{-1}$), estiramento da ligação C-H ($3000 - 2900\text{ cm}^{-1}$), estiramento da ligação C=O ($1770 - 1660\text{ cm}^{-1}$), C=C (1650 cm^{-1}), e estiramento na ligação C-O (1160 cm^{-1}) (COSTANTINI et al., 2006) (DEMIR et al., 2023). Quando comparado os scaffolds de PCL-C-PHEMA (rede semi-IPN) com as amostras controle (PCL e PHEMA) (Figura 20), percebe-se a presença dos grupamentos funcionais característicos (tanto da PCL, quando do hidrogel PHEMA), além da diminuição da intensidade do grupo O-H presente nas amostras contendo o hidrogel, o que sugere a formação de possíveis ligações de hidrogênio entre as cadeias laterais do PHEMA. Resultados similares podem ser encontrados na pesquisa de Dias Junior *et al.* (2021) (DIAS JUNIOR et al., 2021). Ademais, é observado a presença da ligação C=C, grupamento presente no monômero HEMA, o que indica monômeros residuais na estrutura nos scaffolds (PCL-C-PHEMA). Já em comparação às amostras com acréscimo do óleo essencial (Figura 21), é possível observar a sobreposição dos grupamentos funcionais da copaíba com os da PCL, apenas sendo possível identificar uma leve banda a 885 cm^{-1} referente ao estiramento C=C do óleo de copaíba nas amostras PCL-C e PCL-C-PHEMA. Rodrigues *et al.* (2020) também demonstraram que a adição do óleo essencial de copaíba não alterou a intensidade e faixa das bandas (RODRIGUES et al., 2020).

4.7. Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi utilizada para verificar a decomposição térmica dos scaffolds sob variação de temperatura de 25 a $650\text{ }^{\circ}\text{C}$. As Figura 24 e 25 mostram a perda de massa e as derivadas de massa dos materiais estudados, respectivamente. A decomposição máxima (T_{dmax}), temperatura de início de degradação (T_{onset}), porcentagem de perda de massa e de resíduos podem ser encontrados na Tabela 8.

Tabela 8 - Parâmetros das curvas TGA e DrTGA dos scaffolds: temperatura de início da degradação (Tonset), temperatura máxima de degradação (Tdmax), perda de massa (%) e porcentagem de resíduo.

Amostras	Tonset (°C)			Tdmax (°C)			Massa total perdida (%)	Resíduo (%)
	1°	2°	3°	1°	2°	3°		
	Estágio	Estágio	Estágio	Estágio	Estágio	Estágio		
PCL	314,01			408,95			98,28	1,72
PCL-C	333,67	474,12		412,49	513,53		99,38	0,62
PCL-C-PHEMA	63,43	311,62	478,33	122,47	411,21	521,26	98,82	1,18
PCL-PHEMA	60,19	319,70		117,96	414,67		98,18	1,82

Fonte: Autora (2024)

Figura 24 - TGA dos scaffolds de PCL, PCL-C, PCL-PHEMA, e PCL-C-PHEMA

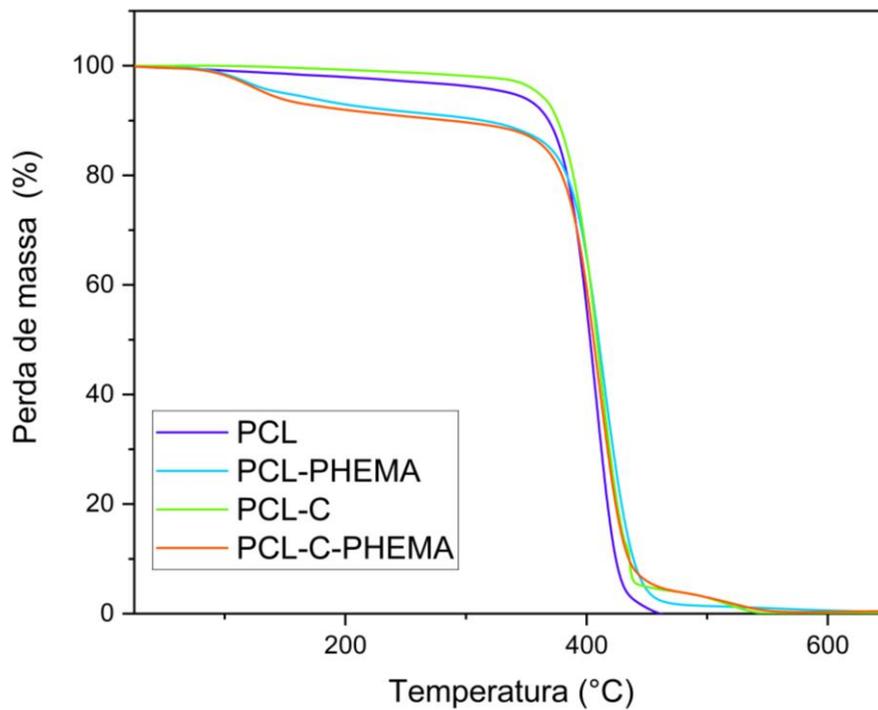
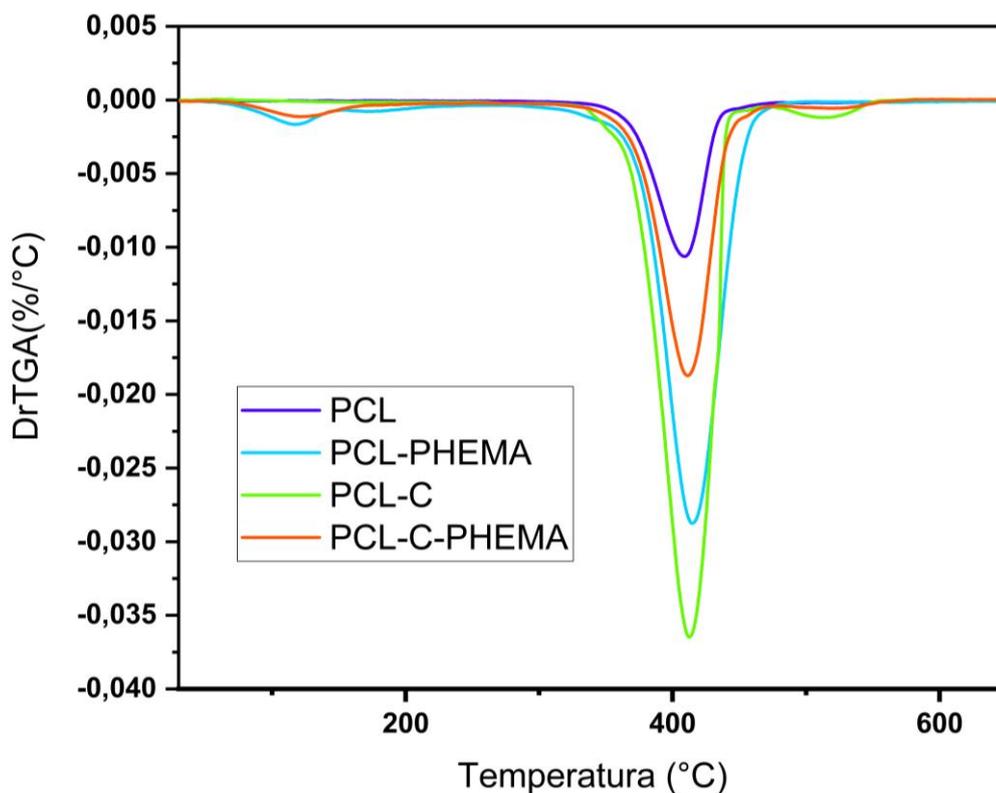


Figura 25- DrTGA dos scaffolds de PCL, PCL-C, PCL-PHEMA, e PCL-C-PHEMA



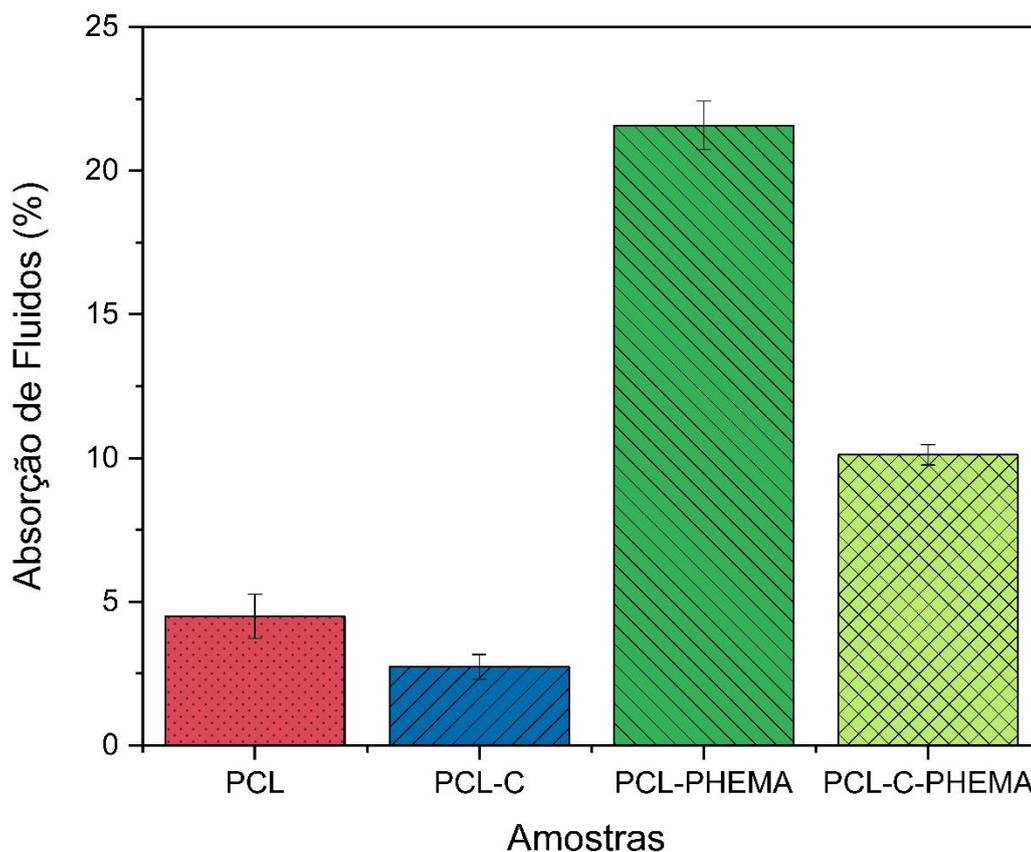
Nos scaffolds PCL foi observado apenas um estágio de perda de massa de 98,28% à temperatura máxima de 408,95 °C (Tonset = 314,01 °C), representando a degradação total do polímero, devido à quebra da cadeia principal da PCL via pirólise. Resultados similares são encontrados nas pesquisas de Mendonça *et al.* (2022) e Giorno *et al.* (2022) (GIORNO; RODRIGUES; SANTOS, 2022) (MENDONÇA *et al.*, 2022). Os scaffolds PCL-C, por outro lado, apresentaram dois patamares de perda de massa de 95% e 4,38% nas temperaturas máximas de 412,49 e 515,53 °C, respectivamente. Esses eventos estão relacionados com a quebra da cadeia principal da PCL e reação de pirólise dos sesquiterpenos presentes no óleo essencial de copaíba (DEBONE *et al.*, 2019). Para as amostras PCL-PHEMA também foi possível observar dois patamares de perda de massa de 11,02% e 87,16% nas temperaturas máximas de 117,96 e 414,67 °C. A perda de massa no primeiro estágio pode estar relacionada com a eliminação de água e/ou monômeros residuais retidos na matriz do hidrogel PHEMA incorporado na estrutura da PCL. Já o segundo estágio pode estar relacionado com a degradação da cadeia principal tanto da PCL quanto do hidrogel PHEMA (PASSOS *et al.*, 2016). Por fim, os scaffolds PCL-C-PHEMA apresentaram três patamares de perda de massa (11,75%, 82,41% e 4,66%), com temperatura máxima de 122,47 °C, 411,21 °C, e 521,26 °C.

O primeiro patamar refere-se à eliminação de componentes voláteis, devido a presença do hidrogel; o segundo, indica a degradação da cadeia polimérica da PCL e do PHEMA, e o terceiro, é referente à evaporação dos sesquiterpenos do óleo. Portanto, o acréscimo do óleo essencial de copaíba e do hidrogel PHEMA não alteraram, significativamente, a estabilidade térmica dos scaffolds.

4.8. Ensaio de Inchamento e fração sol-gel

A Figura 26 mostra os resultados dos ensaios de inchamento. Os scaffolds de PCL apresentaram uma absorção média ao PBS de $4,49\% \pm 0,77$. Já as amostras de PCL-C tiveram um inchamento médio de $2,73\% \pm 0,42$. Esse comportamento está ligado diretamente com a presença do óleo na estrutura do polímero, aumentando a hidrofobicidade do material. Todavia, as amostras de PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA tiveram sua capacidade de absorção média aumentadas ($21,57\% \pm 0,84$ e $10,11\% \pm 0,34$, respectivamente), devido a incorporação do hidrogel (rede semi-IPN) na estrutura da PCL, como também demonstrado anteriormente na literatura (DIAS JUNIOR et al., 2021). Contudo, a influência da hidrofobicidade do óleo essencial de copaíba foi perceptível nas amostras de PCL-C-PHEMA, tendo uma redução de absorção quando comparada com PCL-PHEMA. No entanto, ainda assim os materiais absorvem fluidos. Tais resultados corroboram com o teste de ângulo de contato.

Figura 26 - Perfil de absorção de fluídos das amostras estudadas, em PBS



A Tabela 9 apresenta os valores médios da fração sol-gel dos scaffolds e os seus desvios-padrão. Percebe-se que em ambas as amostras, que apresentam o hidrogel em sua estrutura (PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA), houve a liberação de monômeros residuais e/ou oligômeros que não foram reticulados completamente (fração sol), fato que pôde ser comprovado analisando os dados obtidos pelo FT-IR e TGA. Tais resultados apresentaram indícios importantes para a necessidade de lavagem dos materiais antes de realizar as análises de citotoxicidade. Ademais, sabe-se que, o aumento do tempo de exposição dos materiais na luz UV e o aumento da quantidade de agente de reticulação (TPO), poderia contribuir para a maior densidade de reticulação das redes semi-IPN, reduzindo a quantidade de monômeros residuais, como descrito em trabalhos anteriores (SALAWI et al., 2022). Já as amostras de PCL e PCL-C, mesmo não tendo sido reticuladas com PHEMA, apresentaram uma breve perda de massa. Isso pode estar associado ao fato de a PCL ser um polímero degradável. Resultados similares podem ser encontrados no trabalho de Abdal-hay et al. (2020).

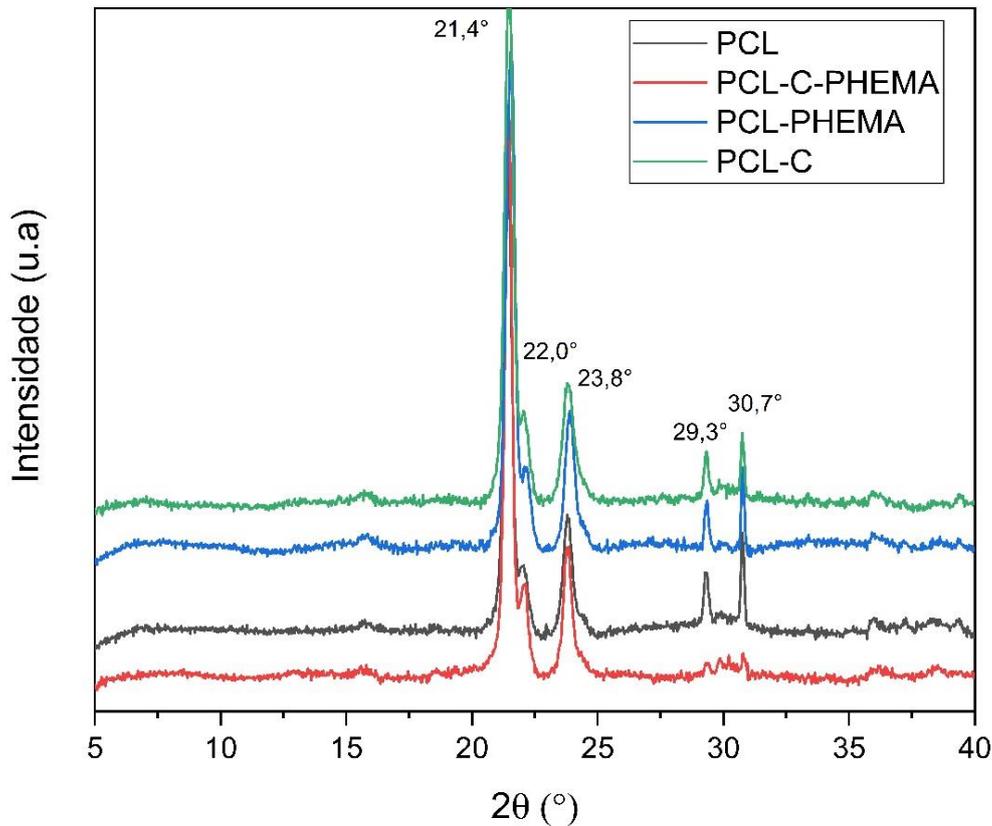
Tabela 9 - Fração Sol-Gel dos scaffolds em PBS

TESTE SOL-GEL / 72 HORAS	
Amostras	Média da fração Gel (%)
PCL	99,70 ± 0,2
PCL-C	98,35 ± 0,19
PCL-PHEMA	73,50 ± 2,03
PCL-C-PHEMA	74,30 ± 2,23

4.9. Difração de Raio-X

A Figura 27 mostra os difratogramas de raios-X das amostras PCL, PCL-C, PCL-C-PHEMA e PCL-PHEMA. Todas as amostras apresentam três picos de difração característicos da PCL, localizado próximo de $2\theta = 21,4^\circ$, $22,0^\circ$; $23,8^\circ$ que correspondem aos planos cristalinos (110), (111) e (200), os quais pertencem a estrutura cristalina ortorrômbica do polímero puro, como reportado pela literatura (FAWAL et al., 2021). No padrão de difração da amostra PCL-C-PHEMA, observa-se uma supressão dos picos de difração em torno de $2\theta = 29,3^\circ$ e $30,7^\circ$, sugerindo uma suave redução de cristalinidade do polímero. Tal fenômeno deve ser melhor investigado.

Figura 27 - Cristalinidade dos scaffolds estudados: PCL, PCL-C-PHEMA, PCL-PHEMA e PCL-C



4.10. Ensaio Microbiológicos

Com o intuito de verificar a atividade antimicrobiana dos scaffolds e do óleo essencial de copaíba, foram realizados ensaios microbiológicos. A Figura 28 (A, B e C) mostra a atividade antimicrobiana do óleo (com o acréscimo do Tween 80), contra bactérias gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*) e gram-positivas (*Staphylococcus aureus*), e a Figura 28 (D) mostra a atividade dos scaffolds PCL-C-PHEMA e PCL-C (com o acréscimo do Tween 80) para *Staphylococcus aureus*. A Figura 29 mostra a atividade dos scaffolds e do óleo essencial (sem Tween 80), somente para *Staphylococcus aureus*. Os resultados mostraram que as bactérias *K. pneumoniae* e *E. coli* foram mais resistentes contra os efeitos do óleo essencial de copaíba que a *S. aureus* (Figura 28 A, B e C). Para a bactéria gram-positiva foi detectado um halo de inibição de 9 mm. Compreende-se que bactérias gram-positivas são mais suscetíveis a sofrer ações de óleo essenciais que as gram-negativas. Tal fato está associado a composição da membrana celular das gram-positivas, que tem suas extremidades compostas por ácidos lipoteicóicos que facilitam a penetração de compostos hidrofóbicos, nesse caso o óleo essencial de copaíba. Por outro lado, as gram-negativas

limitam a difusão de compostos hidrofóbicos através da sua parede celular lipopolissacarídica (TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014). A pesquisa de Rodrigues *et al.* (2020) também apresentou resultados similares, onde o óleo essencial de copaíba teve ação antimicrobiana apenas para as bactérias gram-positivas (*Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*). Ademais, foi identificado que os scaffolds estudados (PCL, PCL-C, PCL-PHEMA, e PCL-C-PHEMA) não apresentaram zona de inibição antimicrobiana, sem a incorporação do Tween 80 (Fig. 29). Com a incorporação do agente difusor, observou-se que as amostras PCL-C-PHEMA e PCL-C apresentaram halo de inibição de 5 e 7 mm, respectivamente (Figura 28 D). A Figura 29-H demonstra que o Tween não apresentou ação antimicrobiana, apenas contribuiu para o processo de liberação do óleo. Compreende-se, portanto, que como a copaíba está intercalada nas fibras da PCL, existe uma barreira polimérica que dificulta a sua difusão para o meio, além de sua concentração adicionada ter sido baixa, sendo necessário, portanto, a atuação de um agente difusor para liberação do óleo. Pinto *et al.* (2023), por exemplo, demonstraram que materiais com maiores concentrações do óleo de copaíba tiveram maior eficácia contra *S. aureus* (PINTO *et al.*, 2023d).

Figura 28 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de copaíba contra: (a) *Escherichia coli*, (b) *Klebsiella pneumoniae*, e (c) *Staphylococcus aureus*. Atividade antimicrobiana dos scaffolds contra *Staphylococcus aureus*: (D1) PCL-C-PHEMA e (D2) PCL-C

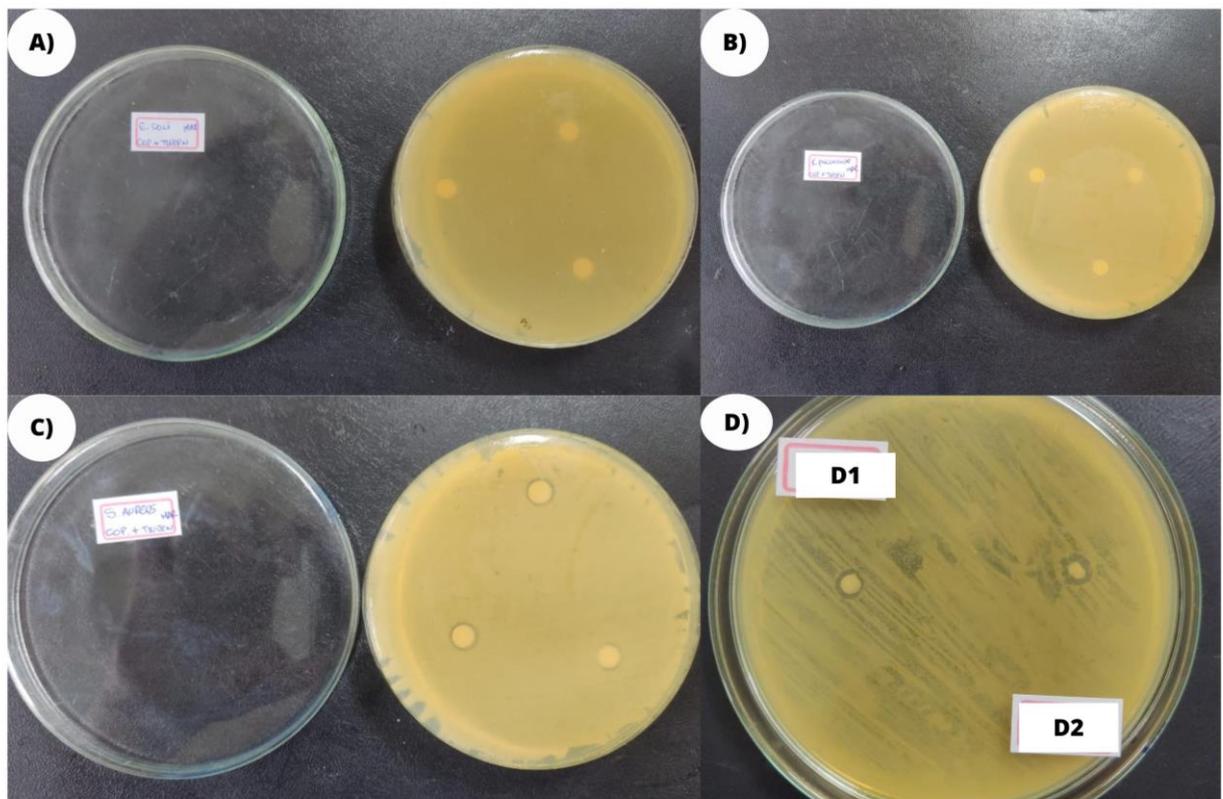
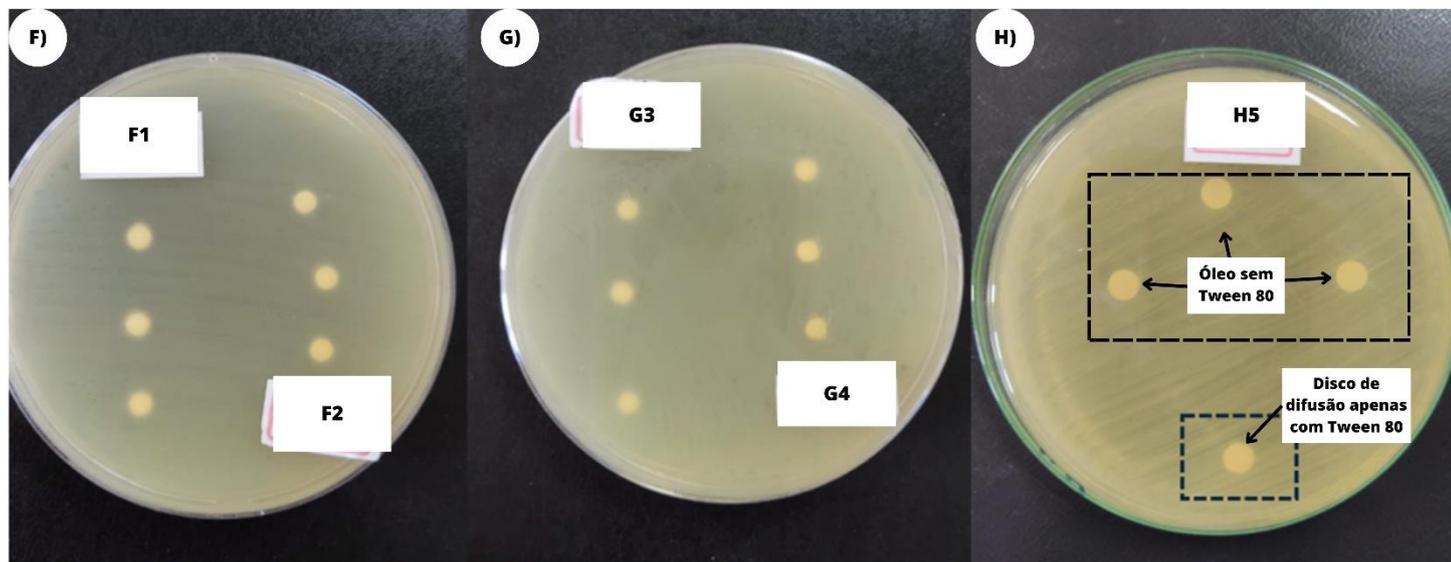


Figura 29 - Atividade antimicrobiana dos scaffolds (F1) PCL-C-PHEMA, (F2) PCL-C, (G3) PCL-PHEMA, (G4) PCL, e do óleo (H5), contra *Staphylococcus aureus*, sem a incorporação do Tween 80.

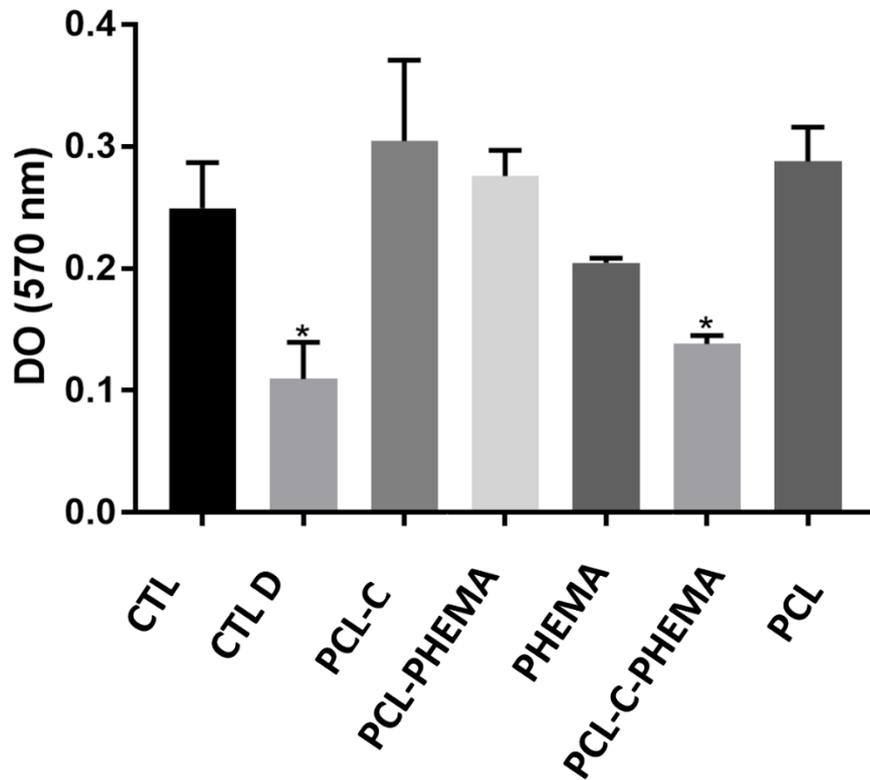


4.11. Ensaios in vitro

A viabilidade celular foi estudada através da técnica de MTT (Figura 30). Para verificar a toxicidade dos materiais, usou-se como referência a ISO 10993-5, onde porcentagens de viabilidade celular superiores a 80% são consideradas não citotóxicas; entre 80% e 60% citotoxicidade fraca; 60% a 40% moderada e abaixo de 40% forte. Os fibroblastos 3T3 incubados nos scaffolds de PCL, PCL-C e PCL-PHEMA mostraram viabilidade celular de aproximadamente $106\% \pm 0.028$, $112\% \pm 0.066$, e $90\% \pm 0.02081$; já as amostras PHEMA e PCL-C-PHEMA apresentaram viabilidade em torno de $75\% \pm 0.0034$ e $50\% \pm 0.007$, respectivamente, em comparação com o grupo controle sem tratamento, considerando o valor de 100%. Como observado no MEV, a presença de porosidade e rugosidade nos scaffolds de PCL, PLC-C e PCL-PHEMA pode ter influenciado na presença de células viáveis. Andrade et al (2019) também relataram que scaffolds porosos de PCL apresentaram boa viabilidade celular. Ademais, a presença da copaíba (PCL-C) não demonstrou nenhuma resposta tóxica para os fibroblastos. Houve, por outro lado, um aumento na viabilidade celular quando comparado com o controle. O óleo essencial estudado tem efeitos potenciais antimicrobianos que podem ter auxiliado na propagação das células. Todavia, o scaffolds PHEMA e PCL-C-PHEMA, apresentaram baixa e moderada toxicidade celular, respectivamente. Uma das hipóteses pode estar ligada a presença de monômeros/oligômeros na estrutura das amostras, como visto no teste sol-gel e no FTIR, o

que indica que os scaffolds devem ser lavados por um período mais longo para eliminação dos possíveis resíduos químicos.

Figura 30 – Viabilidade celular dos fibroblastos 3T3 nos scaffolds de PCL, PCL-C, PHEMA, PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA. CTL – sem tratamento, grupo controle. CTLD – células mortas, grupo controle de reação. (*) diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) em comparação ao grupo controle (#).



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante o que foi exposto acima, percebe-se a importância em desenvolver novos biomateriais que auxiliarão na melhora da qualidade de vida da população, e que garantam uma base para estudos futuros no ramo da engenharia de tecidos. Sendo assim, os resultados dessa pesquisa mostraram, com sucesso, a obtenção de scaffolds de PCL (sem e com o óleo essencial de copaíba), via técnica de rotofiação, e a formação da rede semi-IPN de PCL-PHEMA e PCL-óleo essencial de copaíba-PHEMA.

A caracterização morfológica (MEV) demonstrou, para todas as amostras, a presença de microfibras emaranhadas e distribuídas aleatoriamente. Além disso, observou a formação de poros nas fibras e entre as fibras, com perfis e diâmetros diferentes entre as amostras avaliadas (PCL, PCL-C, PCL-PHEMA, PCL-C-PHEMA). Para as redes semi-IPN de PCL-PHEMA e PCL-C-PHEMA foi possível verificar a presença de rugosidade na superfície da estrutura, ocasionada pela incorporação do hidrogel PHEMA. A presença dessas características tem alto potencial para contribuir na proliferação e adesão celular.

Na cromatografia gasosa (CG) foi identificada a presença de 50 compostos sesquiterpênicos, tendo como majoritários (β)-cariofileno (40,75%), trans- α -bergamoteno (10,25%), α -humuleno (9,47%), e α -copaeno (5,92%). Estes componentes têm potencial de atividade anti-inflamatória no óleo essencial de copaíba.

A análise estrutural (FTIR) demonstrou interações dos grupamentos funcionais da PCL com o PHEMA, através da formação de pontes de hidrogênio, e da PCL com o óleo, visto a sutil presença do grupo C=C do óleo na estrutura da PCL. Deste modo, confirmou-se a formação da rede semi-IPN e a presença do óleo na estrutura do material.

O teste de ângulo de contato e inchamento mostraram que a adição do hidrogel nos scaffolds aumentou a hidrofiliabilidade do material.

Na análise térmica (TGA) foi possível verificar que a adição do óleo e do hidrogel na estrutura da PCL não alteraram a estabilidade térmica dos scaffolds. Ademais, a técnica demonstrou que o óleo essencial não foi evaporado, majoritariamente, em etapas anteriores do processamento dos materiais.

Através dos ensaios antimicrobianos verificou-se que o óleo e os scaffolds PCL-C-PHEMA e PCL-PHEMA apresentaram atividade antimicrobiana somente para bactéria gram-positiva (*Staphylococcus aureus*), e com auxílio do Tween 80.

Por fim, os testes *in vitro* demonstraram que os scaffolds de PCL, PCL-C e PCL-PHEMA contribuíram para o crescimento celular. Por outro lado, o scaffold de PCL-C-PHEMA apresentou moderada toxicidade para os fibroblastos. Sugere-se, então, a

necessidade de novos ensaios, além de otimização das etapas de fabricação das redes semi-IPN, a fim de eliminar monômeros residuais.

6. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

- Otimizar o processo de adição do hidrogel na estrutura da PCL;
- Realizar o teste de proliferação de secretoma;
- Estudo do scaffold para o crescimento de células dérmicas;
- Realizar ensaios *in vivo* para verificar o comportamento dos scaffolds na regeneração tecidual.
- Realizar ensaio mecânico das amostras

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASIAN, M. et al. Scaffolding polymeric biomaterials: Are naturally occurring biological macromolecules more appropriate for tissue engineering? **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 673–694, 2019.

ABDAL-HAY, A. et al. Fabrication of biocompatible and bioabsorbable polycaprolactone/magnesium hydroxide 3D printed scaffolds: Degradation and in vitro osteoblasts interactions. **Composites Part B: Engineering**, v. 197, n. May, 2020.

ABDULGHANI, S.; MITCHELL, R. Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration : A Review. 2019.

ACHILIAS, D. S.; SIAFAKA, P. I. Polymerization kinetics of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels and nanocomposite materials. **Processes**, v. 5, n. 2, 2017.

ADVINCULA, R. C. et al. On the progress of 3D-printed hydrogels for tissue engineering. **MRS Communications**, v. 11, n. 5, p. 539–553, 2021.

AFEWERKI, S. et al. **Gelatin-polysaccharide composite scaffolds for 3D cell culture and tissue engineering: Towards natural therapeutic**, 2018.

ALLAFCHIAN, A. et al. Preparation of cell culture scaffolds using polycaprolactone/ quince seed mucilage. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019.

ALVARENGA, P. et al. Safety and Effectiveness of Copaiba Oleoresin (*C. reticulata* Ducke) on Inflammation and Tissue Repair of Oral Wounds in Rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, p. 1–14, 2020.

ALVES, A. Q. et al. The fatty acid composition of vegetable oils and their potential use in wound care. **Advances in Skin and Wound Care**, v. 32, n. 8, p. 1–8, 2019.

AMES-SIBIN, A. P. et al. Characterization and bioactivity of copaiba essential oil carried in a self-nanoemulsifying drug delivery system. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 91, n. July 2023, p. 105206, 2024.

AMES-SIBIN, A. P.; BRACHT, M. R. M. A.; COMAR, J. F. β - Caryophyllene , the major constituent of copaiba oil , reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. **Journal of Cellular Biochemistry**, 2018.

ANDRADE, T. M. et al. In vitro and in vivo evaluation of rotary-jet-spun poly(ϵ -caprolactone) with high loading of nano-hydroxyapatite. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 30, n. 2, 2019.

ARICA, T. A. et al. Electrospun GelMA fibers and p(HEMA) matrix composite for corneal tissue engineering. **Materials Science & Engineering C**, v. 120, 2021.

ARRUDA, C. et al. Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera* genus—A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, n. July 2018, p. 1–20, 2019.

BADEKILA, A. K.; KINI, S. Fabrication techniques of biomimetic scaffolds in three - dimensional cell culture : A review. n. January, 2020.

BAHÚ, J. O. et al. Rotary Jet Spinning (RJS): A Key Process to Produce Biopolymeric Wound Dressings. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 1–22, 2022.

BARTNIKOWSKI, M. et al. Degradation mechanisms of polycaprolactone in the context of chemistry, geometry and environment. **Progress in Polymer Science**, v. 96, p. 1–20, 2019.

BARUI, A. **Synthetic polymeric gel**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2018.

BECKER, G. et al. Copaiba oleoresin has topical antinociceptive activity in a UVB radiation-induced skin-burn model in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 250, 2020.

BEHTAJ, S. et al. Electrospun PGS/PCL, PLLA/PCL, PLGA/PCL and pure PCL scaffolds for retinal progenitor cell cultivation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 166, n. October 2020, p. 107846, 2021.

BHASKAR, B. et al. **Biomaterials in Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, 2021.

BISWAL, T.; KUMAR, S.; PRADHAN, D. Sustainable biomaterials and their applications: A short review. **Materials Today: Proceedings**, v. 30, p. 274–282, 2020.

BONAN, R. F. et al. In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly(lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (*Copaifera* sp.) oil. **Materials Science and Engineering C**, v. 48, p. 372–377, 2015a.

- BONAN, R. F. et al. In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly (lactic acid)/ polyvinylpyrrolidone nano fibers loaded with Copaiba (*Copaifera sp.*) oil. **Materials Science & Engineering C**, v. 48, p. 372–377, 2015b.
- CAMPUZANO, S.; PELLING, A. E.; ELLIS, M. J. Scaffolds for 3D Cell Culture and Cellular Agriculture Applications Derived From Non-animal Sources. v. 3, n. May, p. 1–9, 2019.
- CAN-HERRERA, L. A. et al. Morphological and mechanical properties of electrospun polycaprolactone scaffolds: Effect of applied voltage. **Polymers**, v. 13, n. 4, p. 1–16, 2021.
- CASTIAUX, A. D.; SPENCE, M.; MARTIN, R. S. Review of 3D cell culture with analysis in microfluidic systems. n. D, p. 4220–4232, 2019.
- CHAWLA, D. et al. 3D bioprinted alginate-gelatin based scaffolds for soft tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 560–567, 2020.
- CHOCHOLATA, P.; KULDA, V.; BABUSKA, V. Fabrication of Scaffolds for Bone-Tissue Regeneration. 2019.
- CHRISTMAN, B. K. L. Biomaterials for tissue repair. v. 363, n. 6425, p. 340–342, 2019.
- CIUZAS, D.; KRUGLY, E.; PETRIKAITÈ, V. Fibrous 3D printed poly(ϵ)caprolactone tissue engineering scaffold for in vitro cell models. **Biochemical Engineering Journal**, v. 185, 2022.
- COMINI, S. et al. Combination of Poly(ϵ -Caprolactone) Biomaterials and Essential Oils to Achieve Anti-Bacterial and Osteo-Proliferative Properties for 3D-Scaffolds in Regenerative Medicine. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 9, 2022.
- COPEES, F. et al. Collagen-based tissue engineering strategies for vascular medicine. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. JUL, p. 1–15, 2019.
- COSTANTINI, A. et al. Swelling properties and bioactivity of silica gel/pHEMA nanocomposites. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 4, p. 319–325, 2006.
- DAMONTE, G. et al. On novel hydrogels based on poly (2-hydroxyethyl acrylate) and

polycaprolactone with improved mechanical properties prepared by frontal polymerization. **European Polymer Journal**, v. 171, n. April, p. 111226, 2022.

DE GALÚCIO, C. S. et al. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Química Nova**, v. 39, n. 7, p. 795–800, 2016.

DE NADAI DIAS, F. J. et al. Resveratrol-loaded polycaprolactone scaffolds obtained by rotary jet spinning. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, v. 27, n. 5, p. 289–301, 2022.

DE SOUZA, L. et al. The Synergistic Effect of Polymer Composition, Solvent Volatility, and Collector Distance on Pullulan and PVA Fiber Production by Rotary Jet Spinning. **Fibers and Polymers**, v. 22, n. 4, p. 942–956, 2021.

DEBONE, H. S. et al. Chitosan/Copaiba oleoresin films for wound dressing application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 555, n. November 2018, p. 146–152, 2019.

DEC, P.; MODRZEJEWSKI, A.; PAWLIK, A. Existing and Novel Biomaterials for Bone Tissue Engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 1–14, 2023.

DEMIR, M. et al. PHEMA-based cryogels as 3D placental scaffolds. **Process Biochemistry**, v. 133, n. July, p. 85–98, 2023.

DIAS JUNIOR, E. M. et al. SIPNs polymeric scaffold for use in cartilaginous tissue engineering: physical-chemical evaluation and biological behavior. **Materials Today Communications**, v. 26, n. January, p. 102111, 2021.

DONNALOJA, F. et al. Natural and synthetic polymers for bone scaffolds optimization. **Polymers**, v. 12, n. 4, p. 1–27, 2020.

DWIVEDI, R. et al. Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: Review of literature. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 10, n. 1, p. 381–388, 2020.

EBHODAGHE, S. O. Natural Polymers for Tissue Engineering Applications: Review. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 0, n. 0, p. 000, 2021.

EL-OKAILY, M. S. et al. Efficient drug delivery vehicles of environmentally benign nanofibers comprising bioactive glass/chitosan/polyvinyl alcohol composites. **International**

Journal of Biological Macromolecules, v. 182, p. 1582–1589, 2021.

ELIAZ, N. Corrosion of metallic biomaterials: A review. **Materials**, v. 12, n. 3, 2019.

ELTOM, A.; ZHONG, G.; MUHAMMAD, A. Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2019, 2019.

ELZEIN, T. et al. FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 273, n. 2, p. 381–387, 2004.

FARRUKH, S. et al. Synthesis and Applications of Carbohydrate-Based Hydrogels. n. August, p. 0–24, 2018.

FATHI-ACHACHELOUEI, M. et al. Use of Nanoparticles in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, p. 1–22, 2019.

FILIPOVIC, V. V. et al. Biodegradable Hydrogel Scaffolds Based on 2-Hydroxyethyl Methacrylate, Gelatin, Poly(β -amino esters), and Hydroxyapatite. **Polymers**, p. 1–17, 2022.

FONTOURA, J. C. et al. Comparison of 2D and 3D cell culture models for cell growth, gene expression and drug resistance. **Materials Science and Engineering C**, v. 107, n. September 2019, p. 110264, 2020.

GHANE, N. et al. Design of hydrogel-based scaffolds for the treatment of spinal cord injuries. 2020.

GHIZONI, C. V. DE C. et al. Anti-inflammatory and antioxidant actions of copaiba oil are related to liver cell modifications in arthritic rats. **Journal of Cellular Biochemistry**, p. 1–42, 2017.

GIORNO, L. P.; RODRIGUES, L. R.; SANTOS, A. R. Characterization and in vitro analysis of a poly(ϵ -caprolactone)–gelatin matrix produced by rotary jet spinning and applied as a skin dressing. **Polymer Bulletin**, v. 79, n. 10, p. 9131–9158, 2022.

GUARINO, V. et al. **Polycaprolactone: Synthesis, Properties, and Applications**. [s.l.: s.n.].

GUNER, M. B. et al. A dual-phase scaffold produced by rotary jet spinning and

electrospinning for tendon tissue engineering. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 15, n. 6, 2020.

GUO, L. et al. The role of natural polymers in bone tissue engineering. **Journal of Controlled Release**, v. 338, n. September, p. 571–582, 2021.

GUO, Z.; POOT, A.; GRIJPMAN, D. W. Advanced polymer-based composites and structures for biomedical applications. v. 149, n. September 2020, 2021.

HABANJAR, O. et al. 3D Cell Culture Systems : Tumor Application , Advantages , and Disadvantages. 2021.

HABIBZADEH, F.; MAHDI, S.; MANSOORI, R. Nanomaterials supported by polymers for tissue engineering applications : A review. **Heliyon**, v. 8, n. September, p. e12193, 2022.

HAIDER, A. et al. Advances in the scaffolds fabrication techniques using biocompatible polymers and their biomedical application : A technical and statistical review. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 24, n. 2, p. 186–215, 2020.

HANUMANTHARAO, S. N.; RAO, S. Multi-functional electrospun nanofibers from polymer blends for scaffold tissue engineering. **Fibers**, v. 7, n. 7, 2019.

HEDAYATI, S. K. et al. 3D printed PCL scaffold reinforced with continuous biodegradable fiber yarn: A study on mechanical and cell viability properties. **Polymer Testing**, v. 83, n. November 2019, p. 106347, 2020.

HENRIQUES, J. et al. Copaiba Oil Resin Exerts an Additive Effect to Babassu Oil on Behavioral Changes in Human Endometriotic Cell Cultures. **pharmaceuticals**, 2022.

HERMENEAN, A. et al. Chitosan-Graphene Oxide 3D scaffolds as Promising Tools for Bone Regeneration in Critical-Size Mouse Calvarial Defects. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 91–95, 2017.

HOU, Y.; WANG, W.; BARTOLO, P. Investigation of polycaprolactone for bone tissue engineering scaffolds: In vitro degradation and biological studies. **Materials & Design**, v. 216, p. 110582, 2022.

HU, W.; WANG, Z.; XIAO, Y. Advances in crosslinking strategies of biomedical hydrogels.

p. 843–855, 2019.

HUANG, L. et al. Silk scaffolds with gradient pore structure and improved cell infiltration performance. v. 94, n. September 2018, p. 179–189, 2019.

HUANG, L. et al. Biopolymer-based microcarriers for three-dimensional cell culture and engineered tissue formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, 2020.

IBIAPINA, A. et al. Essential and fixed oils from Amazonian fruits : proprieties and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–13, 2021.

IDASZEK, J. et al. How important are scaffolds and their surface properties in regenerative medicine. **Applied Surface Science**, v. 388, p. 762–774, 2016.

ILYAS, R. A. et al. Natural Fiber-Reinforced Polycaprolactone Green and Hybrid Biocomposites for Various Advanced Applications. **Polymers**, v. 14, n. 1, p. 1–28, 2022.

JAMMALAMADAKA, U.; TAPPA, K. Recent advances in biomaterials for 3D printing and tissue engineering. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 9, n. 1, 2018.

JANMOHAMMADI, M.; NOURBAKHSI, M. S. International Journal of Polymeric Materials and Electrospun polycaprolactone scaffolds for tissue engineering : a review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 68, n. 9, p. 527–539, 2019.

JANOUSHKOVÁ, O. Synthetic polymer scaffolds for soft tissue engineering. **Physiological Research**, v. 67, p. 335–348, 2018.

JANOUSHKOVÁ, O. et al. Biomimetic modification of dual porosity poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel scaffolds-porosity and stem cell growth evaluation. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 14, n. 5, 2019.

JAZAYERI, H. E. et al. Polymeric scaffolds for dental pulp tissue engineering : A review. **Dental Materials**, v. 36, n. 2, p. e47–e58, 2019.

JING, X. et al. Fabrication of Three-Dimensional Fluffy Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering via Electrospinning and CO₂ Escaping Foaming. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 22, p. 9412–9421, 2019.

JODATI, H.; YILMAZ, B.; EVIS, Z. A review of bioceramic porous scaffolds for hard tissue applications: Effects of structural features. **Ceramics International**, v. 46, n. 10, p. 15725–15739, 2020.

JOSEPH, B. et al. Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications. **Materials Today Communications**, v. 19, n. October 2018, p. 319–335, 2019.

KAHDIM, Q. S. et al. Fabrication of a Polycaprolactone / Chitosan Nanofibrous Scaffold Loaded with Nigella sativa Extract for Biomedical Applications. **BioTech**, p. 1–14, 2023.

KASPRÓW, M. et al. HEMA in Polymers with Thermoresponsive Properties. **Polymer Reviews**, v. 61, n. 4, p. 714–735, 2021.

KESHVARDOOSTCHOKAMI, M. et al. Electrospun nanofibers of natural and synthetic polymers as artificial extracellular matrix for tissue engineering. **Nanomaterials**, v. 11, n. 1, p. 1–23, 2021.

KOSTENKO, A.; SWIOKLO, S.; CONNON, C. J. Alginate in corneal tissue engineering. **Biomedical Materials (Bristol)**, v. 17, n. 2, 2022.

KUNG, C. H. et al. Assessment and Interpretation of Surface Wettability Based on Sessile Droplet Contact Angle Measurement : Challenges and Opportunities. **Advanced Materials**, v. 1900839, p. 1–27, 2019.

LI, R. et al. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/ β -cyclodextrin-hyaluronan contact lens with tear protein adsorption resistance and sustained drug delivery for ophthalmic diseases. **Acta Biomaterialia**, v. 110, p. 105–118, 2020.

LIMA, T. DE P. DE L. et al. Poly (ϵ -caprolactone)-Based Scaffolds with Multizonal Architecture: Synthesis, Characterization, and In Vitro Tests. **Polymers**, v. 15, p. 1–15, 2023.

LIMA, T. DE P. DE L.; PASSOS, M. F. Skin wounds , the healing process , and hydrogel-based wound dressings : a short review. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 0, n. 0, p. 1–16, 2021.

LIU, Q.; PARKER, K. K. A viscoelastic beam theory of polymer jets with application to rotary jet spinning. **Extreme Mechanics Letters**, v. 25, p. 37–44, 2018.

LIU, X. et al. Bioactive Materials Biomaterial strategies for the application of reproductive tissue engineering. **Bioactive Materials**, v. 14, n. July 2021, p. 86–96, 2022.

LIVERANI, L. et al. **Porous biomaterials and scaffolds for tissue engineering**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. v. 1–3

LV, Y. et al. Metal Material , Properties and Design Methods of Porous Biomedical Scaffolds for Additive Manufacturing : A Review. v. 9, n. March, p. 1–16, 2021.

MA, X.; WEN, G. Development history and synthesis of super-absorbent polymers: a review. **Journal of Polymer Research**, v. 27, n. 6, 2020.

MABROUK, M.; BEHEREI, H. H.; DAS, D. B. Recent progress in the fabrication techniques of 3D scaffolds for tissue engineering. **Materials Science & Engineering C**, v. 110, n. November 2019, p. 110716, 2020.

MACHADO-PAULA, M. M. et al. A comparison between electrospinning and rotary-jet spinning to produce PCL fibers with low bacteria colonization. **Materials Science and Engineering C**, v. 111, n. September 2019, 2020.

MACKOVA, H. et al. Reductively Degradable Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels with Oriented Porosity for Tissue Engineering Applications. **Applied materials and interfaces**, v. 9, p. 10544–10553, 2017.

MADDUMA-BANDARAGE, U. S. K.; MADIHALLY, S. V. **Synthetic hydrogels: Synthesis, novel trends, and applications**, 2020.

MAHMOUD SALEHI, A. O. et al. Use of polycaprolactone in corneal tissue engineering: A review. **Materials Today Communications**, v. 27, n. December 2020, p. 102402, 2021.

MANDAL, P.; SHUNMUGAM, R. Polycaprolactone: a biodegradable polymer with its application in the field of self-assembly study. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 111–129, 2020.

MARIN, E.; BOSCHETTO, F.; PEZZOTTI, G. Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 108, n. 8, p. 1617–1633, 2020.

MCMAHAN, S. et al. **Current advances in biodegradable synthetic polymer based cardiac patches.** [s.l: s.n.]. v. 108

MENDONÇA, L. H. P. et al. Nanohydroxyapatite effects on polyesters-based membranes for bone applications. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 20, p. 3697–3704, 2022.

MOHAMMADALIZADEH, Z.; BAHREMANDI-TOLOUE, E.; KARBASI, S. **Synthetic-based blended electrospun scaffolds in tissue engineering applications.** [s.l.] Springer US, 2022. v. 57

MOLLAGHADIMI, B. Preparation and characterisation of polycaprolactone–fibroin nanofibrous scaffolds containing allicin. **IET Nanobiotechnology**, v. 16, n. 7–8, p. 239–249, 2022.

MONTANHEIRO, T. L. D. A. et al. Recent progress on polymer scaffolds production: Methods, main results, advantages and disadvantages. **Express Polymer Letters**, v. 16, n. 2, p. 197–219, 2022.

MONTASERI, Z. et al. Composite silk fibroin hydrogel scaffolds for cartilage tissue regeneration. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 79, 2023.

MORITA, S. Hydrogen-bonds structure in poly (2-hydroxyethyl methacrylate) studied by temperature-dependent infrared spectroscopy. v. 2, n. March, p. 1–5, 2014.

NARVAEZ, L. E. M. et al. A Review of Potential Use of Amazonian Oils in the Synthesis of Organogels for Cosmetic Application. **Molecules**, v. 27, p. 1–25, 2022.

NATTA, F. J. VAN; AND, J. W. H.; CAROTHERS, W. H. Studies of Polymerization and Ring Formation. XXIII.1 ϵ -Caprolactone and its Polymers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 56, n. 2, p. 455–457, 1934.

NAUREEN, B. et al. Recent advances in tissue engineering scaffolds based on polyurethane and modified polyurethane. **Materials Science and Engineering C**, v. 118, p. 1–21, 2021.

NIKOLOVA, M. P.; CHAVALI, M. S. Bioactive Materials Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds : A review. v. 4, n. October 2019, p. 271–292, 2020.

OBASI, H. C. et al. Development of biocomposites from coir fibre and poly (caprolactone) by solvent casting technique. **Polymer Bulletin**, v. 75, n. 5, p. 1775–1787, 2018.

OGUERI, K. S. et al. Polymeric Biomaterials for Scaffold-Based Bone Regenerative Engineering. **Regenerative Engineering and Translational Medicine**, p. 128–154, 2019.

PANAYI, A. C.; ORGILL, D. P. Current use of biological scaffolds in plastic surgery. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 143, n. 1, p. 209E-220E, 2019.

PARANHOS, S. B. et al. Chitosan Membrane Containing Copaiba Oil (Copaifera spp.) for Skin Wound Treatment. **Polymers**, v. 14, n. 35, p. 1–17, 2022.

PASCOAL, D. R. C. et al. Copaiba oil-loaded commercial wound dressings using supercritical CO₂: A potential alternative topical antileishmanial treatment. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 129, p. 106–115, 2017.

PASSOS, M. F. et al. pHEMA hydrogels: Synthesis, kinetics and in vitro tests. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 125, n. 1, p. 361–368, 2016.

PASSOS, M. F. et al. PHEMA Hydrogels Obtained by Infrared Radiation for Cartilage Tissue Engineering. v. 2019, 2019.

PATEL, P.; THAREJA, P. Hydrogels differentiated by length scales: A review of biopolymer-based hydrogel preparation methods, characterization techniques, and targeted applications. **European Polymer Journal**, v. 163, n. August 2021, p. 110935, 2022.

PAXTON, N. C. et al. Biomedical applications of polyethylene. **European Polymer Journal**, 2019.

PAXTON, N. C.; WOODRUFF, M. A. Measuring contact angles on hydrophilic porous scaffolds by implementing a novel raised platform approach : A technical note. **Polymers advanced technologies**, n. May, p. 3759–3765, 2022.

PAYDAYESH, A.; HELEIL, L.; DADKHAH, A. S. Preparation and application of poly (hydroxyl ethyl methacrylate) nanocomposite hydrogels containing iron oxide nanoparticles as wound dressing. **Polymers and Polymer Composites**, v. 30, p. 1–10, 2022.

PEREIRA, E. et al. Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends. **Food**

Chemistry, v. 278, p. 208–215, 2019.

PEREZ-PUYANA, V. et al. Polymer-based scaffolds for soft-tissue engineering. **Polymers**, v. 12, n. 7, p. 1–21, 2020.

PETERS, J. T. et al. Advanced biomedical hydrogels : molecular architecture and its impact on medical applications. n. November, p. 1–21, 2021.

PINTO, E. P. et al. Copaiba essential oil loaded-nanocapsules film as a potential candidate for treating skin disorders : preparation , characterization , and antibacterial properties.

International Journal of Pharmaceutics, v. 633, 2023a.

PINTO, E. P. et al. Comparing the nanoscale topography and interface properties of chitosan films containing free and nano-encapsulated copaiba essential oil: An atomic force microscopy (AFM) and Fractal Geometry study. **Materials Today Communications**, v. 35, n. December 2022, p. 105765, 2023b.

PINTO, E. P. et al. Copaiba essential oil loaded-nanocapsules film as a potential candidate for treating skin disorders: preparation, characterization, and antibacterial properties.

International Journal of Pharmaceutics, v. 633, n. January, 2023c.

PINTO, M. F. et al. Electrospun Membrane Based on Poly(L-co-D,L lactic acid) and Natural Rubber Containing Copaiba Oil Designed as a Dressing with Antimicrobial Properties.

Antibiotics, v. 12, n. 5, 2023d.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: Tipos, aplicações e mercado. **Quimica Nova**, v. 38, n. 7, p. 957–971, 2015.

PLATH, A. M. S. et al. Co-Electrospun Poly(ϵ -Caprolactone)/Zein Articular Cartilage Scaffolds. **Bioengineering**, v. 10, n. 7, p. 1–15, 2023.

POOPROMMIN, P. et al. Alginate / pectin dressing with niosomal mangosteen extract for enhanced wound healing : evaluating skin irritation by structure-activity relationship.

Heliyon, v. 8, p. e12032, 2022.

PRAMANIK, S. et al. Natural Biopolymers for Bone Tissue Engineering: A Brief Review. **Engineered Regeneration**, 2022.

PRAVEEN et al. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels doped with copper nanoparticles. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 23, n. 7, 2021.

PUNJ, S.; SINGH, J.; SINGH, K. Ceramic biomaterials: Properties, state of the art and future prospectives. **Ceramics International**, v. 47, n. 20, p. 28059–28074, 2021.

RAHMATI, M. et al. Electrospinning for tissue engineering applications. **Progress in Materials Science**, v. 117, n. October 2016, p. 100721, 2021.

RAHMATI, M.; MILLS, D. K.; URBANSKA, A. M. Progress in Materials Science Electrospinning for tissue engineering applications. **Progress in Materials Science**, v. 117, n. July 2020, p. 100721, 2021.

RAJENDRA, M. et al. PCL-PEG copolymer based injectable thermosensitive hydrogels. **Journal of Controlled Release**, v. 343, n. November 2021, p. 217–236, 2022.

RATNER, B. D.; ZHANG, G. **A History of Biomaterials**. Fourth Edi ed. [s.l.] Elsevier, 2020.

REZVANI GHOMI, E. et al. Collagen-based biomaterials for biomedical applications. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 109, n. 12, p. 1986–1999, 2021.

RIBAS, R. G. et al. Current advances in bone tissue engineering concerning ceramic and bioglass scaffolds : A review. **Ceramics International**, v. 45, n. 17, p. 21051–21061, 2019.

RODRIGUES, G. DE M. et al. Antimicrobial Activity and GC-MS Profile of Copaiba Oil for Incorporation into Xanthosoma mafaffa Schott Starch-Based Films. **Polymers**, 2020.

RODRIGUES, V. M. et al. Copaiba Oil-Loaded Polymeric Nanocapsules : Production and In Vitro Biosafety Evaluation on Lung Cells as a Pre-Formulation Step to Produce Phytotherapeutic Medicine. **Pharmaceutics**, 2023.

ROGALSKI, J. J. et al. A study of rheological limitations in rotary jet spinning of polymer nanofibers through modeling and experimentation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 33, p. 1–10, 2020.

ROGALSKI, J. J.; BASTIAANSEN, C. W. M.; PEIJS, T. Rotary jet spinning review—a

potential high yield future for polymer nanofibers. **Nanocomposites**, v. 3, n. 4, p. 97–121, 2017.

RUIZ-ALONSO, S. et al. Tendon tissue engineering : Cells , growth factors , scaffolds and production techniques. **Journal of Controlled Release**, v. 333, p. 448–486, 2021.

SADAIYANDI, V. et al. Essential Oils Infused Poly - ϵ - Caprolactone / Gelatin Electrospun Nanofibrous Mats : Biocompatibility and Antibacterial Study. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, n. 0123456789, 2023.

SALAWI, A. et al. Development of Statistically Optimized Chemically Cross-Linked Hydrogel for the Sustained-Release Delivery of Favipiravir. **Polymers**, p. 1–19, 2022.

SAMIEI, M. et al. Bioactive hydrogel-based scaffolds for the regeneration of dental pulp tissue. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 64, n. February, p. 102600, 2021.

SAPTAJI, K. et al. Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels for contact lens applications—a review. **Makara Journal of Science**, v. 25, n. 3, p. 145–154, 2021.

SARAVANAN, S.; LEENA, R. S.; SELVAMURUGAN, N. Chitosan based biocomposite scaffolds for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 1354–1365, 2016.

SERRA, J. L. et al. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants : Fatty acids , methyl tocols , total carotenoids and chemical composition. **Food Research International**, v. 116, p. 12–19, 2019.

SHAHROUSVAND, M. et al. Osteogenic differentiation of hMSCs on semi-interpenetrating polymer networks of polyurethane/poly(2-hydroxyethyl methacrylate)/cellulose nanowhisker scaffolds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 138, p. 262–271, 2019.

SHAMS, M. et al. Nanocomposite scaffolds composed of Apacite (apatite-calcite) nanostructures, poly (ϵ -caprolactone) and poly (2-hydroxyethylmethacrylate): The effect of nanostructures on physico-mechanical properties and osteogenic differentiation of human bone marrow me. **Materials Science and Engineering C**, v. 117, n. April, p. 111271, 2020.

SHARANRAJ, V. et al. Finite Element Analysis of Zirconia Ceramic Biomaterials Used in

Medical Dental Implants. p. 24–31, 2019.

SHARIFI, M. et al. Electrospun PCL and PLA hybrid nanofibrous scaffolds containing *Nigella sativa* herbal extract for effective wound healing. **Journal of Applied Polymer Science**, n. March, p. 9–11, 2020.

SHARMA, P. et al. Tissue Engineering ; Current Status & Futuristic Scope. v. 12, n. 3, p. 225–229, 2019.

SILVA, D. F. et al. PCL/andiroba oil (*Carapa guianensis* aubl.) hybrid film for wound healing applications. **Polymers**, v. 13, n. 10, p. 1–15, 2021.

SINGH, D. et al. Interpenetrating alginate on gelatin–poly(2-hydroxyethyl methacrylate) as a functional polymeric matrix for cartilage tissue engineering. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 68, n. 10, p. 551–563, 2019.

SINGH, R. et al. Optimization of cell seeding on electrospun PCL–silk fibroin scaffolds. **European Polymer Journal**, v. 134, n. April, p. 109838, 2020.

SONG, X. et al. Biomaterials and regulatory science. **Journal of Materials Science and Technology**, v. 128, p. 221–227, 2022.

SOUZA, L. DE et al. FEATURES AND STRATEGIES FOR SCAFFOLD DESIGN AND PRODUCTION FOR TISSUE ENGINEERING. **Quimica Nova**, v. 45, n. 7, p. 816–830, 2022a.

SOUZA, M. F. DE et al. Chitosan / Gelatin Scaffolds Loaded with *Jatropha mollissima* Extract as Potential Skin Tissue Engineering Materials. **Polymers**, v. 15, 2023.

SOUZA, S. et al. Thermal stimuli-responsive topical platform based on copaiba oil-resin : Design and performance upon ex-vivo human skin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 361, p. 1–20, 2022b.

SOWMYA, B.; HEMAVATHI, A. B.; PANDA, P. K. Poly (ϵ -caprolactone)-based electrospun nano-featured substrate for tissue engineering applications: a review. **Progress in Biomaterials**, v. 10, n. 2, p. 91–117, 2021.

SPICER, C. D. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: The importance of polymer choice.

Polymer Chemistry, v. 11, n. 2, p. 184–219, 2020.

SUAMTE, L.; TIRKEY, A.; BABU, P. J. Design of 3D smart scaffolds using natural, synthetic and hybrid derived polymers for skin regenerative applications. **Smart Materials in Medicine**, v. 4, n. June 2022, p. 243–256, 2023.

SUO, H. et al. Interpenetrating polymer network hydrogels composed of chitosan and photocrosslinkable gelatin with enhanced mechanical properties for tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 92, p. 612–620, 2018.

SVOZILOVÁ, H. et al. RGDS-Modified Superporous Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate)-Based Scaffolds as 3D In Vitro Leukemia Model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5, p. 1–17, 2021.

TABATABAEE, S.; BAHEIRAEI, N.; SALEHNIA, M. Fabrication and characterization of PHEMA – gelatin scaffold enriched with graphene oxide for bone tissue engineering. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 4, p. 1–19, 2022.

TAN, G. Z.; ZHOU, Y. Electrospinning of biomimetic fibrous scaffolds for tissue engineering : a review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 69, n. 15, p. 947–960, 2020.

TIWARI, S.; PATIL, R.; BAHADUR, P. Polysaccharide based scaffolds for soft tissue engineering applications. **Polymers**, v. 11, n. 1, 2019.

TOBOUTI, P. L. et al. Antimicrobial activity of copaiba oil: A review and a call for further research. **Biomedicine et Pharmacotherapy**, v. 94, p. 93–99, 2017.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 7, p. 1–19, 2014.

TRINDADE, R.; KELLY, J. Copaifera of the Neotropics : A Review of the Phytochemistry and Pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, 2018.

ULLAH, S.; CHEN, X. Fabrication , applications and challenges of natural biomaterials in tissue engineering. v. 20, 2020.

UNAL, A. Z.; WEST, J. L. Synthetic ECM: Bioactive Synthetic Hydrogels for 3D Tissue

Engineering. **Bioconjugate Chemistry**, v. 31, n. 10, p. 2253–2271, 2020.

URASAKI, Y. et al. Akt3 regulates the tissue-specific response to copaiba essential oil.

International Journal of Molecular Sciences, v. 21, n. 8, 2020.

VIDA, T. A. et al. Fibrous PCL/PLLA scaffolds obtained by rotary jet spinning and electrospinning. **Materials Research**, v. 20, p. 910–916, 2018.

WANG, Z. et al. Hierarchically hybrid biocoatings on Ti implants for enhanced antibacterial activity and osteogenesis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2021a.

WANG, Z. et al. Fabrication and in vitro evaluation of PCL/gelatin hierarchical scaffolds based on melt electrospinning writing and solution electrospinning for bone regeneration. **Materials Science and Engineering C**, v. 128, n. June, p. 112287, 2021b.

WASYŁECZKO, M.; SIKORSKA, W.; CHWOJNOWSKI, A. Review of Synthetic and Hybrid Scaffolds in Cartilage Tissue Engineering. 2020.

WU, D. T. et al. Polymeric scaffolds for dental, oral, and craniofacial regenerative medicine. **Molecules**, v. 26, n. 22, 2021.

YAO, Q. et al. Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nanofibrous scaffolds with significantly improved stem cells osteogenic differentiation and cranial bone formation. **Biomaterials**, v. 115, p. 115–127, 2017.

YAO, Z. et al. Biomimetic multilayer polycaprolactone / sodium alginate hydrogel scaffolds loaded with melatonin facilitate tendon regeneration. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, n. October 2021, p. 118865, 2022.

YAQUB KHAN, M.; MOHD YAQUB, K.; MIN-HUA, C. A Review on role of biomaterials in biomedical field. v. 8, n. 9, p. 2788–2793, 2019.

YE, B. et al. Recent Advances in the Application of Natural and Synthetic Polymer-Based Scaffolds in Musculoskeletal Regeneration. **Polymers**, v. 14, n. 21, p. 4566, 2022.

ZARE, M. et al. Phema: An overview for biomedical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 12, 2021.

ZHANG, F.; KING, M. W. Biodegradable Polymers as the Pivotal Player in the Design of

Tissue Engineering Scaffolds. v. 1901358, p. 1–22, 2020.

ZHANG, X. et al. Polyphenol scaffolds in tissue engineering. p. 145–167, 2021.

ZHAO, Y. et al. Supramolecular Adhesive Hydrogels for Tissue Engineering Applications. **Chemical Reviews**, v. 122, n. 6, p. 5604–5640, 2022.

ZHOU, L. et al. Functionalized Hydrogels for Articular Cartilage Tissue Engineering. **Engineering**, v. 13, p. 71–90, 2022.

8. ANEXOS

Nesta seção estão apresentadas as comprovações de trabalhos submetidos para publicação oriundos desta pesquisa, além de apresentação em congresso internacional. Ademais, também estão apresentadas as publicações com temas correlatos, em revistas indexadas internacionalmente, durante o período da pós-graduação.

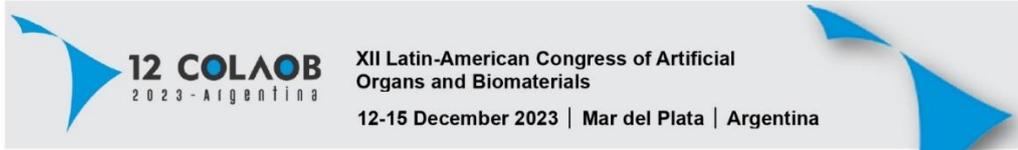
Apresentação de trabalho (pôster) no Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais (COLAOB)



Certificado de comparecimento no Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais (COLAOB)



1° Lugar na premiação Marcos Pinotti Barbosa (melhor pesquisa) - Congresso Latino-Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais



Marcos Pinotti Barbosa Award

The XII Latin-American Congress of Artificial Organs and Biomaterials Academic Committee conferred the

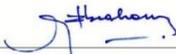
1st Special Mention Student Research Award

upon

Tainara Lima

for her commendable work entitled "Poly (ϵ -caprolactone)-based rotary jet-spun scaffolds with bilayer architecture: synthesis, characterization, and in vitro tests", authored by LIMA, Tainara de Paula de Lima; CONCHA, Viktor Oswaldo Cárdenas; BRÍGIDA, Thereza Silva Santa; RODRIGUES, Ana Paula Drummond; and PASSOS, Marcele Fonseca.


 Dra. Sara Feldman
 XII COLAOB co-chair


 Dr. Gustavo A. Abraham
 XII COLAOB chair



Artigo publicado na revista “Journal of Functional Biomaterials” (2022), referente a outras aplicações dos Biomateriais



Review

3D Bioprinting Technology and Hydrogels Used in the Process

Tainara de P. L. Lima^{1,2}, Caio Augusto d. A. Canelas², Viktor O. C. Concha³, Fernando A. M. da Costa⁴ and Marcelle F. Passos^{1,2,*}

¹ Graduate Program in Materials Science and Engineering, Federal University of Pará, Ananindeua 67130-660, Brazil

² Technological Development Group on Biopolymers and Biomaterials from the Amazon, Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém 66077-830, Brazil

³ School of Chemical Engineering, Federal University of São Paulo, Diadema 09913-030, Brazil

⁴ Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém 66075-110, Brazil

* Correspondence: cellepassos@ufpa.br

Abstract: 3D bioprinting has gained visibility in regenerative medicine and tissue engineering due to its applicability. Over time, this technology has been optimized and adapted to ensure a better printability of bioinks and biomaterial inks, contributing to developing structures that mimic human anatomy. Therefore, cross-linked polymeric materials, such as hydrogels, have been highly targeted for the elaboration of bioinks, as they guarantee cell proliferation and adhesion. Thus, this short review offers a brief evolution of the 3D bioprinting technology and elucidates the main hydrogels used in the process.

Keywords: 3D bioprinting; hydrogels; tissue engineering



Citation: Lima, T.d.P.L.; Canelas, C.A.d.A.; Concha, V.O.C.; Costa, F.A.M.d.; Passos, M.F. 3D Bioprinting Technology and Hydrogels Used in the Process. *J. Funct. Biomater.* **2022**, *13*, 214. <https://doi.org/10.3390/jfb13040214>

Academic Editor: Wei Wei

Received: 22 September 2022

Accepted: 23 October 2022

Published: 3 November 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Three-dimensional bioprinting (3DBP) is a multidisciplinary area of interconnection between life sciences and engineering. Through the combination of cells, growth factors, and biomaterials, and the principles of additive manufacturing, 3DBP emerges as a promising technology for use in tissue engineering and regenerative medicine [1,2]. It is, in fact, a therapeutic alternative in the development of materials that mimic the structure, composition, and function of native tissues. Some injured organs or tissues have a limited ability to regenerate, and their physicochemical and biological characteristics are heterogeneous and complex. Thus, 3D bioprinting technology uses different biomaterials to meet biological and mechanical functionalities. Recent advances have highlighted, in particular, hydrogels as a raw material in 3DBP [3–5].

Hydrogels are three-dimensional polymeric networks that have a high capacity to absorb fluids without dissolving [6–8], being well established as scaffolds in the area of tissue engineering (TE) [9,10]. Due to their hydrophilic nature and design with a porous structure, they tend to support cellular growth, proliferation, and differentiation. They can also be vehicles for biologically active substances or cells [2,11]. However, the successful scientific results with 3DBP hydrogels, of natural or synthetic origin, are usually fragile, with limited mechanical tenacity [12]. Research demonstrates, for example, that hydrogels for use in cartilage tissue engineering, have a fracture energy in J/m² that is ten times lower than the fracture energy of natural cartilage (~1000 J/m²). However, with 3D bioprinting of hydrogels, the architecture of these materials, in terms of geometry, interconnection, and pore size, can be adjusted, integrating other mechanisms of mechanical reinforcements [9]. Such properties play a crucial role in intercellular signaling, enhancing the development of macroscopically functional living constructs.

3D Bioprinting Evolution

Bioprinting is an emerging and multidisciplinary technology that originated from 3D printing (additive manufacturing) (Figure 1). The first milestone, in 1984, was provided

Artigo publicado na revista “Polymers” (2023), referente a pesquisas paralelas durante o período da pós-graduação.



Article

Poly (ϵ -caprolactone)-Based Scaffolds with Multizonal Architecture: Synthesis, Characterization, and In Vitro Tests

Tainara de Paula de Lima Lima ¹, Caio Augusto de Almeida Canelas ² , Joyce da Cruz Ferraz Dutra ³, Ana Paula Drummond Rodrigues ⁴, Rebecca Thereza Silva Santa Brígida ⁴, Viktor Oswaldo Cárdenas Concha ⁵, Fernando Augusto Miranda da Costa ² and Marcele Fonseca Passos ^{1,2,*}

¹ Technological Development Group in Biopolymers and Biomaterials from the Amazon, Materials Science and Engineering Program, Federal University of Pará, Ananindeua 67130-660, PA, Brazil; taydilima@gmail.com

² Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém 66075-110, PA, Brazil; caio.augusto.almeida1999@gmail.com (C.A.d.A.C.); fernando.amc@ufpa.br (F.A.M.d.C.)

³ Microbiology Department, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte 31270-901, MG, Brazil; dutra.eng.enharia.ambiental@gmail.com

⁴ Electron Microscopy Laboratory, Evandro Chagas Institute, Ministry of Health, Belém 66093-020, PA, Brazil; apdro.drignes@gmail.com (A.P.D.R.); rssb.1234@gmail.com (R.T.S.S.B.)

⁵ School of Chemical Engineering, Federal University of São Paulo, Diadema 09913-030, SP, Brazil; viktor.card.enas.c@gmail.com

* Correspondence: cellepassos@gmail.com



Citation: Lima, T.d.P.d.L.; Canelas, C.A.d.A.; Dutra, J.d.C.F.; Rodrigues, A.P.D.; Brígida, R.T.S.S.; Concha, V.O.C.; da Costa, F.A.M.; Passos, M.F. Poly (ϵ -caprolactone)-Based Scaffolds with Multizonal Architecture: Synthesis, Characterization, and In Vitro Tests. *Polymers* **2023**, *15*, 4403. <https://doi.org/10.3390/polym15224403>

Academic Editor: Alberto Romero Garcia

Received: 31 August 2023

Revised: 25 September 2023

Accepted: 3 October 2023

Published: 14 November 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Tissue engineering is vital in treating injuries and restoring damaged tissues, aiming to accelerate regeneration and optimize the complex healing process. In this study, multizonal scaffolds, designed to mimic tissues with bilayer architecture, were prepared using the rotary jet spinning technique (RJS scaffolds). Polycaprolactone and different concentrations of alginate hydrogel (2, 4, and 6% *m/v*) were used. The materials were swollen in pracaxi vegetable oil (PO) (*Pentaclethra macroloba*) and evaluated in terms of surface morphology, wettability, functional groups, thermal behavior, crystallinity, and cytotoxicity. X-ray diffraction (XRD) showed the disappearance of the diffraction peak $2\theta = 31.5^\circ$ for samples from the polycaprolactone/pracaxi/alginate (PCLOA) group, suggesting a reduction of crystallinity according to the presence of PO and semi-crystalline structure. Wettability gradients (0 to 80.91°) were observed according to the deposition layer and hydrogel content. Pore diameters varied between $9.27\ \mu\text{m}$ and $37.57\ \mu\text{m}$. Molecular interactions with the constituents of the formulation were observed via infrared spectra with Fourier transform (FTIR), and their influence was detected in the reduction of the maximum degradation temperature within the groups of scaffolds (polycaprolactone/alginate (PCLA) and PCLOA) about the control. In vitro tests indicated reduced cell viability in the presence of alginate hydrogel and PO, respectively.

Keywords: rotary jet spinning; alginate; hydrogel; pracaxi oil; *Pentaclethra macroloba*; tissue engineering

1. Introduction

Tissue engineering (TE) is a branch of multidisciplinary research that has emerged as an exciting alternative to overcome problems involving the scarcity of resources to transplant damaged organs and tissues [1]. In this technique, the patient's cells are cultivated and placed on a three-dimensional (3D) support (scaffolds), contributing to the formation of new tissue and reducing the rejection rates of the biological system [2,3]. Scaffolds are three-dimensional structures designed to mimic the natural extracellular matrix and provide physical and mechanical support for cell growth. These materials can be developed into multizonal architectures made of biocompatible polymers and hydrogels and loaded with bioactive compounds essential for regeneration [4]. A multizonal material presents more than one layer in its composition to imitate the heterogeneity of the tissue's native structure. It can be constituted by joining two or more materials, presenting an