

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de
Materiais - PPGE3M

**DESENVOLVIMENTO DE UM COMPÓSITO SEMICONDUTOR COM MATRIZ
ELASTOMÉRICA DE FONTE RENOVÁVEL, PROPRIEDADES DE AUTORREPARAÇÃO E
BIOCOMPATÍVEL**

Marcela Mantese Sander, M. Sc

Tese de Doutorado

Porto Alegre, julho de 2018

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de
Materiais - PPGE3M

**DESENVOLVIMENTO DE UM COMPÓSITO SEMICONDUTOR COM MATRIZ
ELASTOMÉRICA DE FONTE RENOVÁVEL, PROPRIEDADES DE AUTORREPARAÇÃO E
BIOCOMPATÍVEL**

Marcela Mantese Sander, M. Sc.

Trabalho realizado no Departamento de Materiais da Escola de Engenharia da UFRGS, dentro do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais - PPGEM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Engenharia.

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia dos Materiais

Porto Alegre, julho de 2018.

Marcela Mantese Sander

Mestra em Engenharia

**DESENVOLVIMENTO DE UM COMPÓSITO SEMICONDUTOR COM MATRIZ
ELASTOMÉRICA DE FONTE RENOVÁVEL E PROPRIEDADES DE AUTORREPARAÇÃO E
BIOCOMPATÍVEL**

Orientador: Profº Dr. Carlos Arthur Ferreira

Banca Examinadora:

Profª Dra Tatiana Louise Avila de Campos Rocha (Unisinos)

Profª Dra Ana Helena da Rosa Paz (ICBS – UFRGS)

Profª Dra Ruth Marlene Campomanes Santana (DEMAT – UFRGS)

Profº Dr. Carlos Pérez Bergmann

Coordenador do PPGE3M

Para minha mãe.

Agradecimentos

Existe um provérbio africano, que aprendi durante os primeiros meses de maternidade, que diz: *“é preciso uma aldeia inteira para criar uma criança”*. Esse ditado pode ser aplicado em vários momentos da nossa vida. Acredito que essa tese seja mais um deles. A tese é um pouco como um filho, e eu fui cercada por uma aldeia que foi junto comigo, me dando apoio, suporte, ajuda e incentivo para criar esse trabalho. Me orgulho de fazer parte desta aldeia e me sinto privilegiada por poder contar com ela.

Minha aldeia começa com um líder, um mestre. Nesse caso, meu orientador, Professor Carlos Ferreira, por quem eu tenho um grande respeito e muito afeto. É a pessoa que me inspira, tanto profissional quanto pessoal, pois foram muitos os momentos que pude contar com a sua compreensão (pela minha ausência sofridamente involuntária) e com seus acertados conselhos, que vinham sempre entremeados em prazerosas conversas. Sou grata ao senhor por me mostrar o caminho a seguir.

Os colegas e amigos do LAPOL, que compunham boa parte da aldeia, me fizeram crescer e refletir sobre minhas atitudes e pensamentos. Muitos momentos de prazer (com chimarrão e comida boa), mas também muitas discussões que me ajudaram a entender questões técnicas e científicas (e humanas!!), e contribuíram enormemente para este trabalho. Micheli, Franciéli, Marcele, Betina, Mauro, Paula, José, Larissa, Daiane, Jalma, Ana Keli, Elaine, Eliane, Maikson, Luana, Bruno, Beraldo, Alessandra, Lais, Andrea B... Muito obrigada.

Alguns membros dessa aldeia dedicaram seu tempo, esforço e trabalho braçal para o desenvolvimento deste trabalho, e depois seguiram seus caminhos. Feliz de mim que pude contar com a ajuda dos alunos de iniciação científica Roberta Correa e Pablo Vinicius. Obrigada pela confiança.

A aldeia também se expande a todos aqueles que contribuíram de alguma forma: ao pessoal do LACOR e do LABIOMAT, vizinhos de corredor, que sempre foram generosos em empréstimos e ajuda nas análises. Ao Martin, contribuindo com seu conhecimento e habilidade para o funcionamento de tudo! À Gabriela Wentz, pelos RMNs e conselhos. À Dra Mariska Hattemberger, pela revisão do artigo. Ao Diego

Deferrari, pelas discussões maravilhosas, cheias de conhecimento e humor. À Marcele Hocevar, pela síntese do polipirrol. Ao Mauro Ricardo e ao Francis Almeida (do CMM/UFRGS) pelas imagens de MEV. À Núbia Preuss e à Viviane Lovison, do CETEPO, pelo auxílio na preparação de amostras. Aos demais professores do LAPOL, que compartilharam de sua sabedoria. Aos demais professores que busquei por conselhos em outros laboratórios: César Petzhold, Michèle Oberson de Souza e Telmo Strohaecker (*in memoriam*). Aos pesquisadores do Instituto de Biomateriais da Universidade de Erlangen-Nuremberg, Alemanha, Dr. Aldo Boccaccini e a Dra Ranjana Rai, pelos conselhos sobre o ensaio de citocompatibilidade. À Dra Fabiany Gonçalves, do Centro de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por abraçar e acreditar nesse trabalho. Muito obrigada pela paciência e insistência!

No centro da aldeia, eu me encontro com aqueles membros que me deixam mais forte e confiante, para seguir em frente. Minha família: mãe (sempre por perto), pai, irmãs (Virginia e Camila), Marisa, Troá, Julia, Maiquel, Bia... Obrigada pelo suporte, e por me suportar! E também aos meus amigos queridos, que seria injusto citar somente alguns nomes aqui, mas que são igualmente importantes na minha vida. Os bons momentos que passamos reunidos torna tudo mais leve.

Enfim as palavras faltam para expressar o tamanho da minha gratidão à pessoa mais generosa que já conheci e que tenho a sorte de ter como meu companheiro nos últimos 18 anos. Murilo, te amo infinito. Esse trabalho é fruto das melhores coisas que tu despertaste em mim. E obrigada Gael, meu filho, por me mostrar que o amor se multiplica, enquanto a gente se divide para dar conta de tudo. ♥

Publicações

Os resultados das pesquisas obtidas durante o período do doutorado foram publicados em revistas científicas ou divulgados em congressos de âmbito nacional e internacional, como apresentado a seguir:

- I. Biocompósito condutor de eletricidade PGS/PPy: síntese e caracterização; **Sander, M. M.**, Ferreira, C. A., em *57 ° Congresso Brasileiro de Química 2017*, apresentação oral. Gramado, RS, Brasil.
- II. Synthesis and characterization of a conductive and self-healing composite; **Sander, M. M.**, Ferreira, C. A., em *SYNTHETIC METALS*, v. 243, p. 58-66, 2018.
- III. Conductive biocomposite with potential for medical applications; **Sander, M. M.**, Ferreira, C. A., em *1ST TERMIS-AM WORKSHOP - 4th International Meeting on Tissue Engineering and Regenerative Medicine 2018*, Porto Alegre, RS, Brasil.
- IV. Conductive and biocompatible elastomeric composite to use in cardiac tissue engineering applications; **Sander, M. M.**, Gonçalves, F., Paz, A. H. R., Ferreira, C. A. (artigo em produção)

Sumário

Agradecimentos	5
Publicações	7
Lista de Figuras	10
Lista de Tabelas	12
Lista de abreviaturas e símbolos.....	13
Resumo.....	15
Abstract	16
1. Introdução	17
2. Objetivos	19
3. Revisão Bibliográfica.....	20
3.1. Compósitos poliméricos condutores	20
3.1.1. Polímeros condutores intrínsecos	22
3.1.2. Polipirrol	24
3.2. Biomateriais.....	26
3.3. Poli(sebacato de glicerol) - PGS	30
3.4. Materiais autorreparáveis	33
4. Materiais e métodos.....	36
4.1. Materiais.....	36
4.2. Síntese do PGS.....	37
4.2.1. Síntese do pré-PGS	37
4.2.2. Reação de cura	37
4.3. Síntese do PPy	38
4.4. Obtenção dos compósitos PGS-PPy	38
4.5. Caracterização	39
4.5.1. Ressonância magnética nuclear H ⁺ (RMN).....	39
4.5.2. Cromatografia de permeação em gel (GPC).....	39
4.5.3. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	39
4.5.4. Calorimetria diferencial exploratória (DSC)	40
4.5.5. Termogravimetria (TGA)	40
4.5.6. Condutividade elétrica.....	40
4.5.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	41
4.5.8. Ensaio de tração	41
4.5.9. Ensaio de autorreparação	41
4.5.10. Degradação <i>in vitro</i>	42

4.5.11. Citocompatibilidade.....	42
4.5.12. Fixação das células e avaliação por MEV	44
5. Resultados e discussão	45
5.1. Síntese do pré-PGS	45
5.2. Fabricação dos filmes de PGS e compósitos PGS/PPy	48
5.3. Propriedades térmicas.....	51
5.4. Condutividade elétrica dos compósitos.....	54
5.5. MEV	56
5.6. Propriedades mecânicas.....	58
5.7. Autorreparação	61
5.8. Degradação <i>in vitro</i>	67
5.9. Citocompatibilidade.....	68
6. Considerações finais	75
7. Conclusão	77
8. Propostas para trabalhos futuros	77
9. Bibliografia	78

Lista de Figuras

Figura 1: Modelo da formação do caminho de percolação. Em (a) os sítios estão vagos. Em (b) alguns sítios são ocupados por partículas condutoras, mas não se conectam ($\varphi < \varphi_c$). Já em (c) há a formação do caminho de percolação através dos sítios e conglomerados de sítios ocupados ($\varphi = \varphi_c$ e/ou $\varphi > \varphi_c$). Adaptado de [26].	21
Figura 2: Alguns materiais representados na escala de condutividade. Adaptado de [29]	22
Figura 3: Estrutura dos principais polímeros condutores. Adaptado de [30]	23
Figura 4: Síntese química do PPy. Adaptado de [38]	24
Figura 5: Mecanismo de reação de eletropolimerização do PPy. Adaptado de [30].	25
Figura 6: Células tronco. Adaptado de [48].	28
Figura 7: Corte transversal ilustrativo do coração humano. Adaptado de [53].	29
Figura 8: Esquema da reação para obtenção do PGS. Adaptado de [63].	32
Figura 9: Extensão do tempo de vida de materiais de engenharia pela implementação do princípio de autorreparação. Adaptado de [64].	34
Figura 10: Fluxograma do trabalho experimental.	36
Figura 11: Reação do MTT (amarelo) com a enzima mitocondrial desidrogenase, levando a formação do cristal de formazan (violeta). Adaptado de [68].	44
Figura 12: Diagrama de distribuição molar do pré-PGS, obtida pelo ensaio de GPC.	46
Figura 13: Espectro de ^1H RMN do pré-PGS.	47
Figura 14: Espectros de FTIR-ATR dos filmes de (a) PGS controle e (b) do compósito PGS/PPy 5%.	49
Figura 15: Detalhe do espectro de FTIR-ATR do PGS controle e PGS/PPy 5%, evidenciando a formação de ligações de hidrogênio no compósito	50
Figura 16: Esquema ilustrativo da formação das ligações de hidrogênio intermoleculares.	50
Figura 17: Termograma de TGA obtido para PGS controle, compósitos PGS/PPy e PPy puro.	51
Figura 18: Termograma de DSC dos filmes de PGS controle e compósitos PGS/PPy	52
Figura 19: Termograma de DSC, no segundo aquecimento, comparando as amostras de pré-PGS e PGS controle.	53
Figura 20: Micrografias MEV na sessão fraturada criogenicamente, para as amostras de PGS controle e compósitos de PGS/PPy	57
Figura 21: Abundância dos elementos químicos nas diferentes fases do compósito PGS/PPy 5%, analisados por EDS.	57
Figura 22: Tensão x deformação das amostras de PGS e compósitos PGS/PPy, obtida pelo ensaio de tração.	59
Figura 23: Resultados de (a) alongamento máximo e (b) tensão máxima de alongamento do ensaio de tração das amostras autorreparadas.	64
Figura 24: Ensaio de autorreparação qualitativo	65
Figura 25: Condutividade elétrica dos compósitos PGS/PPy após autorreparados em diferentes temperaturas.	66
Figura 26: Variação da perda de massa das amostras de PGS e compósitos PGS/PPy, no ensaio de degradação in vitro.	68
Figura 27: Fotografia da placa de cultura do experimento de citocompatibilidade #1, após incubação de 24 h com MSC. Da esquerda para a direita, as fileiras na vertical correspondem às amostras PGS, PGS/PPy 5%, PGS/PPy 3% e PGS/PPy 1%, respectivamente.	69
Figura 28: Variação do pH das amostras do experimento de citocompatibilidade #1. Da esquerda para a direita PGS controle, PGS/PPy 5% (5b), PGS/PPy 3% (3b) e PGS/PPy 1% (1b).	70

Figura 29: Ensaio de viabilidade celular com MTT, para MSC e cardiomiócitos H9C2. ***p<0.001	70
Figura 30: Imagens (a) células saudáveis (controle) e (b) células mortas após incubação com uma amostra.	71
Figura 31: Viabilidade das culturas celulares com (a) MSC e (b) cardiomiócitos cultivados nos extratos das amostras de PGS controle e PGS/PPy 3%, comparados com o meio de cultura controle.....	72
Figura 32: Micrografias MEV para amostras com MSC. As células aderidas na amostra de PGS controle (a) e (b). As setas vermelhas indicam alguns filamentos de aderência. As setas amarelas indicam as células encontradas na amostra PGS/PPy 3% (c), e no detalhe em (d).	73
Figura 33: Micrografias MEV para as amostras com cardiomiócitos. Células aderidas na amostra de PGS controle (a) e estiradas na amostra de compósito PGS/PPy 3% (b) e (c). As setas vermelhas indicam os filamentos de aderência.	74

Lista de Tabelas

Tabela 1: Principais temperaturas características das amostras de PGS controle e compósitos PGS/PPy, verificados por DSC.....	52
Tabela 2: Condutividade elétrica dos compósitos PGS/PPy.	55
Tabela 3: Alongamento máximo, tensão máxima de alongamento e módulo de Young no ensaio de tração, para as amostras de PGS e compósitos PGS/PPy.	59
Tabela 4: Densidade de entrelaçamentos das amostras de PGS e compósitos PGS/PPy	61
Tabela 5: Ensaio quantitativo de autorreparação.	66
Tabela 6: Variação do pH das soluções de PBS no ensaio de degradação <i>in vitro</i>	68

Lista de abreviaturas e símbolos

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Refletância total atenuada
CPC	Compósito polimérico condutor
DMEN	<i>Dulbecco's modified Eagle's</i> (meio de cultura)
DMSO	Dimetilsiloxano
DSC	Calorimetria diferencial exploratória
E	Módulo de Young
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
GPC	Cromatografia de permeação em gel
I	Corrente
LD 50	Dose letal mediana matar 50% de uma população em teste
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mn	Massa molar numérica média
MPa	Mega Pascal
MSC	Células estromal mesenquimais
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil brometo tetrazolium
Mw	Massa molar ponderal média
n	Densidade de entrelaçamentos
OM	Magnificação ótica
PANI	Polianilina
PBS	Tampão fosfato salino
PGS	Poli (sebacato de glicerol)
PLA	Poli (ácido láctico)
PPy	Polipirrol
PVA	Poli (álcool vinílico)
R	Constante universal de gases
RMN	Ressonância magnética nuclear

S	Condutividade
SFB	Soro fetal bovino
t	Espessura
T (K)	Temperatura absoluta
T_c	Temperatura de cristalização
T_g	Temperatura de transição vítrea
TGA	Análise termogravimétrica
THF	Tetrahidrofurano
T_m	Temperatura de fusão
UTS	Resistência máxima a tração (no escoamento)
V	Voltagem
ΔH_f	Calor de fusão
ρ	Resistividade elétrica
σ	Condutividade elétrica
Φ	Volume de polímero condutor
φ	Concentração de partículas condutoras
φ_c	Limiar de percolação

Resumo

Através de uma síntese livre de solventes, foi preparado um compósito condutor de eletricidade a base de poli (sebacato de glicerol) (PGS) e polipirrol (PPy). A matriz de PGS foi obtida por uma reação de policondensação, com proporção de 1:1 de ácido sebácico e glicerol. O PPy foi preparado por síntese química, usando cloreto férrico como agente oxidante. Amostras contendo 1, 3 e 5% de PPy foram preparados pela adição do polímero condutor finamente particulado, na matriz de pré-PGS, procedendo com a reação de cura, formando placas de 6 x 6 x 0,3 cm. A reação de polimerização do pré-PGS foi confirmada por GPC, ATR-FTIR e RMN. Comparando a obtenção das placas de PGS controle e dos compósitos PGS/PPy, observou-se que o tempo de cura das amostras diminuiu 50%. Os filmes foram caracterizados por análises térmica e dinâmico mecânicas, indicando que os compósitos são termicamente estáveis. A matriz se comporta como um elastômero a temperatura ambiente. A condutividade elétrica dos filmes de compósito é da ordem de 10^{-5} S/cm, caracterizando um material semicondutor. Baseado nas características químicas da matriz, a propriedade de autorreparação foi investigada, tanto para o PGS quanto para os compósitos com PPy. Os resultados mostraram que os filmes podem recuperar sua integridade mecânica após serem cortados ao meio e reparados a 130 °C por 24 h, mantendo também a condutividade elétrica. O PGS e o PPy são bons candidatos para aplicações médicas e, em termos de propriedades mecânicas e de condutividade elétrica, são semelhantes ao tecido do miocárdio. Desta forma, foram avaliadas as propriedades de degradação e citocompatibilidade *in vitro*, mostrando grande potencial para que os compósitos possam ser usados como coadjuvantes no tratamento de doenças do coração.

Palavras chave: Compósito polimérico condutor, PGS, PPy, autorreparação.

Abstract

An electrically conductive composite of poly(glycerol sebacate) (PGS) and polypyrrole (PPy) was prepared by solvent free synthesis. The PGS matrix was obtained with a 1:1 proportion of sebacic acid and glycerol. The PPy was prepared by chemical synthesis, using iron chloride as oxidant. Films containing 1, 3 and 5% PPy were prepared by adding the conductive polymer, as a finely dispersed powder, into the PGS pre-polymer matrix. PGS polymerization was confirmed by GPC, ATR-FTIR and NMR. Preparation time of the crosslinked film was decreased by 50% via the addition of PPy. The films were characterized by thermal and dynamic mechanical analysis, indicating a thermally stable composite. The matrix behaved as an elastomer at room temperature. The electrical conductivity of the composite films was in the order of 10^{-5} S/cm, being a semiconductor material. Based on the chemical characteristics of the matrix, the self-healing properties of PGS and its composites with PPy were investigated. The results showed that the films can fully recover their mechanical strength after being cut and repaired at 130 °C for 24 h, retaining the electrical conductivity. PGS and PPy are good candidates for medical applications and, in terms of mechanical and electrical conductivity properties, the biocomposite is in agreement with the myocardial tissue. Therefore, the in vitro degradation behavior and cytocompatibility was evaluated, showing potential to use as an aid in heart injuries.

Key words: Conductive polymeric composite, PGS, PPy, self-healing.

1. Introdução

Aliar diferentes propriedades em um só material proporciona funcionalidade na confecção de equipamentos e dispositivos, podendo torna-los mais leves, mais sensíveis, mais resistentes e mais funcionais. Os chamados materiais inteligentes vêm sendo estudados nas últimas duas décadas pois representam o futuro da engenharia de materiais. O procedimento mais comum para a obtenção de materiais inteligentes é a fabricação de compósitos, onde uma matriz (polimérica, metálica ou cerâmica) é beneficiada com a adição de uma fase dispersa que confere alguma propriedade especial, como maior resistência mecânica, condutividade térmica ou elétrica, entre outros. O mercado de compósitos funcionais é dominado pelos materiais com matrizes poliméricas, devido ao aumento do uso na indústria automobilística, de aviação aeroespacial, de defesa e na geração de energia. Matrizes poliméricas são preferidas devido a facilidade de fabricação e excelente relação entre densidade e resistência mecânica. Recente relatório americano apontou que o mercado mundial de compósitos funcionais movimentou US\$ 28,6 bilhões em 2016, e projeta alcançar US\$ 43 bilhões em 2021 [1].

Compósitos poliméricos condutores, também conhecidos como CPCs, são um tipo de material inteligente, formado pela junção das propriedades mecânicas de uma matriz polimérica incorporada de partículas condutoras. Os CPCs têm sido estudados em várias aplicações, como biomateriais, biosensores, sensores de gás, dispositivos antiestáticos para equipamentos eletrônicos, materiais que se auto aquecem e revestimentos. Mais recentemente, Larimi et al [2] descreveram um CPC ultra elástico de baixo custo produzido a partir de um adesivo comercial semelhante a borracha. Este sensor de deformação piezo-resistivo demonstrou grande potencial para monitoração de biosinais e movimento humano. Os CPCs também podem ser obtidos em formas especiais, como demonstrado por Shu Ying et al [3], que obtiveram um aerogel condutor de nanotubos de polipirrol. Dependendo da escolha da matriz e das partículas condutoras incorporadas, o CPC pode apresentar propriedades e aplicações mais especiais. Eles podem ser obtidos a partir de matérias-primas renováveis, por exemplo, ou apresentarem biodegradabilidade e (ou) biocompatibilidade. Poli (sebacato de glicerol) (PGS) é um poliéster biodegradável e biocompatível muito barato, preparado a

partir da policondensação de ácido sebácico e glicerol, ambos obtidos do óleo de mamona [4]. PGS sozinho tem limitadas propriedades mecânicas, mas usando este polímero como uma matriz em compósitos, aumenta a sua gama de aplicações. Por exemplo, um compósito de PGS e Bioglass™, proposto por Liang et al [5], apresentou propriedades mecânicas melhoradas, como módulo de Young e resistência à tração, sem comprometer a extensibilidade deste elastômero.

Neste trabalho é descrito um novo CPC, usando uma matriz PGS e uma fase dispersa condutora de polipirrol (PPy). O PPy é um polímero condutor de eletricidade que também é biocompatível [6], mesmo em pequenas quantidades. No entanto, não é fusível e tem baixa solubilidade [7], apresentando dificuldades em seu processamento e utilização como produto final. A combinação das características elastoméricas do PGS e as propriedades condutoras do PPy, faz com que este compósito seja um CPC potencialmente muito interessante. As características físico-químicas, comportamento térmico e condutivo, as propriedades mecânicas, aspectos morfológicos e de degradação do compósito foram estudados.

Adicionalmente, com base nas características químicas do PGS, presumiu-se que este polímero pode exibir propriedades de autorreparação [8]. Os materiais autorreparáveis são capazes de recuperar totalmente ou parcialmente sua integridade mecânica após danos externos. Dessa forma, o PGS, bem como seu compósito com PPy, foram testados quanto à capacidade de autorreparação, avaliando suas propriedades em função de alguns critérios, sugerindo um novo método para identificar potenciais polímeros intrínsecos de autorreparação.

Baseado em estudos que indicam que ambos os polímeros PGS e PPy são biocompatíveis, foram avaliados estes materiais quanto a citocompatibilidade frente a células mesenquimais e cardiomiócitos, visando potenciais aplicações médicas, especialmente como coadjuvante no tratamento de doenças cardíacas.

2. Objetivos

Principal

- Desenvolver um compósito semicondutor de eletricidade de matriz elastomérica, a base de PGS e PPy.

Secundários

- Verificar as características químicas destes materiais.
- Caracterizar em relação as propriedades térmicas, elétricas e mecânicas.
- Averiguar a morfologia.
- Testar a degradação hidrolítica *in vitro*.
- Investigar a propriedade de autorreparação do PGS e do compósito PGS-PPy.
- Avaliar a citocompatibilidade *in vitro* frente às células-tronco mesenquimais e cardiomiócitos.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Compósitos poliméricos condutores

Os profissionais ligados à Engenharia de Materiais vêm trabalhando nas últimas décadas no desenvolvimento de materiais inteligentes, que através da combinação da funcionalidade de polímeros, cerâmicas e metais avançados, aliam diferentes propriedades em um só dispositivo. São exemplos de materiais inteligentes tintas que conduzam eletricidade [9], sensores sensíveis a mudanças de pH [10] ou temperatura, compósitos poliméricos condutores de eletricidade [11] e materiais com habilidades especiais, como de autorreparação (*self-healing*) [12] e com memória de forma [13]. Na indústria já são muito utilizados como, por exemplo, para detectar e prevenir corrosão, estender o tempo de vida de componentes e estruturas e reduzir custos com inspeção, manutenção e reparos. Também na área médica já são uma realidade, como em adesivos e implantes com liberação controlada de medicamentos, ou como tecidos biológicos sintéticos mimetizados que criam um ambiente favorável ao crescimento celular. [14–18]

Dentre os materiais inteligentes mais estudados, destacam-se os compósitos poliméricos condutores (CPC), que são materiais formados por uma matriz isolante e uma fase dispersa condutora de eletricidade [19]. Exemplos utilizados como fase dispersa são os nanotubos de carbono [20], nanopartículas de metais [21], e polímeros condutores intrínsecos [22–24]. Já a matriz é polimérica [25], variando conforme a necessidade da aplicação a qual se destina. Os CPCs fornecem vantagens em relação aos metais em várias aplicações, pois apresentam maior resistência a corrosão, menor densidade e flexibilidade. CPCs são também conhecidos como condutores extrínsecos, uma vez que a capacidade de conduzir corrente elétrica não é propriedade inerente do material dominante (matriz) e sim fornecidas pela fase dispersa.

Um compósito formado por uma matriz polimérica isolante e uma carga condutora apresenta condutividade elétrica dependendo da concentração das partículas condutoras adicionadas ao sistema. Quando há uma baixa concentração, a condutividade tem valores irrelevantes, na faixa de 10^{-15} S/cm. Para que ocorra a condutividade, as partículas condutoras devem estar bem dispersas e conectadas de

forma a disponibilizar um caminho que proporcione o fluxo de corrente. A formação deste caminho se dá a partir de uma concentração crítica chamada de limiar de percolação, ou φ_c . Quando a concentração de partículas φ é crescente e se aproxima de φ_c , começa a surgir o primeiro caminho pelo qual a corrente tem fluxo, e a leitura da condutividade apresenta um valor considerável. No modelo mostrado na Figura 1, o quadro (a) mostra um exemplo de uma matriz onde há diversos sítios vagos (em branco). No quadro (b) alguns sítios são ocupados por partículas condutoras, porém $\varphi < \varphi_c$ e por consequência não há condutividade. Já no quadro (c) $\varphi = \varphi_c$ e/ou $\varphi > \varphi_c$, e o modelo apresenta um caminho de percolação que forma uma rede tridimensional, no qual há fluxo de corrente. Para maiores concentrações, o número de caminhos condutores aumenta até a formação de uma rede tridimensional. Nessa faixa a condutividade é alta e a adição de mais partículas condutoras não influencia a condutividade do composto de forma relevante.

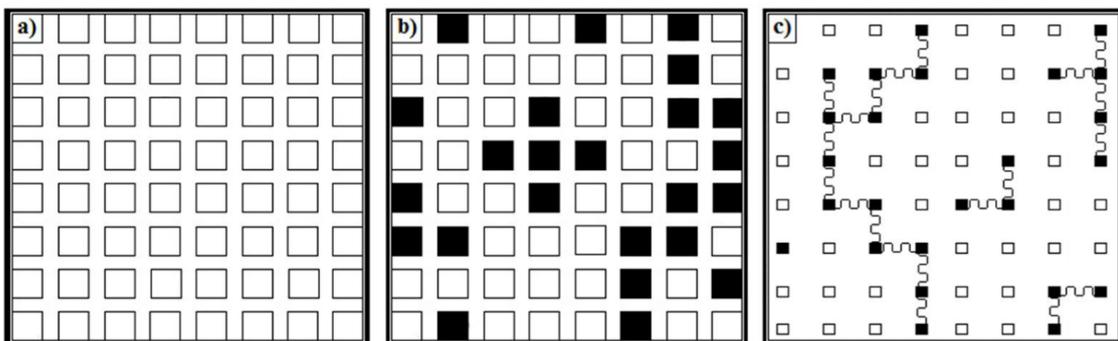


Figura 1: Modelo da formação do caminho de percolação. Em (a) os sítios estão vagos. Em (b) alguns sítios são ocupados por partículas condutoras, mas não se conectam ($\varphi < \varphi_c$). Já em (c) há a formação do caminho de percolação através dos sítios e conglomerados de sítios ocupados ($\varphi = \varphi_c$ e/ou $\varphi > \varphi_c$). Adaptado de [26].

Os modelos teóricos que buscam explicar o fenômeno de percolação são complexos, e diversos fatores devem ser levados em consideração para elaborar modelagens, como tipos de matriz e de partícula condutora, geometria das partículas, processamento dos CPCs, tratamento térmico, etc. Experimentalmente, e de forma mais

simples, a verificação da concentração de percolação é medida em função da condutividade e, em alguns casos, por ensaios de microscopia [26,27].

3.1.1. Polímeros condutores intrínsecos

A fase dispersa do CPC pode ser formada, como já citado anteriormente, por polímeros condutores intrínsecos. Quase em sua totalidade, os polímeros são conhecidos por serem excelentes isolantes elétricos, devido a sua alta resistividade como consequência das longas cadeias carbônicas saturadas das quais são formadas. Mesmo sabendo que sistemas lineares conjugados, ou seja, aqueles que alternam ligações duplas e simples ao longo da cadeia, apresentam estados eletrônicos deslocalizados, somente em 1977 cientistas japoneses mostraram que um polímero, o poliacetileno, era capaz de exibir condutividade semelhante aos metais [28]. A partir de então pesquisadores do mundo inteiro começaram a estudar diferentes polímeros com características semelhantes. A Figura 2 ilustra um comparativo na escala de condutividade de alguns materiais.

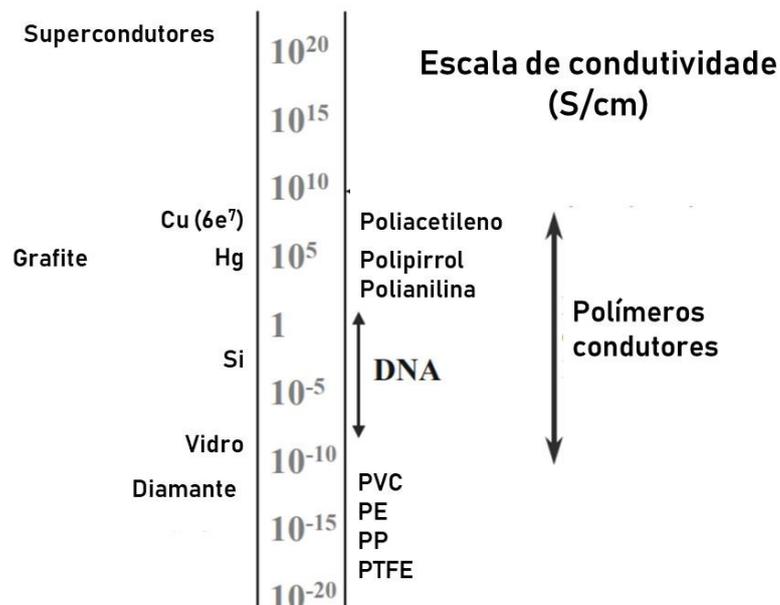


Figura 2: Alguns materiais representados na escala de condutividade. Adaptado de [29]

Os polímeros intrinsecamente condutores são formados por moléculas com ligações duplas alternadas, como mostrado na Figura 3. Quando no estado dopado, formam-se lacunas (*band gaps*) onde os elétrons da ligação π podem transitar livremente. Em outras palavras, é formada uma estrutura ressonante. O processo de dopagem consiste na adição ou remoção de cargas na cadeia, através de espécies químicas oxidantes/redutoras que mudam o número de elétrons. Assim um polímero que seria fracamente condutor pode aumentar em até 10 ordens de grandeza sua capacidade de condução de elétrons. Este processo é reversível e o polímero original pode ser recuperado totalmente, ou com poucos danos na cadeia polimérica, quando o dopante é retirado. Usualmente os dopantes são do tipo contra-íon, que estabilizam o estado dopado da cadeia e podem ser fornecidos ao sistema por processos químicos ou eletroquímicos.

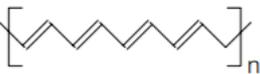
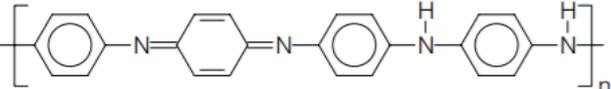
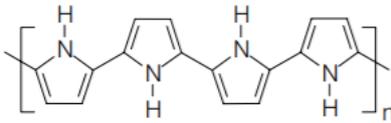
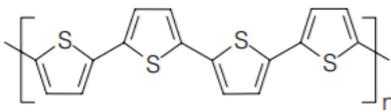
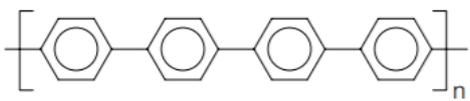
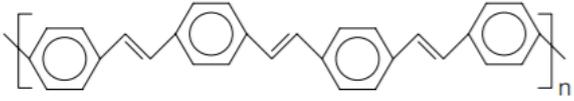
Polímero condutor	Condutividade / S cm ⁻¹
 Poliacetileno	10 ³ a 10 ⁶
 Polianilina	10 a 10 ³
 Polipirrol	600
 Politiófeno	200
 Poli(p-fenileno)	500
 Poli(p-fenileno vinileno)	1

Figura 3: Estrutura dos principais polímeros condutores. Adaptado de [30]

Polímeros condutores podem ser obtidos por sínteses química, eletroquímica e fotoquímica. Dentre estes processos, a síntese química é a mais empregada e vantajosa, pois são obtidos maiores volumes de polímeros e com custo mais baixo. Geralmente nesta reação os monômeros são reagidos com agentes oxidantes (ou redutores, dependendo do caso) que também agem como dopantes, em um meio líquido e em baixa temperatura. Alguns dos agentes oxidantes estudados para a polianilina (PANI) foram $K_2Cr_2O_7$, $KMnO_4$ ou H_2O_2 . Para o polipirrol usa-se Br_2 , I_2 , $CuCl_2$ [30]. Agentes oxidantes comuns a ambos são o $FeCl_3$ ou $(NH_4)_2 S_2O_8$. O politiofeno e seus derivados podem ser obtidos por polimerização com $FeCl_3$ ou $CuClO_4$. PANI e PPy apresentam excelente estabilidade térmica e podem ser empregados em misturas e compósitos com outros materiais como poliolefinas [31–33], cerâmicas [34,35] e outros polímeros de engenharia [36,37]. Nos últimos anos ocorreu um impulso nas utilizações e aplicações tecnológicas destes materiais, empregando-os na construção de baterias recarregáveis, sensores químicos e térmicos, biossensores e ainda em proteção contra corrosão e recobrimento de materiais.

3.1.2. Polipirrol

O PPy é um polímero condutor intrínseco que pode ser obtido por polimerização química (Figura 4) ou eletroquímica (Figura 5). Na polimerização química, o PPy é sintetizado em meio aquoso na presença de um agente oxidante, que também é dopante. Vários estudos demonstram que melhores rendimentos e condutividade elétrica do polímero final são alcançados quando a reação ocorre em baixas temperaturas (entre 0 e 4 °C).

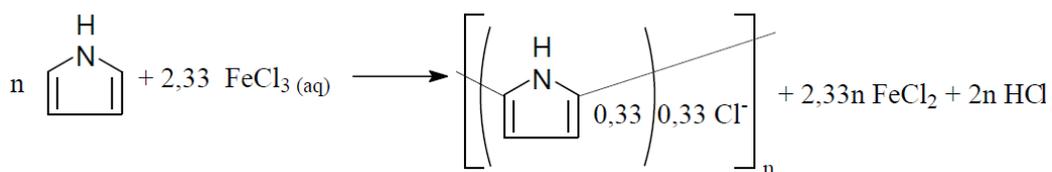


Figura 4: Síntese química do PPy. Adaptado de [38]

Já a síntese eletroquímica ocorre em uma célula galvânica com densidade de corrente entre 1 e 2 A/m. O polipirrol é depositado sobre um eletrodo, normalmente aço, carbono ou ouro, resultando em um filme fino, de 8 a 100 μm , dependendo do tempo de reação e da corrente empregada. Um contra eletrodo de cobre também é utilizado na célula. Os melhores resultados são obtidos em temperaturas muito baixas, entre -30 e -45 $^{\circ}\text{C}$. Este processo gera filmes com ótima condutividade, estabilidade dimensional e propriedades mecânicas. O processo de dopagem neste tipo de polimerização ocorre pelo contato do polímero com o eletrodo, que muda o estado de oxidação pela adição ou remoção de elétrons da cadeia. Não é necessária a adição de agentes dopantes. [29]

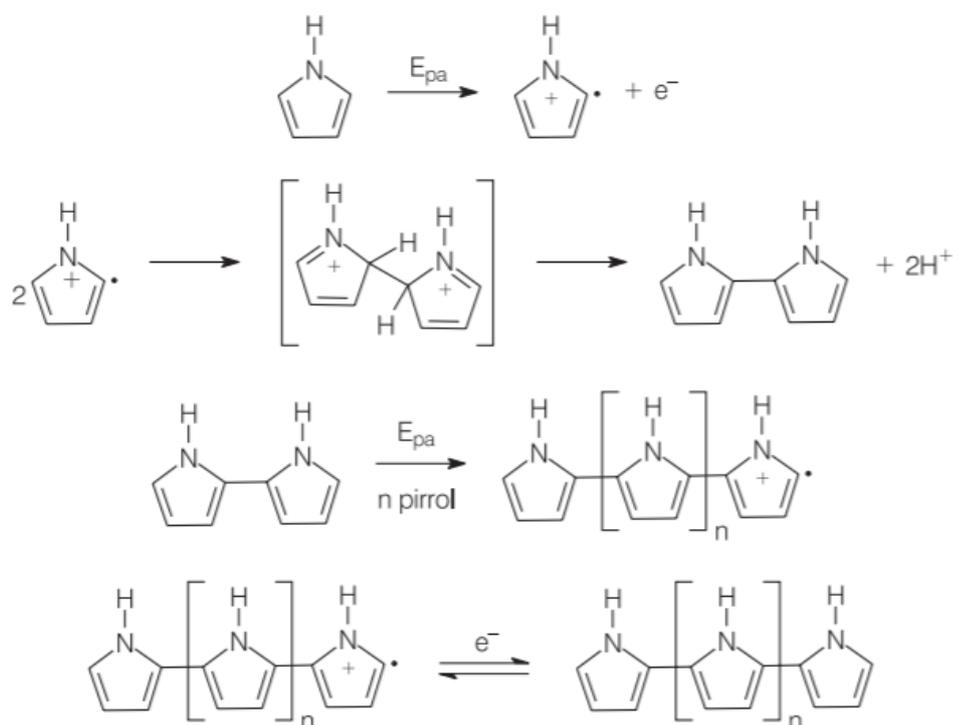


Figura 5: Mecanismo de reação de eletropolimerização do PPy. Adaptado de [30].

O PPy tem sido estudado em aplicações variadas, que vão desde tintas anticorrosivas até engenharia de tecidos. Armelin et al [39] desenvolveu com sucesso tintas de base epóxi e utilizou os polímeros condutores PPy e PANI como agentes de proteção contra a corrosão, para substratos metálicos em ambiente marinho simulado.

Maráková et al [40] estudou a fabricação de tecidos de algodão com atividade antimicrobiana. As fibras do tecido foram recobertas com PPy e Pani e depois com nanopartículas de prata. Os sistemas com PPy, com ou sem deposição de prata, exibiram excelente atividade antimicrobiana frente a bactérias causadoras de doenças no ser humano, exibindo assim uma nova aplicação do polímero condutor. Aplicações médicas também foram exploradas para o PPy, como no estudo de Geetha et al [41] que relata a utilização do polímero condutor como biosensor amperométrico em medições de glicose, e por Vaitkuvienė et al [42] que estudou substratos revestidos com PPy, concluindo que estes não são citotóxicos e exibem boa adesão e crescimento celular.

3.2. Biomateriais

Um biomaterial, segundo Park e Lakes [43] *“pode ser definido como qualquer material usado na fabricação de dispositivos para substituir uma parte ou função do corpo de forma segura, confiável, econômica e fisiologicamente aceitável”*. Além desta definição, amplia-se o escopo de atuação dos biomateriais em adesivos, endopróteses, linhas de sutura, malhas de suporte, entre outros. Biomateriais podem ser de origem natural ou sintética, e deve mimetizar ou compatibilizar com as características do tecido. Neste contexto, os materiais que apresentam uma boa interação com as células determinam o sucesso em aplicações médicas. Segundo o relatório *Biomaterials Market* [44], o mercado global de biomateriais teve faturamento de US\$ 70,9 bilhões em 2016 e projeta crescimento de 16% até 2021, chegando a faturar US\$ 149 bilhões. O desenvolvimento de um biomaterial passa por diversas etapas, desde a identificação da necessidade, projeto e modelagem, escolha do material, síntese e fabricação, caracterização físico-química e mecânica, ensaios de estabilidade e degradação, comportamento frente aos processos de esterilização, toxicologia, biointeração *in vitro* e *in vivo* e estabilidade. Em seguida, seguem os testes clínicos e aspectos regulatórios de venda ao mercado. Mesmo após a comercialização e uso em pacientes, os biomateriais continuam sendo avaliados para verificar possíveis aspectos não identificados durante as outras etapas de desenvolvimento e que possam provocar possíveis danos ou prejuízos à saúde.

Dentre a disponibilidade de biomateriais, os polímeros e seus compósitos se destacam como uma boa alternativa para o tratamento de tecidos moles, como músculos, cartilagens e nervos. Para ser classificado como um material adequado para uso em aplicações médicas, é necessário que este apresente uma resposta adequada ao organismo, sem provocar inflamação ou rejeição pelo corpo. Para isso, é necessário que o material seja inerte (não se degrade no organismo) ou que os produtos de degradação do polímero sejam absorvidos pelo corpo e removidos por processos metabólicos naturais (bioabsorvíveis) [45–47]. Os polímeros bioabsorvíveis podem ser classificados de acordo com o processo de degradação, por via hidrolítica ou enzimática. A maioria dos polímeros naturais são degradados via enzimática, e quando usados como biomateriais apresentam a vantagem de serem naturalmente bioativos, ou seja, são capazes de interagir com receptores celulares, via reconhecimento biológico. Porém a resposta da degradação enzimática dos polímeros depende do local onde é aplicado, pois existe variação das enzimas presentes nos diferentes tecidos. Neste ponto, os polímeros que degradam via hidrolítica apresentam vantagem, pois o produto e tempo de degradação são independentes do tipo de tecido no qual são aplicados

O estágio pré-clínico do desenvolvimento de um biomaterial para utilização em tratamentos médicos, seja em humanos ou em animais, passa primeiramente por um estudo que verifica a toxicidade destes materiais frente às células vivas *in vitro*. Nestes estudos, células saudáveis são colocadas em contato com o biomaterial, em um ambiente propício à manutenção, crescimento e reprodução dessas células. São avaliados os efeitos toxicológicos, a aderência das células no material e a qualidade das mesmas. Diversos tipos de células podem ser utilizados para estes ensaios *in vitro*, como células-tronco e cardiomiócitos, tanto linhagens celulares ou culturas primárias, dependendo do objetivo de utilização do biomaterial.

As células-tronco são células capazes de autorrenovação e diferenciação em muitas categorias de células (Figura 6). Elas também podem se dividir e se transformar em outros tipos de células. São divididas em células-tronco embrionárias e adultas, quando oriundas de fontes naturais, ou células-tronco induzidas, que são produzidas artificialmente em laboratório [48]. As células-tronco mesenquimais, ou células mesenquimais estromal (MSC), são células precursoras encontradas principalmente na

medula óssea. É uma população rara de células-tronco multipotentes e possuem um grande potencial terapêutico na medicina regenerativa. As MSC estão presentes em todos os tecidos, desde a medula óssea até os tecidos conjuntivos e os órgãos sólidos. Porém são mais utilizadas para fins terapêuticos as MSC extraídas da medula óssea. Outras fontes celulares podem se fornecer MSC com mais benefícios, pois possuem superior número ou melhor acessibilidade. Gonçalves [48, p. 11] cita em sua tese de doutorado: *“Os tecidos neonatais (sangue de cordão, cordão umbilical, placenta, âmnion e córion) têm sido uma alternativa para o isolamento de MSC. Esses tecidos geralmente são descartados como produto residual após o parto e podem ser obtidos em grande quantidade de maneira fácil e não invasiva. Outra vantagem importante dos tecidos neonatais é que eles fornecem células imaturas, que apresentam menor risco de mutações, e exibem atividade celular superior”*. As células-tronco fornecem aos pesquisadores ferramentas para modelar doenças, testar medicamentos e desenvolver terapias que produzam resultados efetivos.

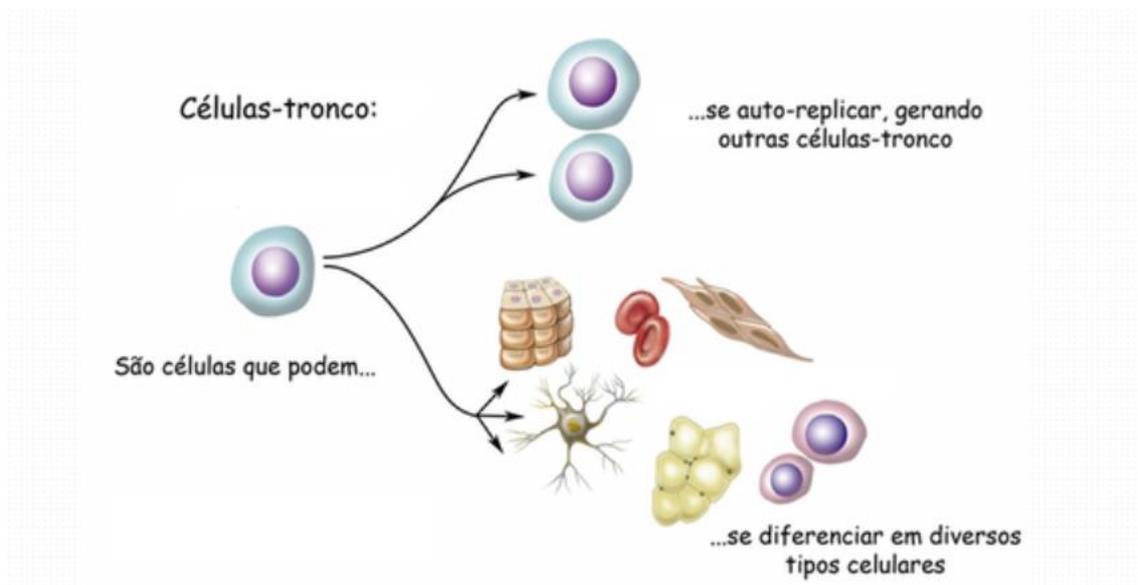


Figura 6: Células tronco. Adaptado de [48].

Os cardiomiócitos são células do músculo do coração (miocárdio) que, assim como os neurônios, não se regeneram. A morte dos cardiomiócitos como consequência de um infarto do miocárdio, por exemplo, produz uma fibrose no tecido, que dependendo de sua extensão pode levar a insuficiência cardíaca. Entre as novas linhas

de pesquisa que visam tratar a insuficiência cardíaca, utilizar o transplante de células no tratamento de tecidos cardíacos lesionados com o objetivo de recuperar o seu caráter funcional, é uma estratégia que vem sendo estudada nos últimos anos [50,51]. O miocárdio é um músculo cardíaco, como apontado na Figura 7, que forma a parede externa do coração. É composto por um tecido muscular especial, capaz de contrair e bombear o sangue pelo corpo, através de impulsos elétricos gerados nele mesmo e que percorre as fibras condutoras do músculo [52].

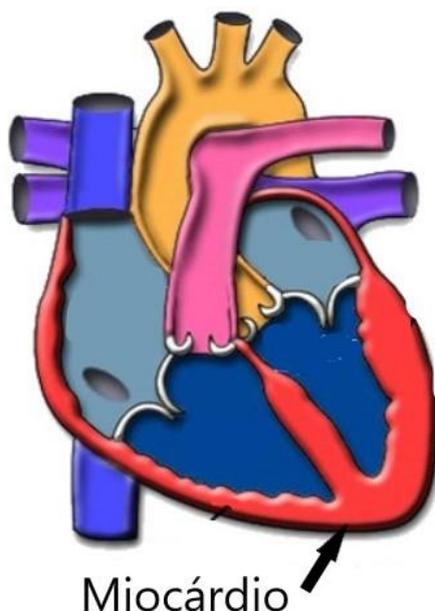


Figura 7: Corte transversal ilustrativo do coração humano. Adaptado de [53].

O cultivo de células é uma importante ferramenta de pesquisa nos laboratórios do mundo inteiro e apresenta diversas vantagens em relação aos testes *in vivo*, principalmente em questões econômicas e morais. As células utilizadas neste tipo de experimento podem ser de três tipos: células primárias, células estabelecidas (linhagens) e células transformadas. Nas culturas primárias são utilizadas células provenientes diretamente de tecidos vivos e possuem as características da origem. Elas podem crescer em meios de cultura durante poucas passagens, pois possuem um tempo de vida muito curto devido a morte programada para a renovação celular (apoptose). Dessa forma, culturas primárias são excelentes para estudos de comportamento de

células *in vitro* devido a presença de características genotípicas e fenotípicas, porém tem tempo de vida curto e necessitam de novo trabalho de extração a cada ciclo. A medida que as células vão crescendo e se replicando, as que sobrevivem nas culturas são as células mais resistentes. Embora não tenham perdido totalmente as características do tecido de origem, essas células possuem uma alta proliferação e são passíveis de um grande número de passagens. São células resistentes e muito úteis principalmente em ensaios de citotoxicidade, por exemplo. Quando há modificação das características genéticas das células, essas são chamadas de células transformadas, e essas deixam de ser semelhantes ao tecido original. Elas podem ser modificadas por fatores externos, como meio de cultura, vírus ou radiação, e estas são utilizadas quase que exclusivamente em pesquisas *in vitro*, devido ao alto grau de modificação genética que pode implicar em alterações de tecidos vivos. Traçando um comparativo entre os três tipos de células utilizados em pesquisas *in vitro*, é importante destacar que culturas primárias são as mais difíceis de se obter sucesso em ensaios de biocompatibilidade e citotoxicidade, devido à sensibilidade que essas células apresentam em meios não vivos. [54]

3.3. Poli(sebacato de glicerol) - PGS

Muito explorado na pesquisa de biomateriais, com interesse especial na recuperação de tecidos moles, o poli(sebacato de glicerol) - PGS - foi descrito pela primeira vez em 2002 [4]. É um elastômero que apresenta uma rede tridimensional reticulada covalentemente, não organizada, e com hidroxilas ligadas a cadeia principal. A associação da rede reticulada mais as interações de hidrogênio, proporcionada pelas hidroxilas, são fatores chave que contribuem para as propriedades únicas deste material [55]. Em temperatura ambiente apresenta-se como um elastômero semelhante ao látex, porém translúcido e de cor levemente amarelada. Ao toque com a pele é pegajoso.

Quase a totalidade de estudos sobre o PGS buscam a adequação deste material para aplicações na área médica. Aplicações em engenharia de tecidos são descritas principalmente associando PGS com outros materiais. A associação de PGS e nanotubos de carbono foi estudada por Liu *et. al.* [56] que mostrou melhora nas propriedades

mecânicas deste compósito, porém aumento da citotoxicidade do material quando é usado mais de 1 % de nanotubos de carbono em sua composição. Wu *et. al.* [57] modificaram a cadeia de PGS com enxertos de ureido-piremidinona (UPy) e descreveram como sendo um material promissor para aplicações biomédicas por se tratar de uma plataforma multifuncional para “*drug delivery*” e com características de memória de forma. Fibras de PGS com grande elasticidade e potencial aplicação em suturas foram descritas por Jeffries *et. al.* [58], que obteve as fibras por eletrofiação a partir de uma solução 55:45 de pré-PGS e poli(álcool vinílico) (PVA), que foi removido após a reticulação do PGS.

Cartilagens são tecidos com pouca capacidade de regeneração. Porém a reparação destes pode ser auxiliada com o uso de enxertos que promovam a adesão e proliferação celular. Kemppainen *et. al.* [59] estudou a influência da variação na composição relativa de monômeros com a variação das propriedades mecânicas do PGS. Baseada em seus resultados, desenvolveu enxertos porosos com propriedades mecânicas condizentes com cartilagens articulares e que suportam a produção de novos tecidos, demonstrando potencial uso do PGS “puro” para ajudar na reparação destes tecidos. Em associação com outros materiais, Souza *et. al.* [60] descreveu um compósito de PGS com Bioglass™, um tipo de fibra de vidro bioativa, que apresentou boas propriedades mecânicas, reduzida taxa de degradação *in vitro* e minimização da liberação dos ácidos provenientes da degradação do PGS, que podem causar a rejeição de implantes deste tipo. A associação destes resultados com a estrutura porosa com alta área superficial, demonstrou o potencial do PGS na recuperação de cartilagens.

Diversos estudos já foram feitos direcionando esforços para encontrar aplicação do PGS na área médica. Porém, dentre os poucos que saem deste campo, um trabalho que chama a atenção foi realizado por Yan *et al* [61] que explorou as características piezoelétricas de um compósito de PGS com nanotubos de carbono, a fim de aplicar em sensores que se utilizam de valores relativos de deformação e condutividade elétrica. Este estudo demonstrou que a adição de 3% (m/m) de nanotubos de carbono na matriz polimérica aumentou em nove vezes a máxima tensão de deformação suportada pelo material, enquanto alcançou valores de condutividade elétrica em torno de 0,01 S/cm. O comportamento piezoresistivo foi testado em ensaios de tração e de deformação em

três pontos, mostrando melhores resultados de geração de diferença de potencial quando tracionado e relaxado.

O PGS é obtido a partir da reação entre o glicerol e o ácido sebácico, conforme esquema da Figura 8. Ambos podem ser produzidos a partir do óleo de mamona e são biodegradáveis. O glicerol é a base de todos os lipídios, amplamente encontrado no corpo humano. É aprovado pela Anvisa para utilização em alimentos e em aplicações médicas [62]. Já o ácido sebácico é uma substância resultado da metabolização de ácidos graxos e também aprovado pela Anvisa como monômero de dispositivos poliméricos de utilização médica [63]. Em temperatura ambiente o glicerol é um líquido incolor viscoso e o ácido sebácico um sólido branco.

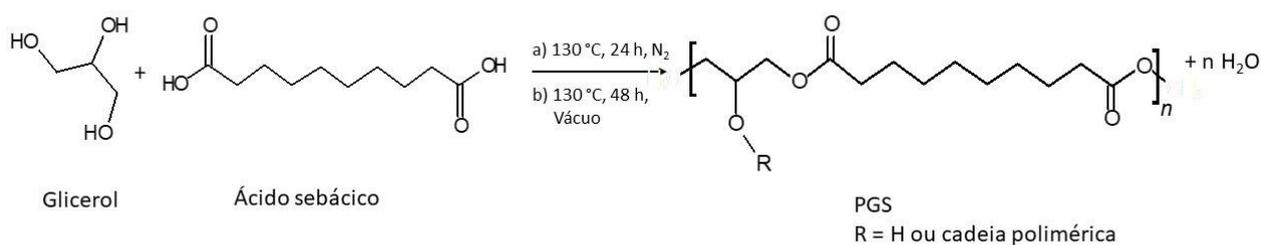


Figura 8: Esquema da reação para obtenção do PGS. Adaptado de [64].

A síntese básica do PGS utiliza proporção equimolar dos monômeros e duas etapas de reação. Na primeira etapa é formado um pré-polímero com baixa massa molar e aspecto de cera branca. A segunda etapa consiste em uma reação de cura, onde serão formadas ligações éster cruzadas entre as hidroxilas do álcool e as carboxilas do ácido na cadeia polimérica, para chegar, então, ao PGS. O polímero obtido ao final das duas reações é transparente, amarelado e tem características elastoméricas. Quando se utiliza quantidade equimolar dos reagentes há uma proporção de sítios ativos de 2:3, uma vez que o ácido sebácico apresenta dois sítios ácido carboxílico, e o glicerol três hidroxilas. Desta forma há um excesso de hidroxilas, o que torna o produto final altamente higroscópico e pegajoso em contato com a pele.

3.4. Materiais autorreparáveis

A propriedade de autorreparação dos materiais sintéticos é inspirada em sistemas biológicos como, por exemplo, nos ossos que estão em contínuo processo de reparação de microfissuras, ou na pele, que se recompõe após um corte. O objetivo do desenvolvimento desta classe de material é estender o tempo de vida útil de uma peça ou objeto pela restauração da perda da sua funcionalidade causada por um dano externo. A Figura 9 exemplifica o processo de extensão do tempo de vida pelo princípio de autorreparação. A busca pela melhoria de um material original passa inicialmente por um processo de engenharia, tornando esse material “mais forte” (da curva *a* para a curva *b*). No caso dos polímeros, pode ser feito por modificação da arquitetura do material (como adição de agente de reticulação, cadeias aromáticas ou aumento da cristalinidade), ou então a adição de agentes externos, como cargas ou reforços. Neste exemplo, o material apresenta melhora na sua capacidade de resistir ao dano, porém sem grandes ganhos em tempo de uso. Por outro lado, o princípio de autorreparação aumenta o tempo de vida do material pelo *gerenciamento do dano*. A curva (c) do esquema representa uma aproximação mais simples de um sistema de autorreparação, no qual as propriedades iniciais são, pouco a pouco, restauradas depois de danificadas, aumentando o tempo de uso. O caso extremo, mais próximo do ideal, é representado pela curva (d), onde o material é 100% restaurado a cada evento de dano. Sistemas poliméricos autorreparáveis já são uma realidade, porém os processos de extensão de tempo de utilização estão mais próximos da curva (c), visando alcançar patamares semelhantes ao da curva (d).

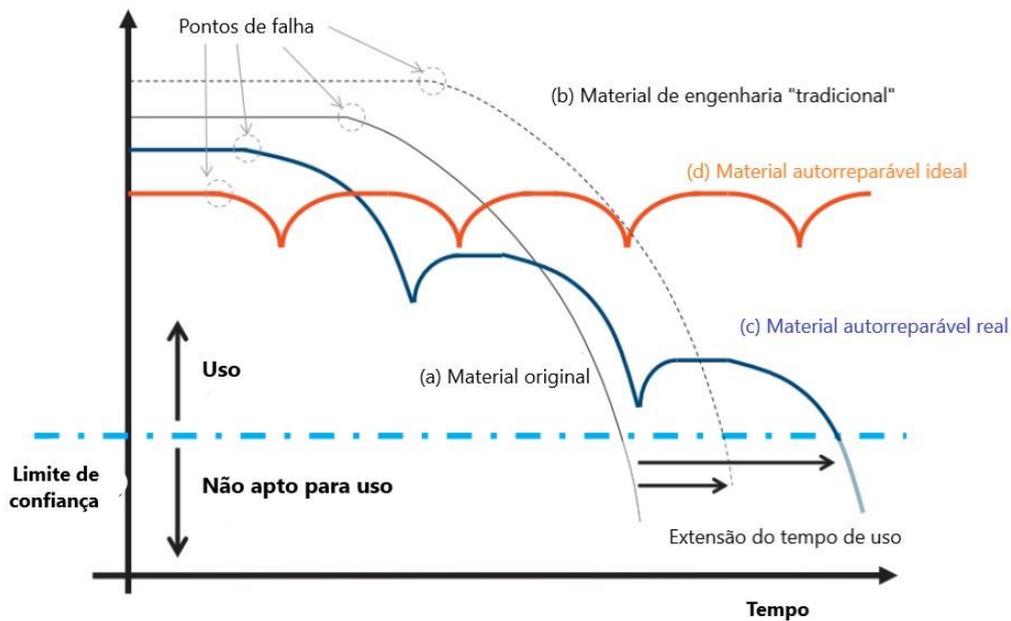


Figura 9: Extensão do tempo de vida de materiais de engenharia pela implementação do princípio de autorreparação. Adaptado de [65].

As falhas acontecem naturalmente nos materiais pela degradação, ao longo do tempo de uso, por fatores físicos, químicos ou biológicos, ou então pela combinação destes. Os materiais autorreparáveis podem ser classificados como autônomos e não-autônomos. O primeiro grupo não necessita de estímulo externo para regenerar-se de falhas e são capazes de identificar e reparar os danos imediatamente após ocorrerem. Já os não-autônomos precisam de estímulo externo para ativar o mecanismo de autorreparação, como calor ou irradiação UV. Outra classificação, que é independente da primeira, é o tipo de sistema utilizado para a reparação das falhas, que pode ser intrínseco ou extrínseco ao material.

- **Autorreparação intrínseca:** São capazes de regenerar falhas, trincas e rasgos pelo aumento da mobilidade das cadeias locais. É resultado unicamente das características moleculares do material, e a reparação se dá pela reversibilidade das ligações da matriz, que atuam como agentes de autorreparação. Essas ligações podem ser do tipo covalente, como ligações éster ou dissulfeto da cadeia polimérica, ou supramoleculares, como ligações de hidrogênio ou pares de ionômeros. Este tipo de reparação

também envolve processos de difusão das cadeias e recombinação de finais de cadeia, e é favorecido em temperaturas acima da temperatura de transição vítrea (T_g) em função da maior mobilidade molecular localizada.

- Autorreparação extrínseca: São adicionados à matriz polimérica micro recipientes que contém agentes de reparação. Esses recipientes podem ser microcápsulas, microrrede de vasos ou nanopartículas. Já os agentes de reparação podem ser conjuntos de monômeros e agentes de curas (cápsulas separadas ou cápsulas multicamadas), ou apenas um dos dois, dependendo do sistema empregado.

Cada abordagem difere pelo mecanismo usado para introduzir a funcionalidade de autorreparação e como mantê-la inativa até que seja acionada pelo evento de dano. O tipo de abordagem escolhida para a autorreparação dita o volume de dano que pode ser reparado, o número de ciclos e o grau de recuperação do desempenho original. Além disso, a T_g do polímero e sua densidade de entrelaçamentos são fatores limitantes para a seleção de uma estratégia de autorregeneração. Os sistemas intrínsecos são restritos aos materiais termoplásticos e para os termofixos reticulados com baixa T_g [8].

4. Materiais e métodos

O fluxograma da Figura 10 descreve o trabalho experimental.

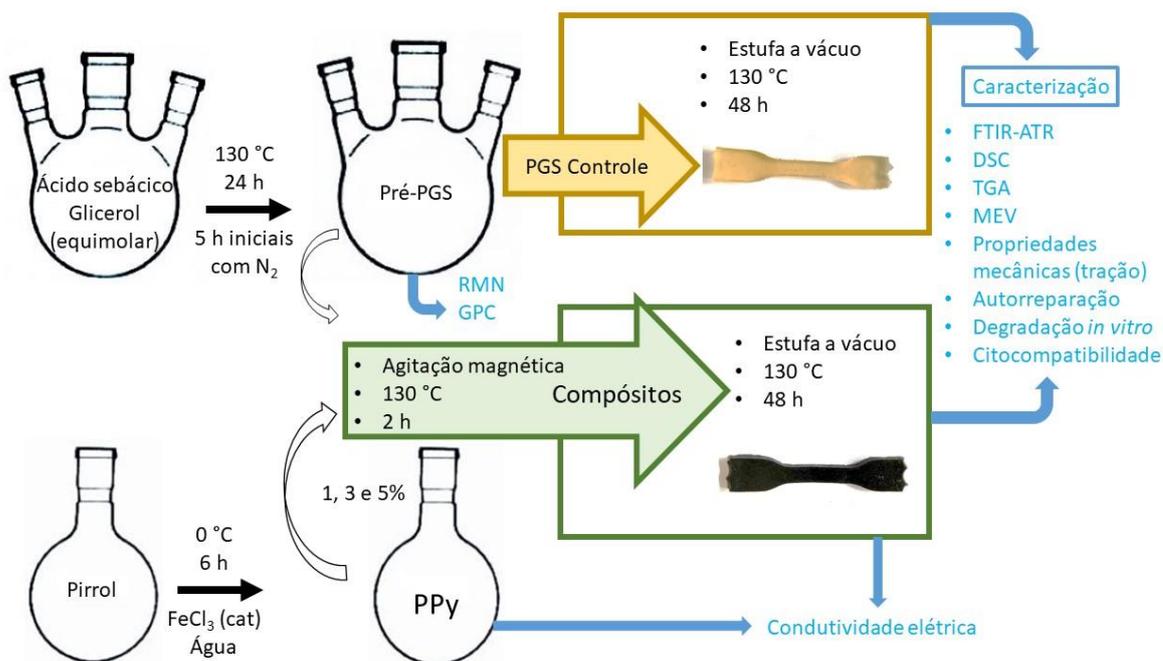


Figura 10: Fluxograma do trabalho experimental.

As sínteses e as análises foram realizadas no Laboratório de Materiais Poliméricos (LAPOL), exceto GPC e RMN, que foram realizadas no Instituto de Química, e as imagens de MEV do ensaio de citocompatibilidade, feitas no Centro de Microscopia e Microanálise, todos na UFRGS. Os ensaios de citocompatibilidade foram realizados no Centro de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

4.1. Materiais

Para a síntese do PGS foram utilizados os monômeros ácido sebácico (Sigma-Aldrich, 99%) e glicerol (Neon, 99,7%), conforme recebidos. Para a síntese do PPy foi utilizado o monômero pirrol (Sigma-Aldrich, 98%) que foi previamente destilado e acondicionado sob refrigeração e atmosfera inerte até o uso. Como agente oxidante, foi utilizado o cloreto férrico (Sigma-Aldrich, 99,9%), sem purificação.

Para o ensaio de degradação *in vitro* foi utilizada uma solução tampão fosfato salino (PBS) na concentração 1M, utilizando os seguintes sais: cloreto de sódio (Vetec, reagente ACS), cloreto de potássio (Neon, anidro), fosfato de sódio monobásico (Neon, anidro) e fosfato de sódio dibásico (Neon, anidro).

Para o ensaio de citocompatibilidade foram utilizados os seguintes reagentes: Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Gibco), colagenase tipo I (Gibco), soro fetal bovino (SFB; Gibco), penicilina (Gibco), estreptomicina (Gibco), solução *Trypsin*-EDTA (Gibco), Linhagem H9C2 de cardiomiócitos embrionários de ratos (ATCC CRL-1446) e 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil brometo tetrazolium (MTT; Sigma-Aldrich, 98%). Para a fixação das células para a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram utilizados dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich), glutaraldeído 50% (Merck) e acetona anidra (Neon).

4.2. Síntese do PGS

4.2.1. Síntese do pré-PGS

A síntese foi adaptada a partir dos resultados publicados por Wang *et al* [4] . Ácido sebácico e glicerol foram adicionados em um balão de 3 bocas em quantidade equimolar. Foram agitados magneticamente por 24 h em um banho de óleo de silicone a 130 °C. Durante as primeiras 5 h de reação foi utilizado um fluxo suave de nitrogênio. Após encerrar o fluxo do nitrogênio, o sistema foi mantido fechado. Nas últimas 5 h de reação foi realizado vácuo com o auxílio de uma bomba à vácuo. O material obtido após esta primeira etapa foi denominado Pré-PGS.

4.2.2. Reação de cura

Para a confecção dos filmes curados de PGS controle, o pré-PGS foi vertido em formas de silicone de 6 x 6 x 0,3 cm e curado em estufa a vácuo por mais 48 h, a

temperatura de 130 °C e pressão reduzida de 0,06 MPa. Os filmes obtidos são transparentes, de cor amarela clara.

4.3. Síntese do PPy

A síntese do PPy foi realizada baseada nas melhores condições de reação descritas no trabalho de doutorado de Hocevar [38] e que foi gentilmente cedida. Em um reator encamisado, conectado a um sistema de refrigeração, foi adicionado 100 mL de água destilada e mantido sob agitação mecânica de 300 rpm até equilíbrio da temperatura a 0 °C. Ao sistema foi vertido 0,06 mol de pirrol previamente destilado. Vagarosamente, pois a reação é bastante exotérmica, foi adicionado 0,11 mol de cloreto férrico. O sistema foi mantido sob agitação durante 6 h. Ao final do período, o PPy obtido na forma de pó negro foi filtrado em um funil de cerâmica porosa e lavado com água destilada até que água de lavagem apresentasse pH superior a 5. O material obtido foi seco em estufa a 60 °C por 24 h e após estocado em dessecador. Para a confecção dos compósitos o PPy foi macerado com o auxílio de graal e pistilo até formar um pó fino.

4.4. Obtenção dos compósitos PGS-PPy

A literatura reporta diversas vezes o uso de solventes orgânicos, como tetrahidrofurano (THF) e clorofórmio, para dissolver o pré-PGS e facilitar a confecção de filmes finos curados. Não se obteve sucesso na tentativa de utilizar este método de fabricação de filmes pois não houve formação de um filme homogêneo, e sim um material com aspecto “craquelado” e descontínuo. Diferentes condições de secagem antes da cura foram testadas, mas nenhuma se mostrou eficaz. Optou-se, então, por macerar os grãos de PPy, até obter-se um pó fino. O pré-PGS foi preparado de maneira semelhante ao método utilizado para o PGS controle, porém não foi aplicado vácuo nas últimas horas de reação. Ao final do período, foi obtido um líquido viscoso.

Em um balão de fundo redondo o pó macerado de PPy foi adicionado ao pré-PGS. O sistema foi mantido em um banho de óleo de silicone a 130 °C e agitado durante 2 h. A mistura dos polímeros foi vertida em formas de silicone de 6 x 6 cm. A reação de cura

foi realizada em estufa a vácuo por 48 h, 130 °C e 0,06 MPa de pressão reduzida. Foram confeccionados filmes com 1, 3 e 5% de PPy (m/m) e estes foram nomeados, respectivamente, PGS/PPy 1%, PGS/PPy 3% e PGS/PPy 5%.

Foram feitas diversas sínteses até chegar aos parâmetros descritos neste trabalho. Uma vez fixados os parâmetros, com base na melhor relação entre tempo e temperatura de síntese e de cura, todas as análises foram realizadas com amostras produzidas em uma mesma batelada. Somente para os experimentos de autorreparação e citocompatibilidade foram produzidas amostras extras, seguindo os mesmos parâmetros definidos.

4.5. Caracterização

4.5.1. Ressonância magnética nuclear H^+ (RMN)

A análise de RMN H^+ foi realizada em espectrômetro Varian 400 MHz. A amostra foi preparada com 500 mg de pré-PGS dissolvida em 5 mL de clorofórmio deuterado ($CDCl_3$), com marcador interno TMS.

4.5.2. Cromatografia de permeação em gel (GPC)

Para a análise de GPC foi utilizada uma solução de 1 % do pré-PGS em THF. A taxa de eluição da fase móvel (THF) foi ajustada em 1 mL/min, e 1 μ L da solução foi injetada no cromatógrafo Viscotek modelo VE2001, acoplado ao detector Viscotek TDA 302.

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

As análises de FTIR foram realizadas em um espectrômetro FTIR Perkin Elmer modelo Frontier, utilizando acessório de refletância total atenuada (ATR). As condições utilizadas foram de % em transmitância com acúmulo de 64 varreduras, resolução de 4 cm^{-1} e na faixa de absorção de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.5.4. Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

As análises de DSC foi realizada utilizando o calorímetro Q20 da TA Instruments. Amostras com aproximadamente 6 mg foram colocadas em placas de alumínio e fechadas hermeticamente. Um fluxo de 50 mL/min foi utilizado para prevenir a oxidação. A taxa de aquecimento e de resfriamento foi de 10 °C/min. As amostras foram aquecidas até 100 °C, mantidas em isoterma por 5 minutos, resfriadas até -50 °C e aquecidas novamente até 100 °C.

4.5.5. Termogravimetria (TGA)

Foi utilizado o aparelho TA Instruments TGA-50 para a determinação da estabilidade térmica das amostras através do ensaio de termogravimetria. Uma placa de platina com 15 mg de amostra foi aquecida até 900 °C, com taxa de 20 °C/min, sob fluxo de nitrogênio de 90 mL/min.

4.5.6. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica dos filmes foi medida em temperatura ambiente utilizando um condutímetro quatro pontas (Cascade Microtech model CS 4-64) associado a uma fonte estabilizadora Keithley modelo 2040, assegurando a corrente constante. Os corpos de prova foram cortados em quadrados com 1 cm² de área. Usando os valores de corrente, voltagem e espessura, a resistividade foi calculada segundo a equação: [66]

$$\rho = (V/I) t \quad (1)$$

onde ρ = resistividade elétrica, V = voltagem, I = corrente e t = espessura (cm). A condutividade elétrica (σ) foi então calculada usando a seguinte fórmula:

$$\sigma = 1/\rho \quad (2)$$

4.5.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram criogenicamente fraturadas após serem mergulhadas por 30 segundos em nitrogênio líquido. As superfícies fraturadas foram recobertas com ouro, no equipamento Sputter Coater SCD 050, durante 100 segundos, sob vácuo e corrente de deposição de 40 mA. As imagens foram adquiridas no microscópio Phenom World, modelo Pro X, com feixe de 5 kV, tempo de exposição de 6 segundos e resolução de imagens de 1024 pixels.

4.5.8. Ensaio de tração

O ensaio de tração foi realizado em uma máquina universal de ensaios Instron modelo Emic 23-5D, equipado com uma célula de carga de 50 N, em temperatura ambiente e taxa de 50 mm/min, seguindo a norma ISO 37 [67]. Os corpos de prova (n = 4) foram cortadas no formato de osso (*dog bone shape*, do inglês), com as medidas 35 x 2 x t, respectivamente comprimento total, largura do pescoço e espessura, sendo o último mensurado individualmente. O corpo de prova é o número 4, conforme descrito na norma acima citada. O módulo de Young de cada corpo de prova foi calculado pela regressão linear da curva tensão x deformação quando a deformação chegou a 5% [68]. A tensão máxima de alongamento (UTS) e o alongamento máximo foram medidos na máxima tensão atingida pelo corpo de prova (escoamento). O software Blue Hill 3 foi utilizado para o tratamento dos dados.

4.5.9. Ensaios de autorreparação

Não existem métodos padrão para avaliar a capacidade de autorreparação dos materiais. Decidiu-se então avaliar esta propriedade em dois aspectos. Quantitativamente, comparando o ensaio de tração de corpos de prova danificados (cortados ao meio) e autorreparados, com corpos de prova não danificados, utilizando os dados de UTS e alongamento na ruptura. E qualitativamente, fazendo fotografia de corpos de prova autorreparados após danificados.

Para os testes quantitativos, corpos de prova na forma de osso foram testados exatamente nas mesmas condições do ensaio de tração descrito no item 4.5.8, após serem cortados ao meio e reconectados, após 30 segundos. Foram acondicionados em quatro temperaturas, a 25, 37, 60 e a 130 °C, por 2 e 24 h. O teste foi realizado com 3 corpos de prova para cada combinação de temperatura e tempo de autorreparação.

Para a avaliação qualitativa, corpos de prova na forma de barras de 8 x 30 x 5 mm (respectivamente largura, comprimento e espessura) foram cortados e reconectados após 30 segundos, e acondicionados a 25 e 130 °C, por 2 e 24h. Após, foram fotografados enquanto eram tracionados pelas pontas, horizontalmente. Porém, para melhor visualizar a interface que foi reparada, alguns corpos de prova de PGS foram coloridos com 1 gota de corante alimentício verde antes da reação de cura.

4.5.10. Degradação *in vitro*

Três corpos de prova de cada amostra, com área = 1 cm², foram mergulhadas em 50 mL de solução tampão fosfato salino (PBS) e agitadas suavemente a 37 °C. Os corpos de prova foram pesados após secagem em estufa a 60 °C, até apresentarem massa constante. As pesagens foram realizadas nos dias 1, 7, 15 e 20. O pH das soluções onde foram imersos os corpos de prova foi medido no primeiro e no último dia de pesagem, em temperatura ambiente.

4.5.11. Citocompatibilidade

Cultura das células

Células estromal mesenquimais (MSC) foram obtidas de placenta humana a termo, fornecidas por doadoras saudáveis para o Banco de Sangue de Cordão Umbilical do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brasil. A membrana coriônica foi separada assepticamente dos outros tecidos e digerida enzimaticamente por 2 h a 37 °C em meio *Dulbecco's modified Eagle's* (DMEM), com 1 mg/mL de colagenase tipo I. Após as suspensões celulares foram centrifugadas e ressuspensas em meio DMEM contendo

10% de soro fetal bovino (SFB), 100 unidades/mL de penicilina e 100 mg/mL de estreptomicina. As células foram transferidas para placas de cultura de 6 poços e incubadas a 37 °C, em atmosfera úmida contendo 5 % de CO₂. As células aderentes que apresentassem 80 % de confluência eram removidas das placas de cultura usando solução *Trypsin-EDTA* 0,25 % a 37 °C. As MSC foram usadas entre a 3^a e a 6^a passagem, sendo considerada uma cultura primária.

Linhagem H9C2 de cardiomiócitos embrionários de ratos foram cultivadas em solução DMEM, complementada com 10 % de SFB, a 37 °C e 5 % de CO₂. A passagem das culturas foi realizada depois de alcançada 70-80 % de confluência. As células foram lavadas com PBS, e então removidas em solução *Trypsin-EDTA* 0,25 %.

Citocompatibilidade *in vitro*

A biocompatibilidade dos filmes de PGS controle e PGS/PPy 3% foi avaliada *in vitro* através da exposição de MSC e cardiomiócitos ao meio no qual as amostras foram condicionadas (extratos). Neste método, os extratos foram obtidos pela imersão das amostras (200 mm³) em 2 mL meio de cultura por 24 h a 37 °C, em atmosfera úmida contendo 5 % de CO₂. MSC e cardiomiócitos foram semeadas em placas de cultura de 96 poços com densidade de 1.5 X 10⁴ células/200 µl em meio padrão. Depois de 24 h, o meio de cada poço foi totalmente substituído com 200 µl do extrato preparado com as amostras PGS controle e PGS/PPy 3%. O extrato das culturas sem a presença do material foi utilizado como controle.

O efeito citotóxico foi avaliado pelo ensaio com 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difenil brometo tetrazolium (MTT). Este ensaio é baseado na habilidade de células vivas reduzirem o MTT em cristais de formazan {E,Z- 1-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan}, pela clivagem do anel tetrazólio, através enzima mitocondrial desidrogenase, conforme a Figura 11.

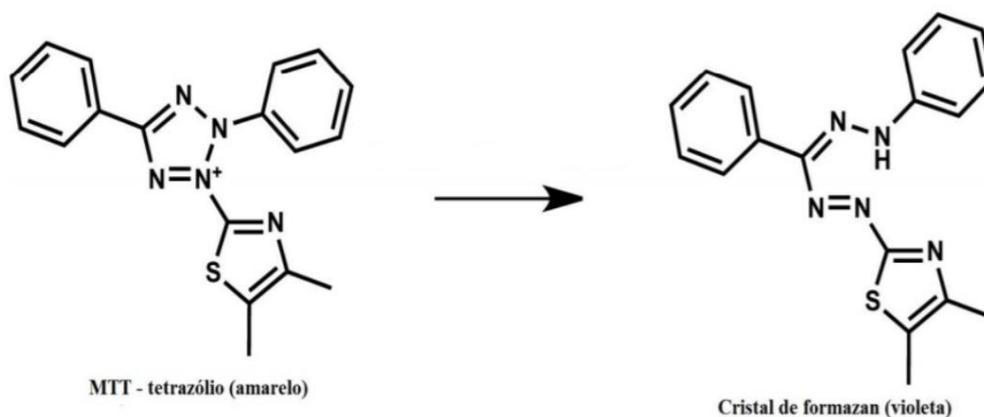


Figura 11: Reação do MTT (amarelo) com a enzima mitocondrial desidrogenase, levando a formação do cristal de formazan (violeta). Adaptado de [69].

Depois de 24 h de incubação, as células foram novamente incubadas com solução DMEM, complementada com 10 % de SFB e 5 mg/mL de MTT, durante 4 h. O sobrenadante foi removido e 100 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado em cada poço. A absorbância foi lida em um leitor de microplacas (Anthos, modelo Zenith 200rt), no comprimento de onda de 570 nm, subtraindo o background em 690 nm. A quantidade de cristais de formazan produzida é diretamente proporcional ao número de células vivas na cultura. Os dados apresentados foram obtidos pela média de, pelo menos, três ensaios independentes.

4.5.12. Fixação das células e avaliação por MEV

As amostras de PGS Controle e PGS/PPy 3% foram colocadas em placas de 24 poços e completamente submersas em meio padrão por 24 h. Após o meio de incubação foi removido e as células MSC e cardiomiócitos foram semeadas com densidade de 5×10^4 células/mL de meio padrão sobre os materiais. Após 5 dias, as amostras foram fixadas em glutaraldeído solução (em PBS) 2,5 % por 7 dias. Então, as amostras foram desidratadas em uma série de lavagens com acetona, submetidas a secagem em ponto crítico e posterior metalização com ouro, no equipamento Sputter Coater SCD 050, durante 100 segundos, sob vácuo e corrente de deposição de 40 mA. A avaliação das células aderidas foi realizada por MEV.

5. Resultados e discussão

5.1. Síntese do pré-PGS

Os monômeros ácido sebácico e glicerol foram misturados em quantidade equimolar durante 24 h e a 130 °C, a fim produzir o pré-PGS. Após curado, o PGS apresenta uma rede tridimensional reticulada, que é incapaz de ser dissolvida nos solventes orgânicos comumente utilizados para a realização de análises de caracterização química. Dessa forma, optou-se por realizar estes ensaios no pré-PGS que, embora não esteja no estado final de polimerização, já se encontra em um estágio que pode nos fornecer informações relevantes sobre a síntese. O pré-PGS foi avaliado quanto a sua massa molar por cromatografia gasosa (GPC), e através de ressonância magnética nuclear (RMN) foram avaliados a presença de picos característicos e a proporção de monômeros na molécula. Cálculos baseados na massa inicial e final, do pré-PGS obtido, mostraram rendimentos acima de 80%.

Pelo ensaio de GPC foi possível verificar que a massa molar ponderal média (M_w) do pré-PGS é 15.900, e massa molar numérica média (M_n) é 2.603, apresentando índice de polidispersão (PDI) de 6,1. A Figura 12 mostra a curva obtida por GPC e que relaciona a fração mássica e a massa molecular do pré-PGS. Estes valores estão de acordo com os dados apresentados em outros estudos, como o de Kim et al [70], que utilizou síntese semelhante para produzir pré-PGS e recobrir *stents* cardíacos, antes de proceder a reação de cura do PGS no sistema final.

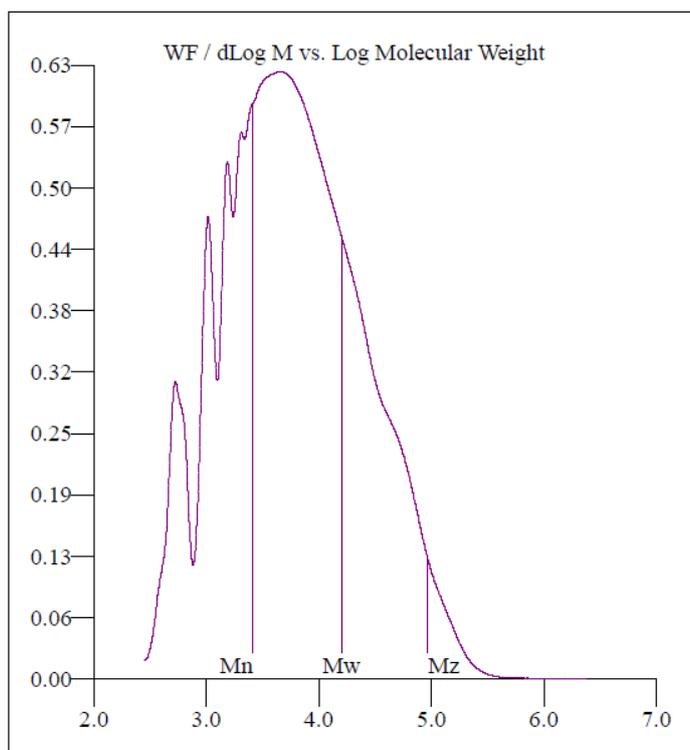


Figura 12: Diagrama de distribuição molar do pré-PGS, obtida pelo ensaio de GPC.

No espectro de ^1H RMN do pré-PGS, mostrado na Figura 13, os picos em 1.31, 1.63 e 2.35 ppm são associados aos prótons metilênicos do ácido sebáico. Já os picos entre 4.06 – 4.34 ppm e 5.09 – 5.27 ppm estão relacionados aos prótons provenientes da molécula de glicerol. Os mesmos sinais são citados no estudo de Wu *et al* [71], que sintetizou copolímeros de PGS para fabricação de hidrogéis. Junto do espectro da Figura 13 é esquematizado uma associação de picos e seus respectivos prótons dentro da molécula do polímero, através de letras vermelhas para os prótons provenientes do ácido sebáico, e amarelas para o glicerol.

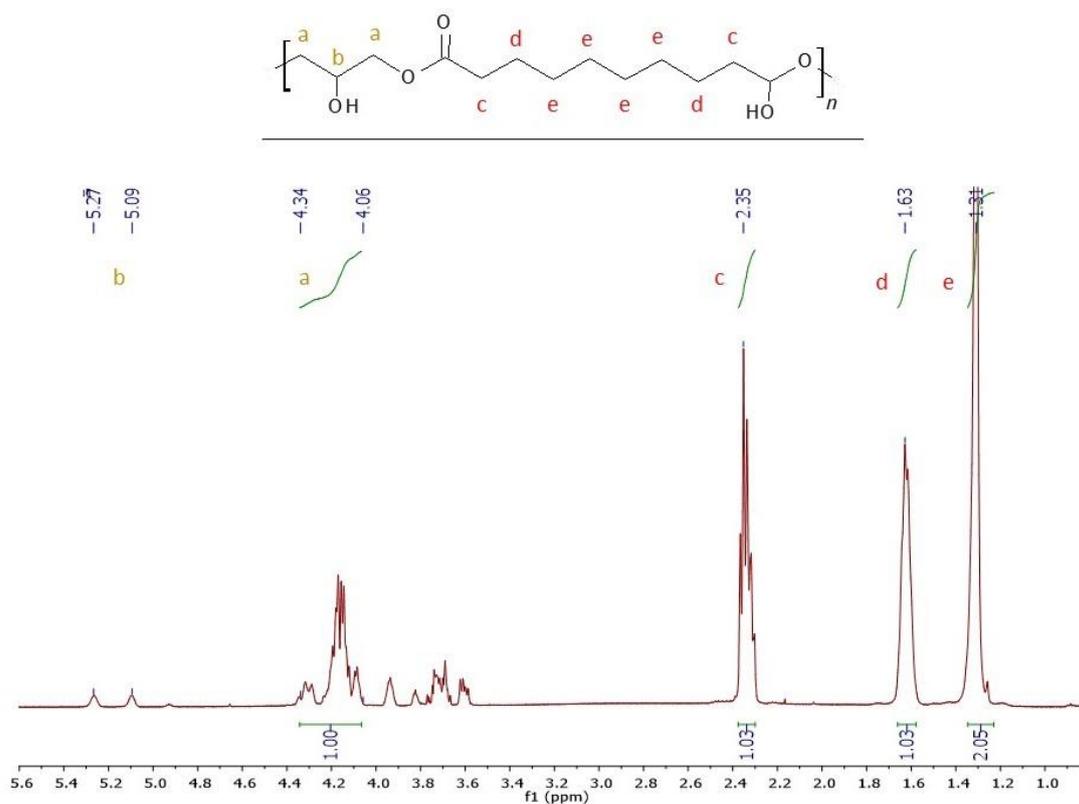


Figura 13: Espectro de ^1H RMN do pré-PGS.

Através deste espectro também é possível calcular a proporção dos monômeros presentes no pré-PGS. Fazendo uma relação entre as integrais dos picos relativos aos prótons de cada monômero (H_x), e observando sua abundância relativa dentro da molécula base do polímero, como mostrada na Figura 11, calcula-se esta proporção. Observa-se que é coerente a abundância dos prótons metilênicos referentes ao ácido sebácico, pois a relação $H_c : H_d : H_e$ respeita a proporção 1 : 1 : 2 teórica esperada. Já a proporção entre monômeros pode ser calculada pela razão H_b/H_c ou H_b/H_d , pois em ambos os casos são respeitadas as proporções teóricas de cada próton. Através dessa relação verificou-se que a proporção relativa de monômeros glicerol e ácido sebácico no pré-polímero é de 0,97/1 respectivamente, indicando uma diminuição de glicerol no produto final, uma vez que foram adicionados em proporção equimolar na síntese. Esta diminuição foi verificada também por Li *et al* [72], e foi atribuída a perda por evaporação

de moléculas de glicerol não reagidas e arrastadas juntamente com o fluxo de nitrogênio, nas primeiras horas de reação.

Um aspecto importante observado ao longo deste trabalho foi a temperatura da reação de obtenção de pré-PGS. Alguns autores [4,73,74] utilizam temperaturas inferiores de reação (abaixo de 130 °C), porém o ponto de fusão do ácido sebácico é 133 °C, segundo a especificação do fabricante. A temperatura do banho mais o calor gerado da reação de esterificação elevam a temperatura do meio reacional acima da temperatura de fusão do ácido sebácico, levando o monômero ao estado líquido, o que torna a reação muito mais eficiente desde seu início.

5.2. Fabricação dos filmes de PGS e compósitos PGS/PPy

O pré-PGS e as misturas de pré-PGS com PPy foram curados sob pressão reduzida de 0,06 bar, por 48 h e a 130 °C. Obteve-se um filme espesso (3 mm) amarelo claro transparente para o PGS controle, e filmes pretos semelhantes ao controle para os compósitos PGS/PPy, que foram analisados por FTIR-ATR a fim de confirmar a composição química. A Figura 14 apresenta os espectros de ATR-FTIR obtidos para os filmes de PGS controle e PGS/PPy 5%, pois esta foi a amostra que melhor apresentou os picos referentes ao PPy. A pouca quantidade de PPy na amostra, e a interação deste com a matriz de PGS, dificulta a visualização dos picos do polímero condutor nos compósitos com menor quantidade de PPy.

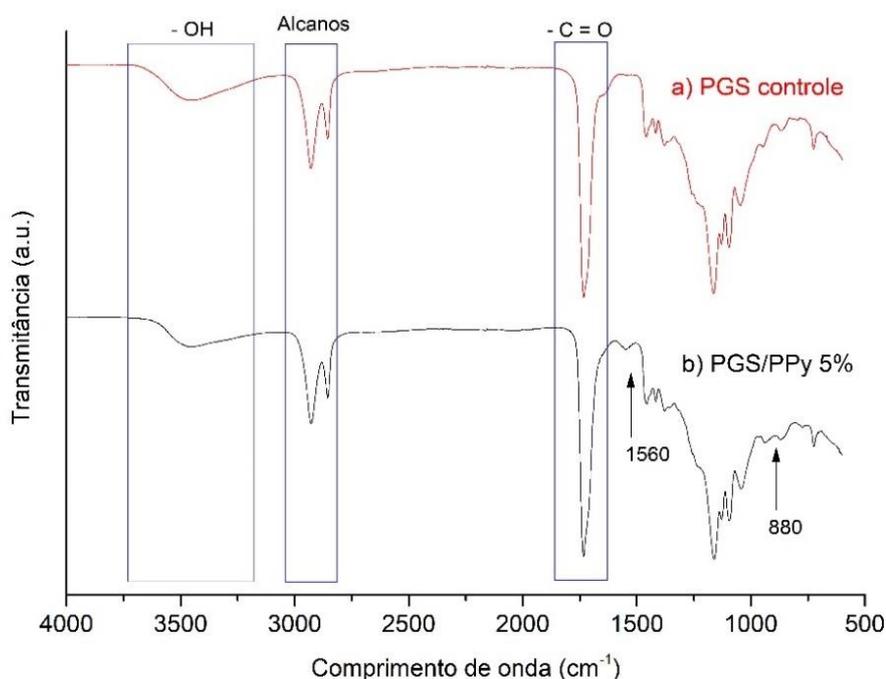


Figura 14: Espectros de FTIR-ATR dos filmes de (a) PGS controle e (b) do compósito PGS/PPy 5%.

Foi obtido um espectro característico do PGS, que mostra a formação da ligação éster. Os picos principais são localizados em 3400 cm^{-1} , correspondente a vibração da hidroxila; dois picos em 2926 e 2853 cm^{-1} devido aos grupos metilênicos, e em 1734 cm^{-1} associado à vibração da carbonila do grupo éster. [75]

O compósito PGS/PPy 5%, além dos picos referentes aos PGS, também apresenta os picos associados ao polímero condutor PPy, em 1560 cm^{-1} devido ao estiramento do anel quinoide, e em 880 cm^{-1} devidos às vibrações de estiramento correspondentes ao polipirrol dopado e oxidado. Quando comparados os dois espectros somente na região de absorção dos grupos hidroxila e amina (entre 3000 e 4000 cm^{-1}), na Figura 15, é possível verificar que há uma pequena diminuição do pico associado ao grupo hidroxila no espectro do compósito, em 3400 cm^{-1} , indicando que há uma possível interação entre os polímeros pela formação de ligações de hidrogênio intermoleculares [38]. Estas

ligações de hidrogênio acontecem entre as hidroxilas ligadas a cadeia principal do PGS com os grupamentos amina (secundárias) do PPy, como mostra o esquema na Figura 16.

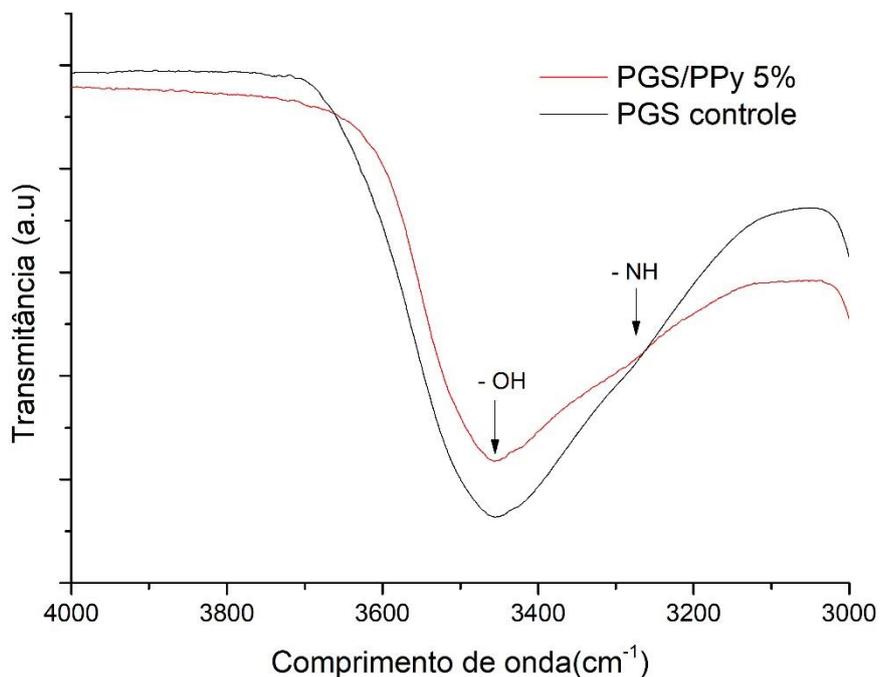


Figura 15: Detalhe do espectro de FTIR-ATR do PGS controle e PGS/PPy 5%, evidenciando a formação de ligações de hidrogênio no compósito

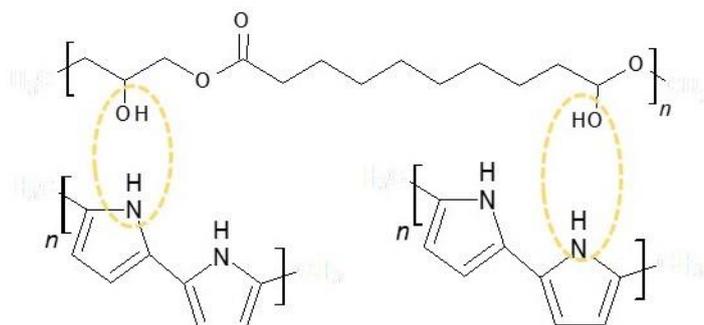


Figura 16: Esquema ilustrativo da formação das ligações de hidrogênio intermoleculares.

5.3. Propriedades térmicas

Os filmes foram analisados por TGA e DSC a fim de verificar as principais propriedades térmicas dos materiais. A Figura 17 apresenta o termograma obtido por TGA. É possível verificar que o PGS controle, bem como os compósitos com PPy, são estáveis até 400 °C, quando começa uma acentuada perda de massa. A adição de PPy desacelera a perda de massa, porém não é significativa no perfil de degradação geral dos compósitos.

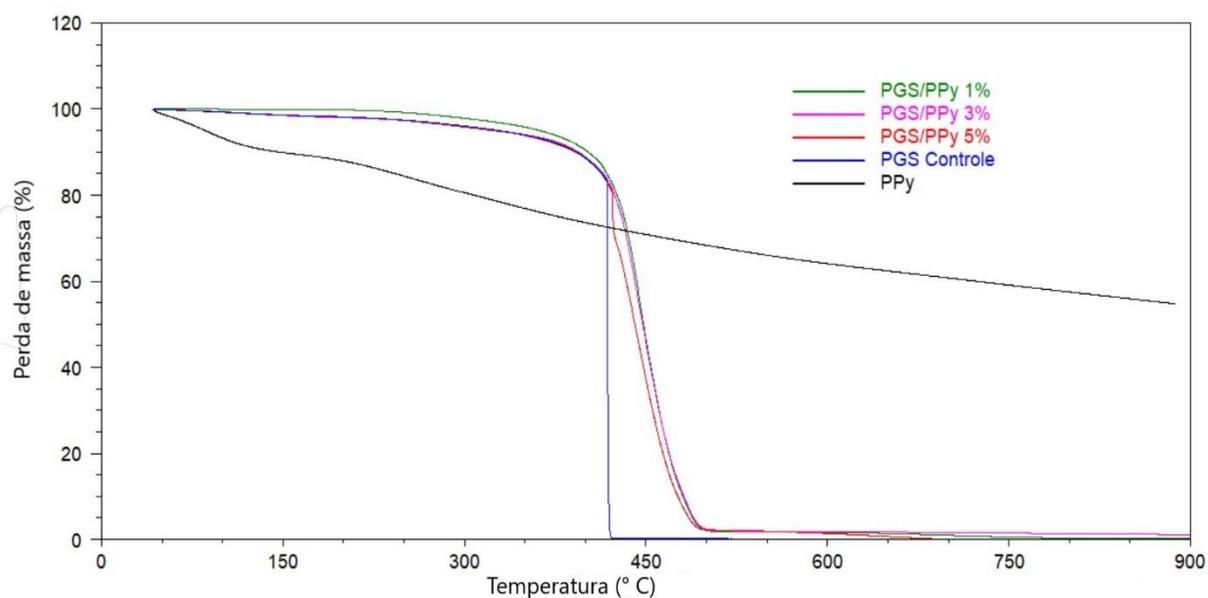


Figura 17: Termograma de TGA obtido para PGS controle, compósitos PGS/PPy e PPy puro.

Na Figura 18 é apresentado o termograma de DSC das amostras dos filmes produzidos, com as curvas de segundo aquecimento e resfriamento. A Tabela 1 mostra os valores de temperatura de fusão (T_m), temperatura de cristalização (T_c), entalpia de fusão (ΔH_f) e temperatura de transição vítrea (T_g).

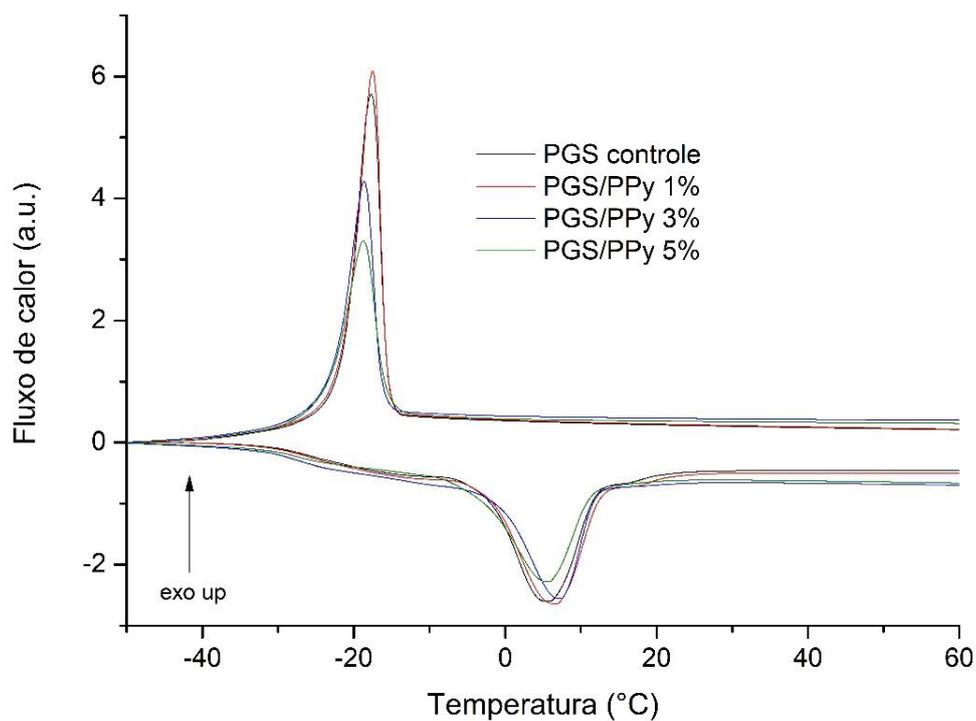


Figura 18: Termograma de DSC dos filmes de PGS controle e compósitos PGS/PPy

Tabela 1: Principais temperaturas características das amostras de PGS controle e compósitos PGS/PPy, verificados por DSC.

Amostra	T _m (°C)	T _c (°C)	ΔH _f (J/g)	T _g (°C)
PGS controle	1,83	-17,7	28,6	-26,1
PGS/PPy 1%	2,61	-17,9	27,1	-26,2
PGS/PPy 3%	3,30	-18,6	21,9	-26,3
PGS/PPy 5%	1,96	-18,7	23,6	-26,8

O PGS é um elastômero, resultado da reação de cura do pré-PGS, e apresenta duas fases distintas: fase gel e fase sol [76]. A fase gel é formada pela rede reticulada que não é solúvel em solventes orgânicos, como THF e clorofórmio. Esta fase proporciona uma estrutura reticulada 3D que resulta em um polímero sólido e elástico a temperatura ambiente. Já a fase sol, por outro lado, é solúvel e é formada pela porção não reticulada e finais das cadeias, e age como um plastificante para a fase gel. O PGS e os compósitos PGS/PPy apresentam temperaturas de fusão e cristalização, referentes a fase sol, porém as características físicas em temperatura ambiente mostram a fase gel é dominante, uma vez que o material se comporta como um elastômero. Na Figura 19 é mostrado o termograma de DSC do segundo aquecimento, comparando os resultados obtidos para as amostras pré-PGS e PGS controle. É possível verificar que o PGS antes da reticulação apresenta diversos picos de fusão, referentes aos diferentes tipos e tamanhos de cadeia formados na fase sol. Já o PGS controle apresenta apenas um pico de fusão, e em temperatura inferior quando comparado com o maior pico endotérmico do pré-PGS. Quando comparadas as entalpias de fusão do pré-PGS e do PGS controle, verifica-se os valores de 55,4 e 26,5 J/g, respectivamente. Estes resultados evidenciam o aumento do tamanho das cadeias, e também a homogeneidade destas, na fase sol.

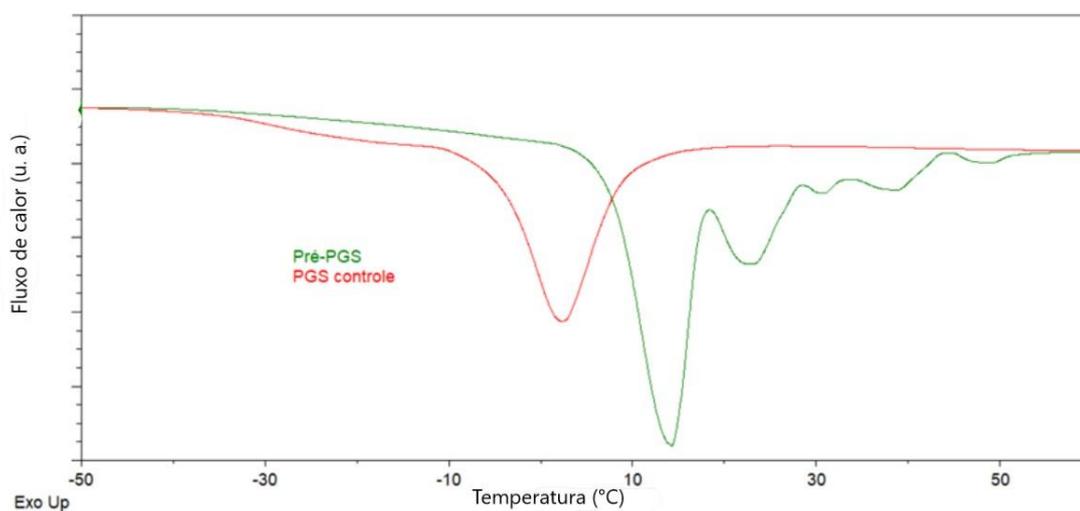


Figura 19: Termograma de DSC, no segundo aquecimento, comparando as amostras de pré-PGS e PGS controle.

A adição do polímero condutor deslocou a temperatura de fusão para temperaturas mais elevadas, e diminuiu entalpia de fusão dos compósitos, exceto para a amostra com 5% de PPy, como mostrado na Tabela 1. O PPy é um polímero amorfo e interage com a fase sol da matriz PGS, também reduzindo Tc e Tg. Utilizando um estudo de Meissner [77], que em 1975 publicou o trabalho intitulado “The bound rubber theory”, e considerando que o PPy adicionado à matriz elastomérica se comporta como uma carga esférica, conforme será visto também por MEV (Sessão 5.5), pode-se afirmar que as macromoléculas do PGS interagem com a superfície do polímero condutor através da formação de ligações fracas. Pelo espectro de FTIR, descrito na Sessão 5.2, foi possível verificar que o elastômero e o polímero condutor interagem através de ligações de hidrogênio, confirmando a relação entre os polímeros. Adicionalmente, esta interação impede os movimentos segmentados da cadeia de PGS, que ocasiona a diminuição da Tg da matriz. Estas observações são válidas para os compósitos que contém 1 e 3% de PPy, porém o compósito PGS/PPy 5% não apresenta o mesmo comportamento. Mais evidências deste comportamento particular são mostradas pelas imagens capturadas por MEV e descritas com mais detalhes.

5.4. Condutividade elétrica dos compósitos

O PPy puro sintetizado para este trabalho apresentou condutividade elétrica de $4,6 \times 10^{-2}$ S/cm. Já os compósitos apresentaram condutividade na ordem de 10^{-5} S/cm, com o maior valor registrado para a amostra com 3% de PPy, como mostrado na Tabela 2. Como demais incrementos de PPy no compósito não aumentam o valor da condutividade elétrica, é possível afirmar que o limite de percolação é atingido quando até 3% de PPy é adicionado à matriz de PGS. Os resultados indicam que os compósitos são um material do tipo semicondutor. Outros autores tem reportado resultados semelhantes de condutividade elétrica para compósitos que possuem matriz de PGS adicionados de outros polímeros condutores, como a PANI [78], por exemplo. Porém, neste caso, mais de 15% de PANI foi utilizada para se chegar ao mesmo patamar de condutividade elétrica. Este estudo teve como objetivo desenvolver adesivos elastoméricos condutores para uso em reparações cardíacas, e traça um comparativo

entre as propriedades elétricas do material desenvolvido e o tecido do miocárdio humano. Segundo estudo de Roberts-Thomson *et al* [79], o miocárdio humano possui condutividade elétrica de $1,6 \times 10^{-3}$ S/cm no sentido longitudinal da fibra, e 5×10^{-5} S/cm no sentido transversal a fibra do músculo.

Tabela 2: Condutividade elétrica dos compósitos PGS/PPy.

Amostras	σ (S/cm)
PGS/PPy 1%	$1,83 \times 10^{-5}$
PGS/PPy 3%	$5,10 \times 10^{-5}$
PGS/PPy 5%	$1,96 \times 10^{-5}$

Demais grupos de pesquisa tem trabalhado no sentido de desenvolver materiais para utilização como coadjuvantes no tratamento de tecidos cardíacos lesionados pois, diferente de ossos e outros tecidos moles, o coração tem uma habilidade muito limitada de se reparar após um infarto ou ataque. Doenças do coração estão relacionadas com anormalidades da função elétrica por causa da perda crítica de cardiomiócitos. Na tentativa de desenvolver materiais que ajudem na reparação de tecidos cardíacos, pesquisadores verificaram que estímulos eletrofisiológicos promovem de maneira mais eficiente o crescimento e a proliferação de cardiomiócitos [80]. Desta forma, é possível avaliar a potencial aplicação dos compósitos PGS/PPy como coadjuvantes no tratamento de lesões no coração, pois apresentam condutividade elétrica semelhante ao miocárdio e podem atuar positivamente na regeneração do tecido cardíaco lesionado, ao oferecer um ambiente favorável ao condicionamento celular.

Outros tecidos biológicos também podem ser beneficiados com a utilização de biomateriais condutores ou semicondutores, como estratégia para acelerar a cura ou

cicatrização. No caso de tecidos nervosos, alguns estudos demonstraram que estímulos elétricos podem promover a proliferação e diferenciação de células nervosas. Por exemplo, Sudwilai *et al* [81] investigaram os efeitos de um substrato de PLA (poli ácido láctico) recoberto com PPy no crescimento de células neurais. Testes *in vitro* demonstraram que os substratos foram capazes de suportar a atividade celular neural sem mostrar nenhuma toxicidade significativa, promovendo um crescimento celular sadio.

5.5. MEV

A morfologia do PGS e compósitos obtidas por MEV é mostrada na Figura 20. A região cinza mostra a matriz PGS, enquanto o PPy se distribui de forma esférica, sendo apontado pelas setas vermelhas nas amostras dos compósitos. Antes de ser metalizada com uma fina camada de ouro para a aquisição de imagens com melhor resolução, as amostras foram analisadas a fim de verificar a composição de cada fase identificada. Utilizou-se o banco de dados próprio do software para analisar os dados obtidos. Com auxílio da microsonda de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) acoplada ao microscópio, pode-se confirmar que as esferas contêm nitrogênio, indicando que estas são formadas pelo PPy. Os resultados apresentados na Figura 21 são referentes à imagem capturada para o compósito PGS/PPy 5%, conforme indicam as setas que ligam a região de análise do EDS com os valores obtidos para a abundância relativa de cada elemento. A sonda utiliza a energia de raios X emitida pela matéria em resposta à incidência de partículas carregadas, e compara os resultados obtidos ao banco de dados do equipamento. Uma pequena quantidade de silício também foi detectada, porém pode ser atribuída a uma imprecisão do equipamento.

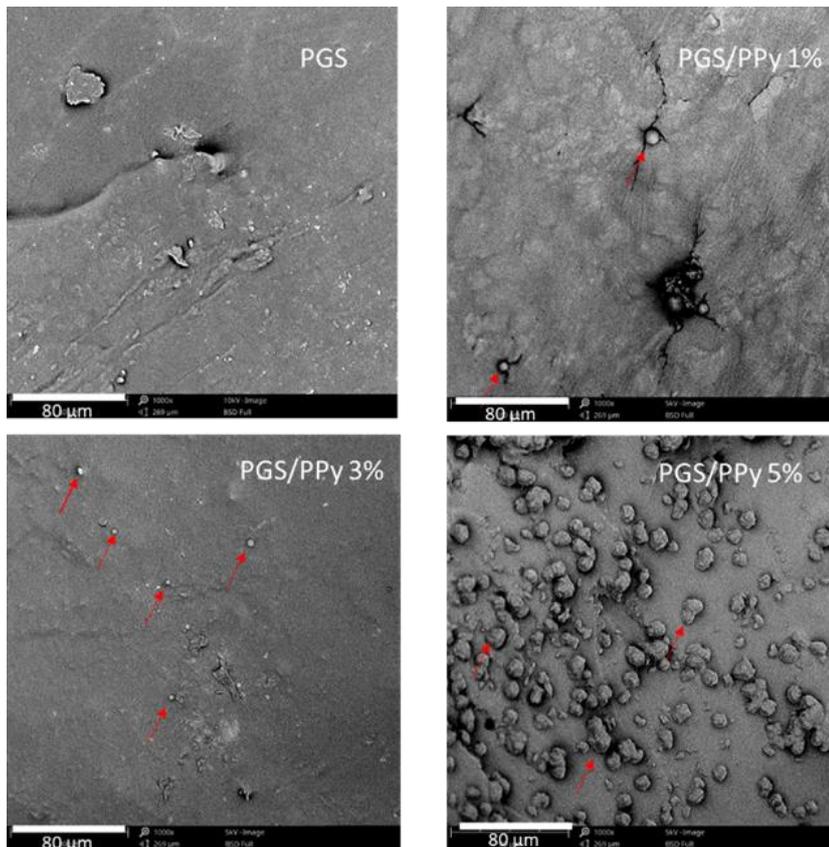


Figura 20: Micrografias MEV na sessão fraturada criogenicamente, para as amostras de PGS controle e compósitos de PGS/PPy

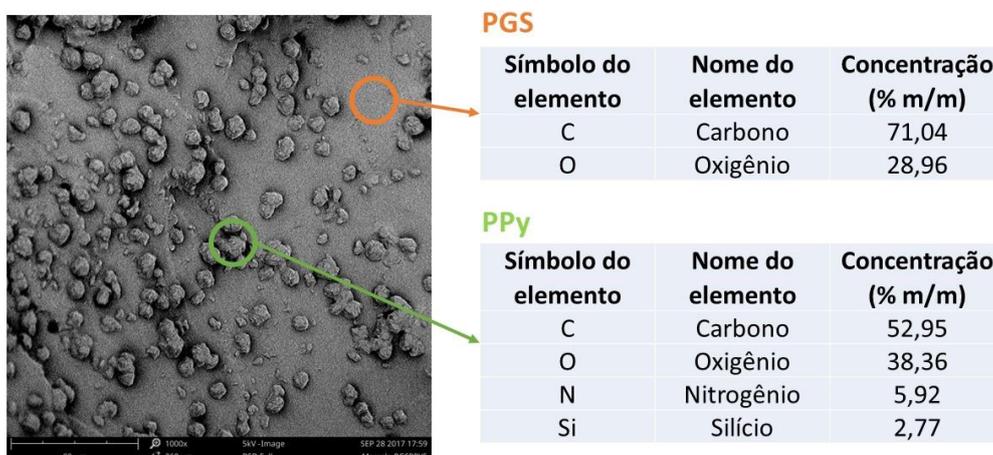


Figura 21: Abundância dos elementos químicos nas diferentes fases do compósito PGS/PPy 5%, analisados por EDS.

A superfície dos compósitos é rugosa, enquanto a superfície do PGS controle é lisa, indicando que o PPy está bem disperso na matriz, com alguns pontos de concentração. Nos compósitos com menores teores de PPy (1 e 3%), a matriz de PGS parece cobrir bem quase todo o polímero condutor disperso, compondo uma camada contínua com algumas esferas na superfície da sessão fraturada, não afetando o caminho de percolação formado. Entretanto, para o compósito com 5% de PPy, a quantidade do polímero condutor na superfície analisada é maior, evidenciando que a matriz não foi mais capaz de cobrir a maior parte das esferas de PPy. Desta forma, o limite de molhabilidade da matriz PGS foi extrapolado e esta não é mais capaz de conter grande parte do PPy disperso. Este fenômeno afeta também as propriedades térmicas e elétricas do compósito, como mostrado nos capítulos anteriores. Desta forma, pode-se afirmar que, dentre as amostras analisadas, o limite de molhabilidade da matriz PGS, quando adicionado de PPy, é de 3%.

5.6. Propriedades mecânicas

O PGS, a matriz dos compósitos deste estudo, em temperatura ambiente está no estado borrachoso. A Figura 22 mostra as curvas representativas obtidas pelo ensaio de tração para os filmes. Tanto o PGS quanto os compósitos com PPy apresentam deformação elastomérica a temperatura ambiente. A tensão máxima de alongamento e o módulo de Young aumentam com o incremento de polímero condutor adicionado ao PGS. O PGS controle apresenta um módulo de Young de 0,15 MPa, que está de acordo com os valores apresentados em outros estudos, como Gaharwar *et al* (0,12 MPa) e Xu *et al* (0,2 MPa) [82,83]. Com 3% de PPy no compósito, o módulo de Young é 0,26 MPa, e com 5% este número é três vezes o valor encontrado para o PGS controle, como pode ser observado na Tabela 3. Nesta mesma tabela é possível verificar que a adição do PPy nos compósitos diminui os valores obtidos para o alongamento máximo, quando comparados novamente ao PGS controle. Estes resultados indicam que o compósito se torna mais rígido (e menos elástico, por consequência) com a adição de PPy.

De acordo com a teoria do reforço de borrachas [84], o PPy atua como uma carga no compósito, onde partículas rígidas são dispersas em uma matriz borrachosa e

umenta o seu módulo. Adicionalmente, essas partículas rígidas não são capazes de se deformar da mesma forma que a matriz na região elástica. Este fato explica a diminuição do valor de alongamento máximo para os compósitos, quando comparados com o PGS controle.

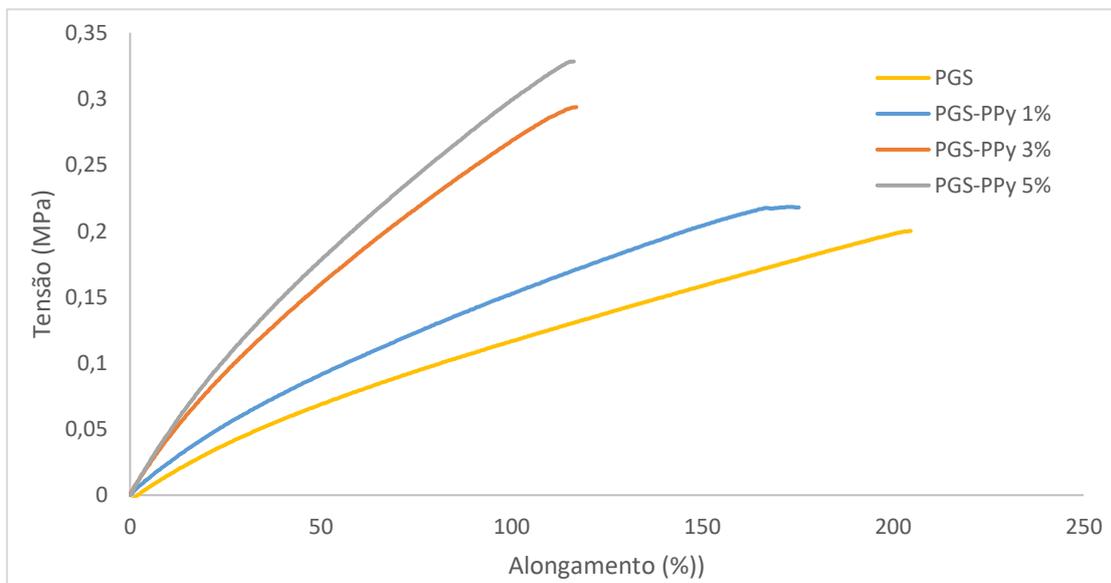


Figura 22: Tensão x deformação das amostras de PGS e compósitos PGS/PPy, obtida pelo ensaio de tração.

Tabela 3: Alongamento máximo, tensão máxima de alongamento e módulo de Young no ensaio de tração, para as amostras de PGS e compósitos PGS/PPy.

Amostra	Alongamento máximo (%)	Tensão máxima de alongamento (MPa)	Módulo de Young (MPa)
PGS Controle	204,7 ± 11	0,19 ± 0,02	0,15 ± 0,02
PGS/PPy 1%	175,3 ± 12	0,21 ± 0,04	0,26 ± 0,04
PGS/PPy 3%	117,1 ± 9	0,29 ± 0,01	0,46 ± 0,02
PGS/PPy 5%	116,3 ± 5	0,32 ± 0,03	0,49 ± 0,05

Em um artigo de revisão, Loh *et al* [85] chama atenção para as similaridades das propriedades mecânicas do PGS com tecidos moles biológicos comuns. Por exemplo, o módulo do cérebro é em torno de 0,1 – 1 kPa e para os músculos varia de 8 – 17 kPa. Já o músculo cardíaco, mais especificamente o miocárdio, tem módulo variando entre 0,02 – 0,5 MPa e alongamento de 15% , como descrito por Nagueh *et al* [86], em condições normais e saudáveis. Estes valores mostram a similaridade das propriedades mecânicas do PGS e dos compósitos PGS/PPy com alguns tecidos moles do corpo humano, mais especificamente para o músculo do coração. Estes resultados, acrescidos das informações sobre a condutividade elétrica, reiteram a possibilidade de utilizar este material como auxiliar no tratamento de doenças do coração.

Partindo da análise de tração e dos valores obtidos para o módulo de Young do PGS e compósitos, é possível calcular a densidade de entrelaçamentos [87]. Uma vez que o PGS é um polímero formado por uma rede complexa tridimensional, formada por ligações éster entrelaçadas, é possível traçar um paralelo entre a rigidez do material com o número de cadeias de polímero por unidade de volume. Para um polímero puro como PGS a densidade de entrelaçamento é dada pela equação:

$$n = E/3RT \quad (3)$$

Onde n = número de cadeias poliméricas por unidade de volume (mole/m^3), E = módulo de Young (MPa), R = constante universal de gases e T = temperatura absoluta (K).

Porém, quando o PPy é adicionado ao pré-PGS, esta equação deve ser adequada, pois o comportamento mecânico do compósito é afetado pelo efeito hidrodinâmico do polímero condutor. Assumindo que o PPy está disperso na forma de esferas homogêneas, a equação (3) pode ser modificada a fim de traçar uma relação direta entre o módulo de Young e a densidade de entrelaçamento dos compósitos, da seguinte forma [84]:

$$E = 3nRT (1 + 2,5 \phi + 14,1 \phi^2) \quad (4)$$

Onde \emptyset = volume do polímero condutor, em porcentagem. Esta equação foi utilizada para calcular a densidade de entrelaçamentos dos compósitos levando em consideração que as densidades do PGS e do PPy são, respectivamente, 1,12 e 1,47 g/cm³ [50,88].

Os valores da densidade de entrelaçamento estão listados na Tabela 4. O resultado calculado para o PGS é muito similar ao encontrado em estudos semelhantes [89]. Para os compósitos, a densidade de entrelaçamentos é maior para quantidades superiores de PPy na matriz de PGS. A utilização de PPy, que atua também como uma carga além de ser um polímero condutor, aumenta a densidade da rede de entrelaçamento, tornando o compósito mais rígido.

Tabela 4: Densidade de entrelaçamentos das amostras de PGS e compósitos PGS/PPy

Amostra	n (mole/m ³)
PGS Controle	20,63 ^a
PGS/PPy 1%	33,56 ^b
PGS/PPy 3%	55,17 ^b
PGS/PPy 5%	54,33 ^b

Calculado por: a = equação (3) e b = equação (4)

5.7. Autorreparação

Como ainda não existem normas que caracterizem a habilidade de autorreparação de polímeros, um método simples é proposto, baseado no trabalho que Gyarmati *et al.*[90] desenvolveu para classificar hidrogéis autorreparáveis. Os critérios

utilizados no trabalho citado foram adaptados de forma a expandir o escopo englobado. Estes critérios podem ser usados para assegurar se um material pode ser classificado como um polímero intrinsecamente autorreparável, ou seja, um polímero que possui a estrutura química capaz de se autorreparar após sofrer algum dano provocado por um fator externo [8]. Desta forma, os polímeros classificados como autorreparáveis devem seguir os seguintes critérios:

- a) Presença de grupos funcionais específicos como ligações reversíveis, grupos laterais que formem ligações não-covalentes e redes tridimensionais, pares de ionômeros laterais, etc., verificado com sucesso por espectroscopia ou método equivalente;
- b) Testes de autorreparação macroscópicos, utilizando métodos de imagens, como vídeo ou fotografia;
- c) Eficiência da reparação validada por medidas de propriedades mecânicas. Os resultados podem ser expressos como “% da propriedade recuperada” em relação às amostras não danificadas. A dinâmica, a temperatura e a dependência do tempo do processo de autorregeneração devem ser avaliadas.

Levando-se em consideração que a reação de esterificação é um processo reversível e que o PGS apresenta alguns grupos hidroxila ligados à cadeia principal, os quais são capazes de fazer ligações de hidrogênio, a hipótese de que o PGS poderia se autorreparar após sofrer danos foi verificada. Para investigar a capacidade de autorreparação, corpos de prova de PGS puro e seus compósitos com PPy (1 e 5%) que foram curados após serem danificados e submetidos a diferentes condições de temperatura e tempo de contato, foram testados. Os valores comparativos para alongamento máximo e tensão máxima de alongamento recuperados após o ensaio são apresentados na Tabela 5. A Figura 23 mostra os resultados comparativos para alongamento máximo e tensão máxima de alongamento, através de gráficos de barras.

Primeiramente, foram analisados os resultados do PGS puro. Os corpos de prova de polímero reparados a 25, 37 e 60 ° C recuperaram cerca de 20% de alongamento na

ruptura e até 20% de tensão máxima de alongamento, para ambos os tempos de contato (2 e 24 h) quando comparados com os resultados originais da PGS obtidos em ensaios de tração padrão. A 130 ° C, dois comportamentos distintos foram detectados. Com 2 h de contato, as amostras apresentaram melhor recuperação do alongamento na ruptura do que as amostras colocadas em contato por 24 h. Por outro lado, a porcentagem de tensão máxima no alongamento recuperada aumentou com o tempo de contato, chegando a 100% após 24 horas. As fotografias mostradas na Figura 24 ilustram esse comportamento para amostra de PGS controle, nas temperaturas de 25 e 130°C, após 2 ou 24 h de contato. Estes resultados significativos validam a classificação de PGS como um polímero intrinsecamente autorreparável, quando mantido em alta temperatura. Ele pode se reparar recuperando 100% da tensão máxima que o polímero original pode resistir ao ser esticado antes de quebrar. A capacidade de autorregeneração é primeiramente atribuída à reversibilidade das ligações éster e aos grupos hidroxila ligados ao esqueleto principal, os quais são capazes de formar ligações de hidrogênio intermoleculares. Além disso, o PGS possui uma fase sol, que garante o volume livre e, portanto, a boa mobilidade dos finais de cadeias para reparar as ligações quebradas. Altas temperaturas também favoreceram o processo de difusão das cadeias e promovem de maneira mais eficaz a autorregeneração.

Os compósitos apresentaram resultados semelhantes, como pode ser visto na Tabela 5, indicando que o polímero condutor não afeta significativamente a capacidade de autorreparação. Para ambas as quantidades de PPy no compósito, os melhores resultados foram obtidos para as amostras curadas a 130 ° C, que recuperaram até 74% de alongamento na ruptura com 2 h de contato e atingiram mais de 100% de recuperação de tensão máxima na ruptura após 24 horas de contato. Este resultado indica um processo de autorreparação muito bom. No entanto, é possível que o processo de cura do PGS não tenha sido concluído totalmente antes que a análise de autorreparação fosse realizada. Isso poderia implicar em um aumento na densidade de entrelaçamentos na cadeia, tornando a matriz mais forte, evidenciado no aumento do resultado da tensão máxima de alongamento.

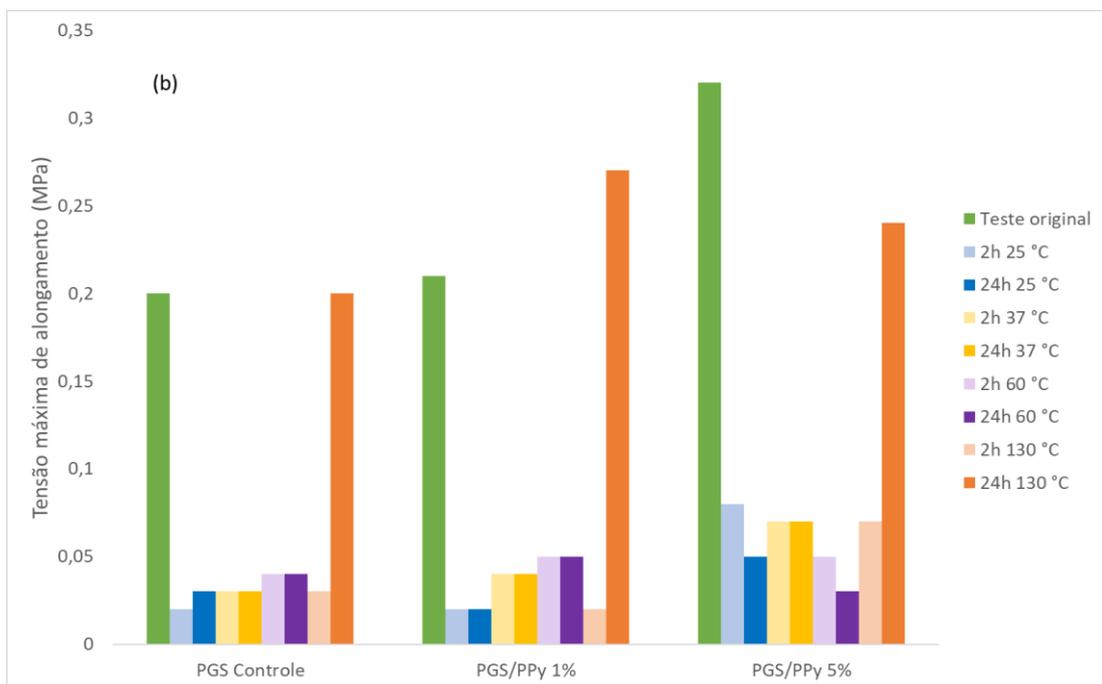
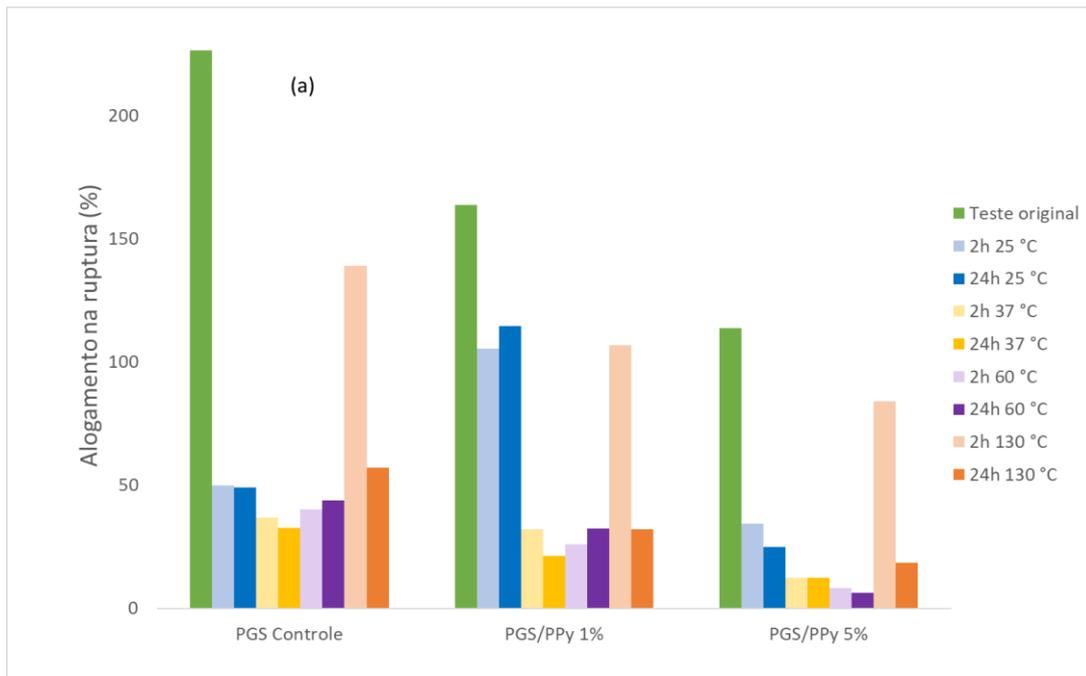


Figura 23: Resultados de (a) alongamento máximo e (b) tensão máxima de alongamento do ensaio de tração das amostras autorreparadas.

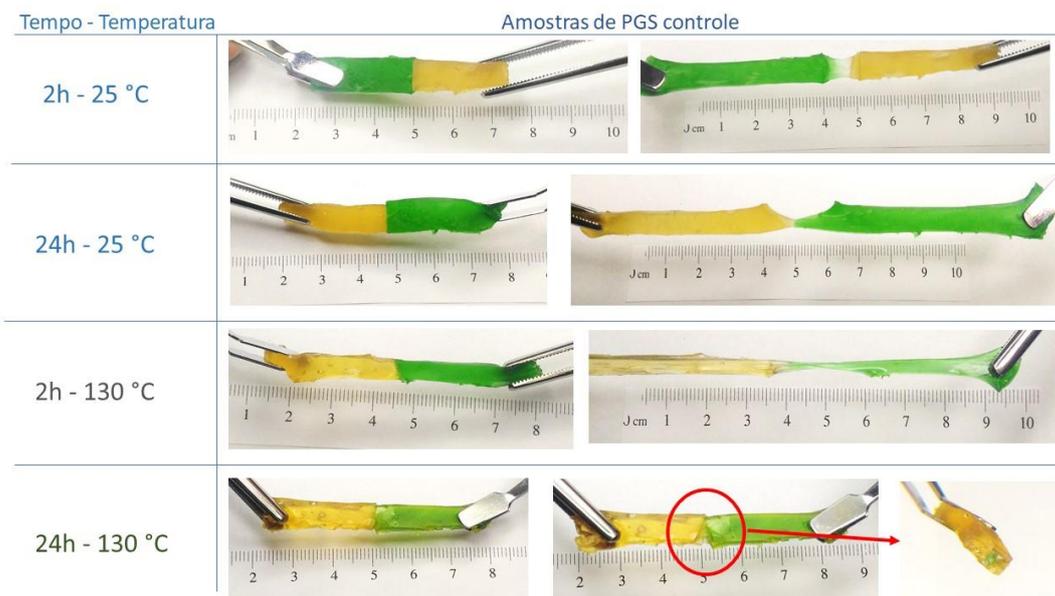


Figura 24: Ensaio de autorreparação qualitativo

A condutividade elétrica dos compósitos foi testada em amostras reparadas, após condicionadas por 24 h a 25, 37, 60 e 130 ° C. Os valores medidos foram comparados com o teste de condutividade elétrica original que foram mostrados no Capítulo 5.4. Os resultados são apresentados na Figura 25. A condutividade elétrica diminui à medida que a temperatura de condicionamento aumenta. No entanto, não há alteração significativa na magnitude da condutividade, mantendo-se acima de 10^{-5} S/cm. Portanto, mesmo depois de autorreparados, os compósitos permanecem como CPCs semicondutores. De forma semelhante, em um estudo realizado com um material polimérico autorreparável comercial, formando um conector que protege um microcanal preenchido com metal líquido, Palleau et al [91] verificou que o sistema mantinha a condutividade elétrica preservada na mesma magnitude após o corte e reparação da amostra preparada, corroborando os resultados verificados neste trabalho.

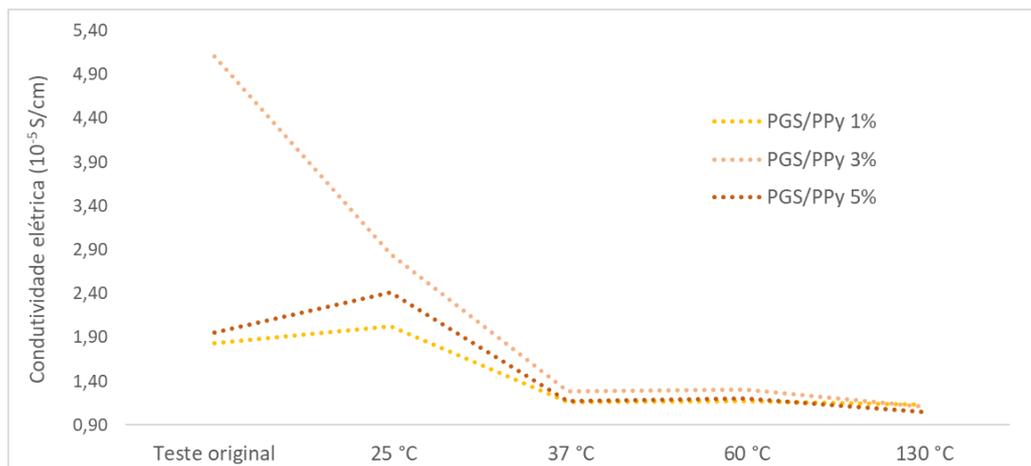


Figura 25: Condutividade elétrica dos compósitos PGS/PPy após autorreparados em diferentes temperaturas.

Tabela 5: Ensaio quantitativo de autorreparação.

Amostra	Alongamento máximo recuperado (%)	Tensão máxima de alongamento recuperada (%)
PGS Controle		
2h 25 °C	22,0	10,00
24h 25 °C	21,6	15,00
2h 37 °C	16,3	15,00
24h 37 °C	14,4	15,00
2h 60 °C	17,7	20,00
24h 60 °C	19,3	20,00
2h 130 °C	61,4	15,00
24h 130 °C	25,2	100,00
PGS/PPy 1%		
2h 25 °C	64,5	9,52
24h 25 °C	70,1	9,52
2h 37 °C	14,7	19,05
24h 37 °C	13,0	19,05
2h 60 °C	15,9	23,81
24h 60 °C	19,8	23,81
2h 130 °C	65,3	9,52
24h 130 °C	19,7	128,57
PGS/PPy 5%		
2h 25 °C	30,2	25,00
24h 25 °C	21,9	15,63
2h 37 °C	10,8	21,9
24h 37 °C	11,0	21,9
2h 60 °C	7,3	15,6
24h 60 °C	5,6	9,4
2h 130 °C	74,0	21,88
24h 130 °C	16,2	75,00

5.8. Degradação *in vitro*

Os valores das porcentagens de perda de massa e a variação do pH verificados no ensaio de degradação *in-vitro* são mostrados na Figura 26 e na Tabela 6, respectivamente. Em comparação com o PGS puro, verifica-se que a adição de PPy aumenta a perda de massa dos compósitos, embora a relação de quantidade de PPy na mistura com a porcentagem de perda de massa não seja linear. Ao final de 20 dias de incubação o filme com 3% de PPy perdeu 13,7% de massa, enquanto a mistura contendo 5% perdeu 22,6% de massa. Em comparação com o PGS puro, que perdeu 12,6% de massa no mesmo período, o aumento da perda para PGS/PPy 3% é pouco expressivo. Em estudo realizado nas mesmas condições, ao final de 60 dias, Wang et al [4] verificou que o PGS perdeu $17 \pm 6\%$ de massa, em relação ao mensurado inicialmente. Apesar do tempo de ensaio ter sido maior no estudo citado, os valores encontrados experimentalmente estão de acordo com o que sugere a literatura.

Foi mensurado o pH das soluções de PBS no início do período de incubação (dia 1) e ao final (dia 20). Todas as amostras apresentaram redução do valor de pH, tornando o meio mais ácido. Porém as amostras com PPy tiveram uma redução menor de pH que do PGS puro. Fato semelhante foi relatado por Liang *et al* [5] em seus experimentos, que testou PGS e compósito PGS/Bioglass (material comumente usado em aplicações médicas por se assemelhar a hidroxiapatita, mineral predominante em ossos) em ensaios de degradação e citotoxicidade *in vitro*. No primeiro ensaio, foi observado que os meios que continham as amostras de PGS controle e de compósito com mais alto teor de Bioglass apresentaram mudança significativa de pH nos primeiros dias de ensaio, o primeiro ficando mais ácido e o segundo, mais alcalino. Essas mesmas amostras se mostraram citotóxicas. O contrário aconteceu com as amostras contendo frações intermediárias de Bioglass™: o pH das soluções não alterou significativamente, ou se tornou pouco mais alcalino, e as amostras foram citocompatíveis no ensaio biológico. O Bioglass reage com o ácido sebáico, formando um sal de cálcio alcalino, e neutraliza a acidez da solução. É possível que monômeros não reagidos, principalmente de ácido sebáico, estejam presentes nas amostras e acabam migrando para as soluções de PBS, baixando o pH dos meios. Este fator interfere na biocompatibilidade do material, pois

as células são sensíveis às mudanças mínimas de pH, como será visto no próximo capítulo.

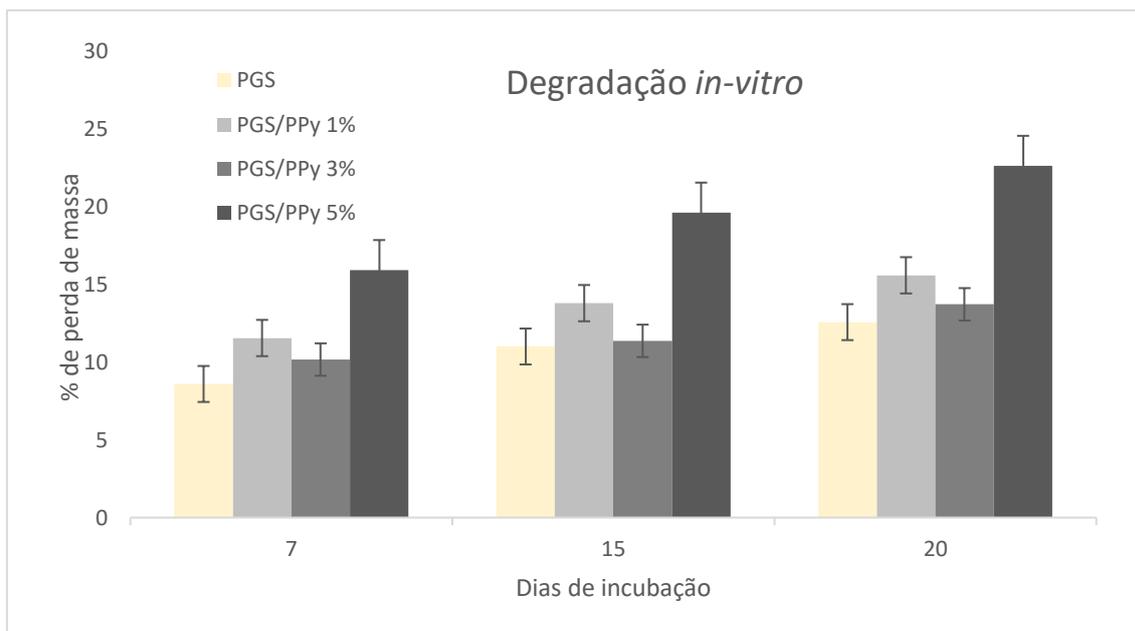


Figura 26: Variação da perda de massa das amostras de PGS e compósitos PGS/PPy, no ensaio de degradação *in vitro*.

Tabela 6: Variação do pH das soluções de PBS no ensaio de degradação *in vitro*.

	pH inicial	pH final
PGS	7,16	6,17
PGS/PPy 1%	7,16	6,4
PGS/PPy 3%	7,16	6,35
PGS/PPy 5%	7,16	6,22

5.9. Citocompatibilidade

O ensaio de citocompatibilidade com MSC foi realizado 5 vezes. Nas 4 primeiras tentativas, os resultados foram negativos, pois em todas as amostras se mostravam extremamente tóxicas para as células, que não sobreviviam nos meios de cultura. Estes resultados contrariavam toda a literatura na qual este trabalho estava sendo baseado,

que repetidas vezes mostrava a ótima compatibilidade do PGS com as mais diferentes células, e até mesmo sendo utilizado com sucesso em testes *in vivo*, sem prejudicar os tecidos no qual eram enxertados [92]. A fotografia da Figura 27 mostra a condição das amostras incubadas após 24 horas. A coloração do líquido sobrenadante chama a atenção para a mudança no meio de cultura. Foi medido o pH dos meios, que não mostrou variação muito expressiva (Figura 28).

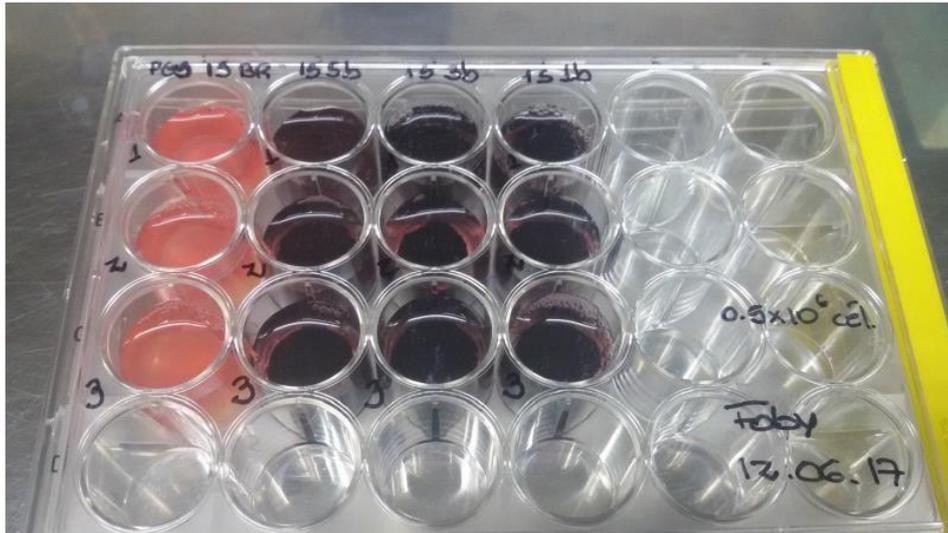


Figura 27: Fotografia da placa de cultura do experimento de citocompatibilidade #1, após incubação de 24 h com MSC. Da esquerda para a direita, as fileiras na vertical correspondem às amostras PGS, PGS/PPy 5%, PGS/PPy 3% e PGS/PPy 1%, respectivamente.



Figura 28: Variação do pH das amostras do experimento de citocompatibilidade #1. Da esquerda para a direita PGS controle, PGS/PPy 5% (5b), PGS/PPy 3% (3b) e PGS/PPy 1% (1b).

Através do ensaio com MTT, que verifica a viabilidade das células, foi verificado que as células morriam quando em contato com os extratos das amostras de PGS controle e PGS/PPy 3%, conforme mostrado na Figura 29. O valor de absorbância é proporcional a quantidade de células viáveis.

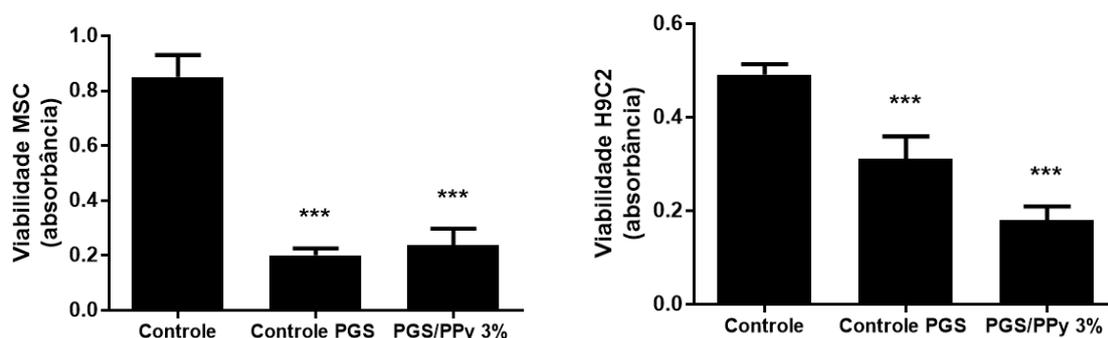


Figura 29: Ensaio de viabilidade celular com MTT, para MSC e cardiomiócitos H9C2. *** $p < 0.001$

Através de um microscópio ótico, foi avaliado o meio contido em alguns poços da placa de cultura, após o período de incubação. Na Figura 30 são apresentadas as imagens que mostram (a) células saudáveis, observadas no controle (sem amostras) e (b) células mortas, que foram cultivadas nos poços que continham as amostras.

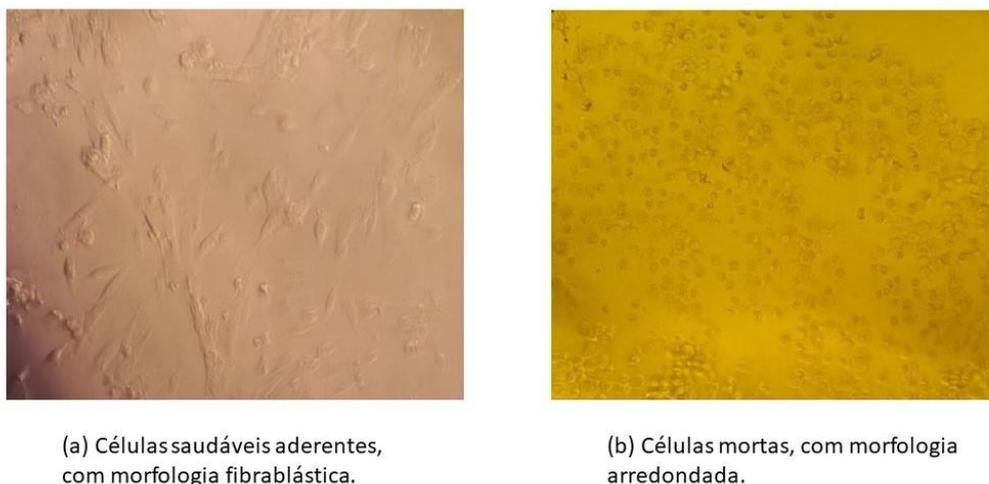


Figura 30: Imagens (a) células saudáveis (controle) e (b) células mortas após incubação com uma amostra.

Após muitas hipóteses e testes, descobriu-se que o PGS, bem como seu compósito com PPy, só exibiria biocompatibilidade se passasse por um processo de lavagem em etanol após a reação de cura de no mínimo 24 horas. Segundo uma especialista consultada sobre o assunto, o processo auxilia a eliminar possíveis restos de monômeros não reagidos. Os mesmos autores que afirmam que o PGS pode ser usado como um biomaterial, alegam que desde a origem os reagentes são biocompatíveis, pois o glicerol e o ácido sebácico podem ser utilizados diretamente em aplicações médicas, constando em listas positivas para esse fim, tanto na ANVISA quanto na FDA [55,85]. Porém, existem limites de concentração, mesmo que bem generosos, para o uso destes materiais em contato com tecidos vivos. Segundo a ficha de segurança dos reagentes, fornecida pelos fabricantes, o limite de toxicidade oral em ratos (LD 50) para o glicerol é de 12600 mg/Kg, e para o ácido sebácico é de 14500 mg/kg. É muito provável que o limite de toxicidade dos monômeros tenha sido atingido nos primeiros ensaios, inviabilizando o desenvolvimento das células.

Então, para chegar nestes resultados positivos, onde as células sobreviveram ao extrato e também em contato com as amostras, estas foram avaliadas quanto a citocompatibilidade após o processo de lavagem. MSC e os cardiomiócitos foram utilizados para realizar a avaliação de citocompatibilidade *in vitro* do PGS controle e do PGS/PPy 3%, por 24 horas. Optou-se, neste ponto do trabalho, avaliar somente o

compósito que apresentou características mecânicas e de condutividade elétrica mais próximas ao do tecido do miocárdio. Os extratos do meio em contato com as amostras não mostraram efeitos significativos na viabilidade das MSC e cardiomiócitos, quando comparado com a cultura de controle, conforme os dados apresentados na Figura 31. É importante destacar que os extratos das amostras não são citotóxicos para culturas primárias (MSC) e nem para células de linhagens (cardiomiócitos), apontando grande potencial do PGS e do compósito PGS/PPy como um biomaterial em aplicações médicas.

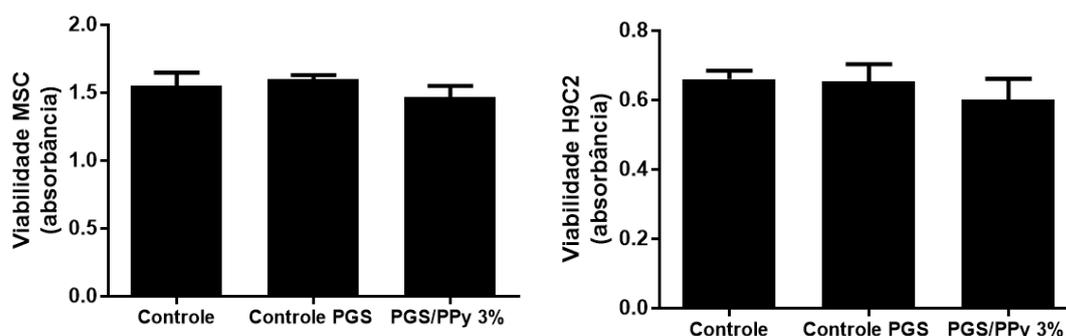


Figura 31: Viabilidade das culturas celulares com (a) MSC e (b) cardiomiócitos cultivados nos extratos das amostras de PGS controle e PGS/PPy 3%, comparados com o meio de cultura controle.

As imagens capturadas por MEV para as amostras semeadas com MSC são mostradas nas Figuras 32. É possível observar que as células mantêm uma forma globular, apresentando uma baixa adesão via alguns filamentos citoplasmáticos, como mostram as setas vermelhas na imagem (b). Na Figura 33 são apresentadas as imagens capturadas por MEV para as amostras semeadas com cardiomiócitos. As células apresentaram formato globular na amostra de PGS controle, na imagem (a). Foi observado que as células apresentaram boa adesão na amostra de compósito PGS/PPy 3%, podendo ser visualizado o formato estendido das células na imagem (b), onde as setas vermelhas indicam os filamentos de aderência. Na imagem (c) a célula parece ter se dobrado em suas bordas, mas indica que está em um formato estendido e provavelmente estava aderida à superfície antes do processo de secagem.

No geral, a adesão das células pode ter sido prejudicada no momento de preparação das amostras para observação no MEV, uma vez que a matriz polimérica absorveu muito solvente (acetona) e deformou antes de ser submetida à secagem na

câmara de ponto crítico de CO₂. As células aderidas foram estiradas e depois encolheram, prejudicando a visualização dos filamentos ligados a superfície.

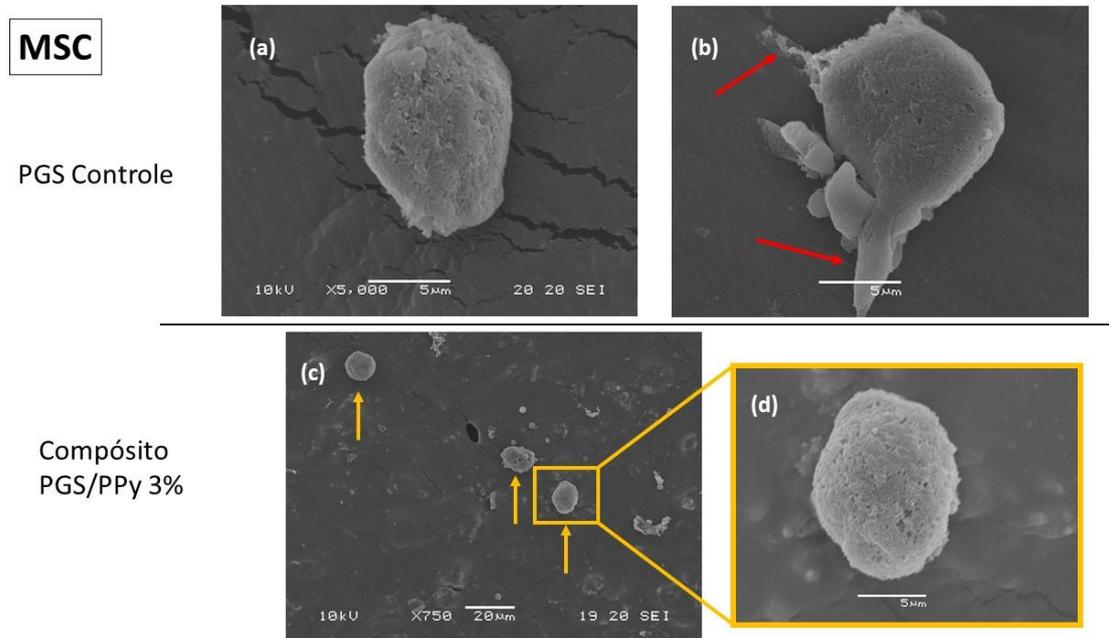


Figura 32: Micrografias MEV para amostras com MSC. As células aderidas na amostra de PGS controle (a) e (b). As setas vermelhas indicam alguns filamentos de aderência. As setas amarelas indicam as células encontradas na amostra PGS/PPy 3% (c), e no detalhe em (d).

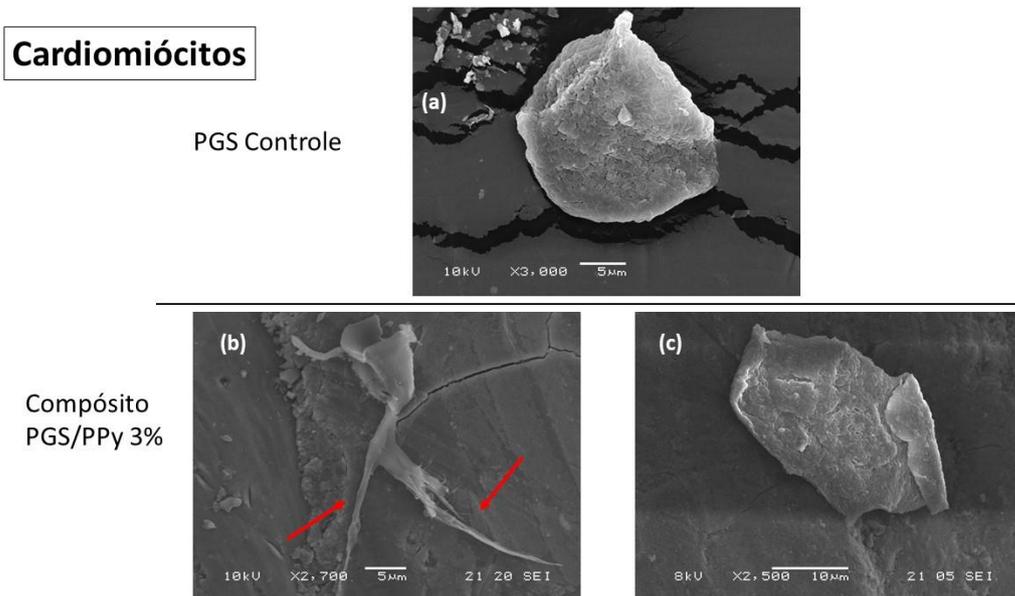


Figura 33: Micrografias MEV para as amostras com cardiomiócitos. Células aderidas na amostra de PGS controle (a) e estiradas na amostra de compósito PGS/PPy 3% (b) e (c). As setas vermelhas indicam os filamentos de aderência.

6. Considerações finais

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir:

- O PGS e seus compósitos contendo 1, 3 e 5 % de PPy foram fabricados com sucesso, através de uma rota livre de solventes;
- O tempo de preparo do pré-PGS pode ser diminuído em 50%, em relação ao tempo de preparação da amostra controle, quando este é utilizado para a fabricação de compósitos com PPy;
- O PGS e compósitos PGS/PPy formam filmes flexíveis, de características elastoméricas, estáveis até temperaturas próximas a 400 °C;
- Considerando que o PPy adicionado à matriz elastomérica se comporta como uma carga esférica, pode-se afirmar que as macromoléculas do PGS interagem com a superfície do polímero condutor através da formação de ligações de hidrogênio, diminuindo a T_c e a T_g , por conta do impedimento da movimentação dos segmentos locais das cadeias da matriz;
- Os compósitos apresentaram condutividade na ordem de 10^{-5} S/cm, característica de um material semiconductor;
- Dentre as amostras analisadas, o limite de percolação dos compósitos PGS/PPy foi atingido com a adição de 3% do polímero condutor. O limite de molhabilidade da matriz PGS, quando adicionado de PPy, também é de 3%. Logo, em termos de interação entre matriz e carga, pode-se afirmar que a melhor amostra produzida neste trabalho foi PGS/PPy 3%.
- A tensão máxima de deformação e o módulo de Young aumentam com o incremento da quantidade de polímero condutor adicionado ao PGS. A adição do PPy nos compósitos acarreta na diminuição dos valores obtidos para o alongamento na ruptura, quando comparados novamente ao PGS controle. O compósito se torna mais rígido (e menos elástico, por consequência) com a adição de PPy, que aumenta a densidade da rede de entrelaçamento;

- O PGS pode ser classificado como um polímero intrinsecamente autorreparável. Ele pode se reparar recuperando 100% da tensão máxima que o polímero original resiste ao ser deformado antes de romper. A capacidade de autorregeneração é primeiramente atribuída à reversibilidade das ligações éster e aos grupos hidroxila ligados ao esqueleto principal, os quais são capazes de formar ligações de hidrogênio intermoleculares. Além disso, o PGS possui uma fase sol, que garante o volume livre e, portanto, a boa mobilidade dos finais de cadeias para reparar as ligações rompidas. Altas temperaturas também favoreceram o processo de difusão das cadeias e promovem de maneira mais eficaz a autorreparação.
- Os compósitos apresentaram resultados semelhantes aos obtidos para o PGS controle, indicando que a adição do polímero condutor não afeta significativamente a capacidade de autorreparação.
- Mesmo depois de autorreparados, os compósitos permanecem como CPCs semicondutores.
- O PGS e os compósitos PGS/PPy são parcialmente degradados em PBS no período de 20 dias, em um processo hidrolítico;
- O PGS e o compósito PGS/PPy 3% não são tóxicos para células-tronco mesenquimais e cardiomiócitos, em teste realizado *in vitro*, mostrando grande potencial para aplicação destes materiais em tratamentos médicos. Porém, é necessário lavar as amostras por pelo menos 24 horas antes de colocar em contato com materiais vivos, para garantir a viabilidade do meio de cultura.
- As MSC e os cardiomiócitos apresentam aderência no compósito PGS/PPy 3% e na amostra PGS controle, embora a preparação das amostras para visualização no MEV possa ter prejudicado a extensão das células aderidas.

7. Conclusão

A partir dos resultados deste trabalho é possível concluir que foram produzidos com sucesso compósitos elastoméricos semicondutores de eletricidade PGS/PPy a partir de uma rota livre de solventes. O PGS controle e seus compósitos com PPy apresentaram propriedade de autorreparação quando cortados, reconectados e mantidos a 130 °C durante 24 h. Os compósitos apresentaram características mecânicas e elétricas semelhantes ao do músculo cardíaco (miocárdio) e mostraram potencial aplicação na área médica. O PGS controle e compósitos PGS/PPy são degradáveis hidroliticamente em teste *in vitro* e não apresentaram citotoxicidade frente às células estromais mesenquimais e cardiomiócitos, podendo ser classificados como biomateriais.

8. Propostas para trabalhos futuros

A partir dos resultados deste trabalho, os seguintes estudos podem ser continuados:

- Avaliar a degradação enzimática do PGS e dos compósitos com PPy.
- Avaliar a compatibilidade dos compósitos PGS/PPy *in vivo*.
- Avaliar o crescimento celular sobre os compósitos sob solicitação mecânica, simulando movimentos do coração, e verificar a viabilidade destas células.
- Avaliar a aplicação do PGS em revestimentos protetores de metais, utilizando a característica de autorreparação para aumentar o tempo de vida e a resistência dos revestimentos, principalmente em sistemas contendo agentes de proteção contra a corrosão e contra incrustações.

9. Bibliografia

- [1] Markets and Markets Ltd, Functional composites market, New York, 2018.
<https://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/functional-composite.asp>.
- [2] S. Reza Larimi, H. Rezaei Nejad, M. Oyatsi, A.O. Brien, M. Hoorfar, H. Najjaran, Low-cost ultra-stretchable strain sensors for monitoring human motion and bio-signals, *Sensors Actuators A. Phys.* 271 (2018) 182–191.
doi:10.1016/j.sna.2018.01.028.
- [3] S. Ying, W. Zheng, B. Li, X. She, H. Huang, L. Li, Z. Huang, Y. Huang, Z. Liu, X. Yu, Facile fabrication of elastic conducting polypyrrole nanotube aerogels, *Synth. Met.* 218 (2016) 50–55. doi:10.1016/J.SYNTHMET.2016.05.002.
- [4] Y. Wang, G.A. Ameer, B.J. Sheppard, R. Langer, A tough biodegradable elastomer., *Nat. Biotechnol.* 20 (2002) 602–606. doi:10.1038/nbt0602-602.
- [5] S.L. Liang, W.D. Cook, G.A. Thouas, Q.Z. Chen, The mechanical characteristics and in vitro biocompatibility of poly(glycerol sebacate)-Bioglass?? elastomeric composites, *Biomaterials.* 31 (2010) 8516–8529.
doi:10.1016/j.biomaterials.2010.07.105.
- [6] H. Xu, J.M. Holzwarth, Y. Yan, P. Xu, H. Zheng, Y. Yin, S. Li, P.X. Ma, Biomaterials Conductive PPY / PDLLA conduit for peripheral nerve regeneration, *Biomaterials.* 35 (2014) 225–235. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.10.002.
- [7] P.M. George, A.W. Lyckman, D.A. Lavan, A. Hegde, Y. Leung, R. Avasare, C. Testa, P.M. Alexander, R. Langer, M. Sur, Fabrication and biocompatibility of polypyrrole implants suitable for neural prosthetics, *Biomaterials.* 26 (2005) 3511–3519. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.09.037.
- [8] K. Urdl, A. Kandelbauer, W. Kern, U. Müller, M. Thebault, E. Zikulnig-Rusch, Self-healing of densely crosslinked thermoset polymers—a critical review, *Prog. Org. Coatings.* 104 (2017) 232–249. doi:10.1016/j.porgcoat.2016.11.010.
- [9] S.B. Lyon, R. Bingham, D.J. Mills, Advances in corrosion protection by organic coatings: What we know and what we would like to know, *Prog. Org. Coatings.* 102 (2017) 2–7. doi:10.1016/j.porgcoat.2016.04.030.
- [10] H. Huang, J. Wu, X. Lin, L. Li, S. Shang, M.C. Yuen, G. Yan, Self-assembly of polypyrrole/chitosan composite hydrogels, *Carbohydr. Polym.* 95 (2013) 72–76.
doi:10.1016/J.CARBPOL.2013.02.071.
- [11] M.M. Sander, C.A. Ferreira, Synthesis and characterization of a conductive and self-healing composite, *Synth. Met.* 243 (2018) 58–66.
doi:10.1016/j.synthmet.2018.06.003.

- [12] Y. Yang, X. Ding, M.W. Urban, Chemical and physical aspects of self-healing materials, *Prog. Polym. Sci.* 49–50 (2015) 34–59. doi:10.1016/j.progpolymsci.2015.06.001.
- [13] G.J. Berg, M.K. McBride, C. Wang, C.N. Bowman, New directions in the chemistry of shape memory polymers, *Polymer (Guildf)*. 55 (2014) 5849–5872. doi:10.1016/j.polymer.2014.07.052.
- [14] N.A. and S. Administration, Nasa Smart Materials, (n.d.). https://technology.nasa.gov/materials_and_coatings/mat-smartmaterials.html (accessed June 5, 2018).
- [15] X. Zhang, C. Jia, X. Qiao, T. Liu, K. Sun, Porous poly(glycerol sebacate) (PGS) elastomer scaffolds for skin tissue engineering, *Polym. Test.* 54 (2016) 118–125. doi:10.1016/j.polymertesting.2016.07.006.
- [16] J. Nji, G. Li, A biomimic shape memory polymer based self-healing particulate composite, *Polymer (Guildf)*. 51 (2010) 6021–6029. doi:10.1016/j.polymer.2010.10.021.
- [17] M. Radisic, H. Park, S. Gerecht, C. Cannizzaro, R. Langer, G. Vunjak-Novakovic, Biomimetic approach to cardiac tissue engineering, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 362 (2007) 1357–68. doi:10.1098/rstb.2007.2121.
- [18] Q. Li, C. Liu, J. Wen, Y. Wu, Y. Shan, J. Liao, The design, mechanism and biomedical application of self-healing hydrogels, *Chinese Chem. Lett.* 28 (2017) 1857–1874. doi:10.1016/j.ccllet.2017.05.007.
- [19] N.A. Mohd Radzuan, A.B. Sulong, J. Sahari, A review of electrical conductivity models for conductive polymer composite, *Int. J. Hydrogen Energy.* 42 (2017) 9262–9273. doi:10.1016/j.ijhydene.2016.03.045.
- [20] Y.R. Hernandez, A. Gryson, F.M. Blighe, M. Cadek, V. Nicolosi, W.J. Blau, Y.K. Gun'ko, J.N. Coleman, Comparison of carbon nanotubes and nanodisks as percolative fillers in electrically conductive composites, *Scr. Mater.* 58 (2008) 69–72. doi:10.1016/j.scriptamat.2007.08.025.
- [21] Y.P. Mamunya, V. V. Davydenko, P. Pissis, E. V. Lebedev, Electrical and thermal conductivity of polymers filled with metal powders, *Eur. Polym. J.* 38 (2002) 1887–1897. doi:10.1016/S0014-3057(02)00064-2.
- [22] H.P. De Oliveira, M.V.B.B. Dos Santos, C.G. Dos Santos, C.P. De Melo, Preparation and electrical and dielectric characterization of PVA/PPY blends, *Mater. Charact.* 50 (2003) 223–226. doi:10.1016/S1044-5803(03)00096-2.
- [23] B. Hansen, M.A. Hocevar, C.A. Ferreira, A facile and simple polyaniline-poly(ethylene oxide) based glucose biosensor, *Synth. Met.* 222 (2016) 224–231. doi:10.1016/j.synthmet.2016.10.028.

- [24] C. Merlini, G.M.D.O. Barra, T.M. Araujo, A. Pegoretti, The effect of compressive stress on the electrical resistivity of poly(vinylidene fluoride)/polypyrrole blends, *Synth. Met.* 196 (2014) 186–192. doi:10.1016/j.synthmet.2014.08.002.
- [25] H. Suherman, J. Sahari, A.B. Sulong, Effect of small-sized conductive filler on the properties of an epoxy composite for a bipolar plate in a PEMFC, *Ceram. Int.* 39 (2013) 7159–7166. doi:10.1016/j.ceramint.2013.02.059.
- [26] P.H. da S.L. Coelho, R. Morales, Modelos de percolação elétrica para compósitos poliméricos condutores, *Polímeros.* 27 (2017) 1–13. doi:10.1590/0104-1428.2016.
- [27] F. Lux, Models proposed to explain the electrical conductivity of mixtures made of conductive and insulating materials, *J. Mater. Sci.* 28 (1993) 285–301. doi:10.1007/BF00357799.
- [28] Comitee on Polymer Science and Engineering, *Polymer Science and Engineering, 1°*, National Academy Press, New York, 1994.
- [29] J.D. Madden, Polypyrrole actuators: Properties and initial applications, in: *Electroact. Polym. Robot. Appl. Artif. Muscles Sensors, 2007*: pp. 121–152. doi:10.1007/978-1-84628-372-7_5.
- [30] R. Faez, C. Reis, P.S. De Freitas, O.K. Kosima, G. Ruggeri, M. De Paoli, *Polímeros Condutores, Química Nov. Na Esc.* 11 (2000) 13–18. doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
- [31] J. Anand, S. Palaniappan, D.. Sathyanarayana, Conducting polyaniline blends and composites, *Prog. Polym. Sci.* 23 (1998) 993–1018. doi:10.1016/S0079-6700(97)00040-3.
- [32] F. Yilmaz, *Polyaniline: Synthesis, Characterization, Solution Properties and Composites, (2007)*.
- [33] X.G. Li, M.R. Huang, J.F. Zeng, M.F. Zhu, The preparation of polyaniline waterborne latex nanoparticles and their films with anti-corrosivity and semi-conductivity, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 248 (2004) 111–120. doi:10.1016/j.colsurfa.2004.08.077.
- [34] M. Mravčáková, M. Omastová, P. Pötschke, A. Pozsgay, B. Pukánszky, J. Pionteck, Poly(propylene)/montmorillonite/polypyrrole composites: structure and conductivity, *Polym. Adv. Technol.* 17 (2006) 715–726. doi:10.1002/pat.765.
- [35] F.F. Fang, Y.D. Liu, H.J. Choi, Synthesis and electrorheological characteristics of polyaniline/organoclay nanoparticles via Pickering emulsion polymerization, *Smart Mater. Struct.* 19 (2010) 124002. doi:10.1088/0964-1726/19/12/124002.
- [36] S.A. Pande, D.S. Kelkar, D.R. Peshwe, Investigation of structural, morphological and dynamic mechanical properties of PANI filled Nylon 11, *Curr. Appl. Phys.* 7

- (2007) 590–595. doi:10.1016/j.cap.2006.12.004.
- [37] J. Laska, Conformations of polyaniline in polymer blends, *J. Mol. Struct.* 701 (2004) 13–18. doi:10.1016/j.molstruc.2004.05.021.
- [38] M.A. Hocevar, *Biossensores estruturados com polímeros condutores para detecção de glicose*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016. https://sabi.ufrgs.br/F/631CGT88LKEE5KIQN5XF8AYRQ7AKNABDU32PLLPL4VMT9PU7BI-11256?func=full-set-set&set_number=018566&set_entry=000003&format=999.
- [39] E. Armelin, R. Pla, F. Liesa, X. Ramis, J.I. Iribarren, C. Alemán, Corrosion protection with polyaniline and polypyrrole as anticorrosive additives for epoxy paint, *Corros. Sci.* 50 (2008) 721–728. doi:10.1016/j.corsci.2007.10.006.
- [40] N. Maráková, P. Humpolíček, V. Kašpárková, Z. Capáková, L. Martinková, P. Bober, M. Trchová, J. Stejskal, Antimicrobial activity and cytotoxicity of cotton fabric coated with conducting polymers, polyaniline or polypyrrole, and with deposited silver nanoparticles, *Appl. Surf. Sci.* 396 (2017) 169–176. doi:10.1016/j.apsusc.2016.11.024.
- [41] S. Geetha, C.R.K. Rao, M. Vijayan, D.C. Trivedi, Biosensing and drug delivery by polypyrrole, *Anal. Chim. Acta.* 568 (2006) 119–125. doi:10.1016/j.aca.2005.10.011.
- [42] A. Vaitkuvienė, V. Kasetė, J. Voronovic, G. Ramanauskaitė, G. Biziulevičienė, A. Ramanavičienė, A. Ramanavicius, Evaluation of cytotoxicity of polypyrrole nanoparticles synthesized by oxidative polymerization, *J. Hazard. Mater.* 250–251 (2013) 167–174. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.01.038.
- [43] J. Park, R.S. Lakes, *Biomaterials – An Introduction*, 3^o edição, Springer US, 2007.
- [44] *Biomaterials Market*, New York, 2018. <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biomaterials-393.html>.
- [45] D. Manzanedo, *Biorubber (PGS): Evaluation of a novel biodegradable elastomer*, MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY, 2015. doi:10.1002/ejoc.201200111.
- [46] N.K. Guimard, N. Gomez, C.E. Schmidt, Conducting polymers in biomedical engineering, *Prog. Polym. Sci.* 32 (2007) 876–921. doi:10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012.
- [47] B. Guo, P.X. Ma, Synthetic biodegradable functional polymers for tissue engineering: A brief review, *Sci. China Chem.* 57 (2014) 490–500. doi:10.1007/s11426-014-5086-y.
- [48] Rede Nacional de Terapia Celular., *Células tronco*, 2013. (n.d.). <http://celulastroncors.org.br/celulas-tronco-2/> (accessed July 3, 2018).

- [49] F. da C. Gonçalves, *Partículas de membrana e fatores bioativos de células estromais mesenquimais: terapia livre de células para doenças inflamatórias*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.
- [50] Q.-Z.Z. Chen, A. Bismarck, U. Hansen, S. Junaid, M.Q. Tran, S.E.S.E. Harding, N.N. Ali, A.R. Boccaccini, Characterisation of a soft elastomer poly(glycerol sebacate) designed to match the mechanical properties of myocardial tissue, *Biomaterials*. 29 (2008) 47–57. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.09.010.
- [51] L.L.Y. Chiu, M. Radisic, G. Vunjak-Novakovic, Bioactive Scaffolds for Engineering Vascularized Cardiac Tissues, *Macromol. Biosci.* 10 (2010) 1286–1301. doi:10.1002/mabi.201000202.
- [52] Y.-K. (Aden) Wu, J. Yu, The role of tissue engineering in cellular therapies for myocardial infarction: a review, *J. Mater. Chem. B*. 3 (2015) 6401–6410. doi:10.1039/C5TB00739A.
- [53] Toda Biologia.Com, Miocárdio, (n.d.). <https://www.todabiologia.com/dicionario/miocardio.htm> (accessed August 1, 2018).
- [54] E.M. Molinaro, L.F.G. Caputo, M.R.R. Amendoeira, *Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde*, Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.
- [55] R. Rai, M. Tallawi, A. Grigore, A.R. Boccaccini, Synthesis, properties and biomedical applications of poly(glycerol sebacate) (PGS): A review, *Prog. Polym. Sci.* 37 (2012) 1051–1078. doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.02.001.
- [56] Q. Liu, J. Wu, T. Tan, L. Zhang, D. Chen, W. Tian, Preparation, properties and cytotoxicity evaluation of a biodegradable polyester elastomer composite, *Polym. Degrad. Stab.* 94 (2009) 1427–1435. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.05.023.
- [57] Y. Wu, L. Wang, X. Zhao, S. Hou, B. Guo, P.X. Ma, Self-healing supramolecular bioelastomers with shape memory property as a multifunctional platform for biomedical applications via modular assembly, *Biomaterials*. 104 (2016) 18–31. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.07.011.
- [58] E.M. Jeffries, R.A. Allen, J. Gao, M. Pesce, Y. Wang, Highly elastic and suturable electrospun poly(glycerol sebacate) fibrous scaffolds, *Acta Biomater.* 18 (2015) 30–39. doi:10.1016/j.actbio.2015.02.005.
- [59] J.M. Kempainen, S.J. Hollister, Tailoring the mechanical properties of 3D-designed poly(glycerol sebacate) scaffolds for cartilage applications, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 94 (2010) 9–18. doi:10.1002/jbm.a.32653.
- [60] M. Souza, S. Tansaz, E. Zanotto, A. Boccaccini, Bioactive Glass Fiber-Reinforced PGS Matrix Composites for Cartilage Regeneration, *Materials (Basel)*. 10 (2017)

83. doi:10.3390/ma10010083.
- [61] Y. Yan, V. Sencadas, J. Zhang, G. Zu, D. Wei, Z. Jiang, Processing, characterisation and electromechanical behaviour of elastomeric multiwall carbon nanotubes-poly (glycerol sebacate) nanocomposites for piezoresistive sensors applications, *Compos. Sci. Technol.* 142 (2017) 163–170. doi:10.1016/j.compscitech.2017.02.007.
- [62] ANVISA, Lista positiva aditivos alimentares - ANVISA, (2003). <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388779/Resolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2Bda%2BDiretoria%2BColegiada%2B%2BRDC%2Bn%2B%2B45%2Bde%2B03%2Bde%2Bnovembro%2Bde%2B2010.pdf/c87cda6e-ba1a-4313-bb41-efaf50135eb0> (accessed February 22, 2018).
- [63] ANVISA, Lista positiva equipamentos médicos - ANVISA, (2001). http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_123_2001_COMP.pdf/60f13ce5-653f-4f64-9b07-0d8114868799?version=1.0.
- [64] Q. Liu, T. Tan, J. Weng, L. Zhang, Study on the control of the compositions and properties of a biodegradable polyester elastomer., *Biomed. Mater.* 4 (2009) 025015. doi:10.1088/1748-6041/4/2/025015.
- [65] S.J. Garcia, Effect of polymer architecture on the intrinsic self-healing character of polymers, *Eur. Polym. J.* 53 (2014) 118–125. doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.01.026.
- [66] E.M. Giroto, I.A. Santos, Medidas de resistividade elétrica DC em sólidos: Como efetuar corretamente, *Quim. Nova.* 25 (2002) 639–647. doi:10.1590/S0100-40422002000400019.
- [67] ISO Standards, ISO 37, (n.d.). <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:37:ed-6:v1:en>.
- [68] S. V. Carnevarolo, *Ciência dos Polímeros - um texto básico para tecnólogos e engenheiros*, ArtLiber, São Paulo, 2010.
- [69] K.A. Bochnie, P.C. Gregório, R.A.P. Maciel, Análise da viabilidade celular por MTT em células tratadas com toxinas urêmicas, *Cad. Da Esc. Saúde.* 1 (2016) 42–51.
- [70] M.J. Kim, M.Y. Hwang, J. Kim, D.J. Chung, Biodegradable and elastomeric poly(glycerol sebacate) as a coating material for nitinol bare stent, *Biomed Res. Int.* 2014 (2014). doi:10.1155/2014/956952.
- [71] Y. Wu, L. Wang, B. Guo, P. X Ma, Injectable biodegradable hydrogels and microgels based on methacrylated poly(ethylene glycol)-co-poly(glycerol sebacate) multi-block copolymers: synthesis, characterization, and cell encapsulation, *J. Mater. Chem. B.* 2 (2014) 3674–3685. doi:10.1039/C3TB21716G.

- [72] X. Li, A.T.L. Hong, N. Naskar, H.J. Chung, Criteria for quick and consistent synthesis of poly(glycerol sebacate) for tailored mechanical properties, *Biomacromolecules*. 16 (2015) 1525–1533. doi:10.1021/acs.biomac.5b00018.
- [73] W. Cai, L. Liu, Shape-memory effect of poly (glycerol-sebacate) elastomer, *Mater. Lett.* 62 (2008) 2175–2177. doi:10.1016/j.matlet.2007.11.042.
- [74] N. Masoumi, A. Jean, J.T. Zugates, K.L. Johnson, G.C. Engelmayr, Laser microfabricated poly(glycerol sebacate) scaffolds for heart valve tissue engineering, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 101 A (2013) 104–114. doi:10.1002/jbm.a.34305.
- [75] R. Rai, M. Tallawi, J.A. Roether, R. Detsch, N. Barbani, E. Rosellini, J. Kaschta, D.W. Schubert, A.R. Boccaccini, Sterilization effects on the physical properties and cytotoxicity of poly(glycerol sebacate), *Mater. Lett.* 105 (2013) 32–35. doi:10.1016/j.matlet.2013.04.024.
- [76] Q. Liu, M. Tian, R. Shi, L. Zhang, D. Chen, W. Tian, Structure and properties of thermoplastic poly(glycerol sebacate) elastomers originating from prepolymers with different molecular weights, *J. Appl. Polym. Sci.* 104 (2007) 1131–1137. doi:10.1002/app.25606.
- [77] B. Meissner, Theory of Bound Rubber.Pdf, *Rubber Chem. Technol.* 48 (1975) 810–818. doi:10.5254/1.3539688.
- [78] T.H. Qazi, R. Rai, D. Dippold, J.E. Roether, D.W. Schubert, E. Rosellini, N. Barbani, A.R. Boccaccini, Development and characterization of novel electrically conductive PANI-PGS composites for cardiac tissue engineering applications, *Acta Biomater.* 10 (2014) 2434–2445. doi:DOI 10.1016/j.actbio.2014.02.023.
- [79] K.C. Roberts-Thomson, P.M. Kistler, P. Sanders, J.B. Morton, H.M. Haqqani, I. Stevenson, J.K. Vohra, P.B. Sparks, J.M. Kalman, Fractionated atrial electrograms during sinus rhythm: Relationship to age, voltage, and conduction velocity, *Hear. Rhythm*. 6 (2009) 587–591. doi:10.1016/j.hrthm.2009.02.023.
- [80] M. Gajendiran, J. Choi, S.-J. Kim, K. Kim, H. Shin, H.-J. Koo, K. Kim, Conductive biomaterials for tissue engineering applications, *J. Ind. Eng. Chem.* 51 (2017) 12–26. doi:10.1016/j.jiec.2017.02.031.
- [81] T. Sudwilai, J.J. Ng, C. Boonkrai, N. Israsena, S. Chuangchote, P. Supaphol, Polypyrrole-coated electrospun poly(lactic acid) fibrous scaffold: Effects of coating on electrical conductivity and neural cell growth, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 25 (2014) 1240–1252. doi:10.1080/09205063.2014.926578.
- [82] A.K. Gaharwar, A. Patel, A. Dolatshahi-Pirouz, H. Zhang, K. Rangarajan, G. Iviglia, S.-R. Shin, M.A. Hussain, A. Khademhosseini, Elastomeric nanocomposite scaffolds made from poly(glycerol sebacate) chemically crosslinked with carbon nanotubes., *Biomater. Sci.* 3 (2015) 46–58. doi:10.1039/c4bm00222a.

- [83] B. Xu, Y. Li, C. Zhu, W.D. Cook, J. Forsythe, Q. Chen, Fabrication, mechanical properties and cytocompatibility of elastomeric nanofibrous mats of poly(glycerol sebacate), *Eur. Polym. J.* 64 (2015) 79–92. doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.12.008.
- [84] C.M. Roland, Reinforcement of Elastomers, in: *Des. Appl. Compos.*, 2016: pp. 1–9. doi:10.1016/B978-0-12-803581-8.02163-9.
- [85] X.J. Loh, A. Abdul Karim, C. Owh, Poly(glycerol sebacate) biomaterial: synthesis and biomedical applications, *J. Mater. Chem. B.* 3 (2015) 7641–7652. doi:10.1039/C5TB01048A.
- [86] S.F. Nagueh, G. Shah, Y. Wu, G. Torre-Amione, N.M.P. King, S. Lahmers, C.C. Witt, K. Becker, S. Labeit, H.L. Granzier, Altered titin expression, myocardial stiffness, and left ventricular function in patients with dilated cardiomyopathy, *Circulation.* 110 (2004) 155–162. doi:10.1161/01.CIR.0000135591.37759.AF.
- [87] Á. Conejero-García, H.R. Gimeno, Y.M. Sáez, G. Vilariño-Feltrer, I. Ortuño-Lizarán, A. Vallés-Lluch, Correlating synthesis parameters with physicochemical properties of poly(glycerol sebacate), *Eur. Polym. J.* 87 (2017) 406–419. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.01.001.
- [88] J.E. Mark, *Polymer Data Handbook*, Oxford University Press, Cincinnati, 1999.
- [89] M. Frydrych, S. Román, S. Macneil, B. Chen, Biomimetic poly(glycerol sebacate)/poly(L-lactic acid) blend scaffolds for adipose tissue engineering, *Acta Biomater.* 18 (2015) 40–49. doi:10.1016/j.actbio.2015.03.004.
- [90] B. Gyarmati, B.Á. Szilágyi, A. Szilágyi, Reversible interactions in self-healing and shape memory hydrogels, *Eur. Polym. J.* 93 (2017) 642–669. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.05.020.
- [91] E. Palleau, S. Reece, S.C. Desai, M.E. Smith, M.D. Dickey, Self-healing stretchable wires for reconfigurable circuit wiring and 3D microfluidics, *Adv. Mater.* 25 (2013) 1589–1592. doi:10.1002/adma.201203921.
- [92] Q.-Z.Z. Chen, H. Ishii, G.A. Thouas, A.R. Lyon, J.S. Wright, J.J. Blaker, W. Chrzanowski, A.R. Boccaccini, N.N. Ali, J.C. Knowles, S.E. Harding, An elastomeric patch derived from poly(glycerol sebacate) for delivery of embryonic stem cells to the heart, *Biomaterials.* 31 (2010) 3885–3893. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.01.108.