

Degradação Acelerada de Suportes de Poli(ϵ -Caprolactona) e Poli(D,L-Ácido Láctico-co-Ácido Glicólico) em Meio Alcalino

Samuel H. Barbanti

Faculdade de Engenharia Mecânica, UNICAMP
Centro de Ciências Médicas e Biológicas, PUC-SP

Cecília A. C. Zavaglia

Faculdade de Engenharia Mecânica, UNICAMP

Eliana A. R. Duek

Centro de Ciências Médicas e Biológicas, PUC-SP

Resumo: O estudo da degradação *in vitro* de polímeros bioreabsorvíveis em soluções alcalinas vem sendo proposto nos últimos anos como alternativa aos estudos tradicionais feitos em tampão fosfato. Este trabalho descreve a degradação acelerada de poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e poli(D,L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (50/50) (PLGA50), polímeros biodegradáveis e bioreabsorvíveis, amplamente estudados em aplicações biomédicas. Amostras foram preparadas pelo método de fusão seguido de injeção em molde cilíndrico (2 mm diâmetro), a 160 °C, e submetidas à degradação em soluções de NaOH em pH 12, 13 e 13,7 a 37 °C. Por meio da caracterização da variação da massa, morfologia e propriedades térmicas, por calorimetria exploratória diferencial, os resultados mostraram que as amostras de PCL são mais estáveis quando comparadas às de PLGA50. Pela taxa de variação das propriedades térmicas foi possível extrapolá-las em função do tempo em pH fisiológico, 7,4. Validado, o estudo da degradação acelerada em meio alcalino mostrou-se como uma técnica útil e de baixo custo para avaliar o comportamento em curtos períodos de degradação.

Palavras-chave: Polímeros bioreabsorvíveis, biodegradação, meio alcalino.

Accelerated Degradation of Poly(ϵ -Caprolactone) and Poly(D,L-Lactic Acid-co-Glycolic Acid) Scaffolds in Alkaline Medium

Abstract: The *in vitro* degradation studies of bioresorbable polymers in alkaline medium have been proposed as alternative to the traditional studies in phosphate buffer solution. This work describes the study of the accelerated degradation of the poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) (50/50) (PLGA50), a biodegradable and bioresorbable polymer widely studied for biomedical applications. Samples were prepared with the melt compression method in a cylindrical mold (2 mm diameter), at 160 °C, and submitted to the degradation in solutions of NaOH in pH 12, 13 and 13.7 at 37 °C. The results from the characterization of the mass variation, morphology and thermal properties, using differential scanning calorimetry, showed that the samples of PCL are stable compared to the one of PLGA50. The thermal properties could be extrapolated as a function of time in the physiological pH, 7.4. Once validated, the accelerated study of degradation in alkaline medium proved to be a useful, low cost technique for evaluation of samples with short degradation times.

Keywords: Bioresorbable polymers, degradation, alkaline medium.

Introdução

Polímeros bioreabsorvíveis como implantes temporários ganharam uma importância crescente na área médica e odontológica sendo utilizados em um amplo número de aplicações no corpo humano, tais como as suturas cirúrgicas^[1], sistemas para liberação controlada de drogas^[2], *stents*^[3], dispositivos ortopédicos^[4] e como suporte na engenharia de tecidos^[5].

Dentre os principais polímeros biodegradáveis e bioreabsorvíveis encontram-se os poliésteres alifáticos sin-

téticos, dos quais fazem parte o poli(ácido glicólico) (PGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli(ϵ -caprolactona) (PCL), seus copolímeros e outros. Exposto aos fluidos aquosos do corpo, inicialmente os materiais sofrem hidratação. Com a presença das moléculas de água, o processo de degradação dá-se por meio da hidrólise das ligações ésteres, originando produtos na forma de oligômeros, ou monômeros, solúveis e não tóxicos. A degradação prossegue então por processos biologicamente ativos ou pela clivagem hidrolítica passiva^[6,7].

Autor para correspondência: Samuel H. Barbanti, Laboratório de Biomateriais, Centro de Ciências Médicas e Biológicas (CCMB), PUC, Praça Dr. José Ermírio de Moraes 290, CEP: 18030-230, Sorocaba, SP. E-mail: sbarbanti@hotmail.com

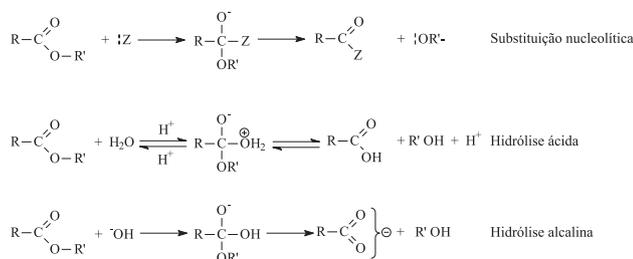


Figura 1. Mecanismos de reação de substituição nucleofílica, reação de hidrólise ácida e hidrólise alcalina dos poliésteres^[10].

Buscando uma avaliação inicial do comportamento desses materiais, a degradação *in vitro* mostra-se como uma boa alternativa quando comparada aos estudos *in vivo*, fundamentais e necessários na sua avaliação como biomateriais. Nos testes *in vitro*, os custos são menores, o processo pode ser acelerado e as condições do ensaio, como temperatura, pH, produtos e subprodutos de degradação, podem ser quantificadas e monitoradas^[8]. Aplicados aos polímeros bioreabsorvíveis os ensaios são, na grande maioria, feitos em solução tampão fosfato, pH 7,4, simulando as condições de osmolaridade e pH fisiológico^[9].

A degradação *in vitro* em soluções de NaOH vem sendo proposta nos últimos anos como uma alternativa aos estudos tradicionais em meio de tampão fosfato. Conforme mostra a Figura 1, a ligação éster apresenta uma típica reação de substituição nucleofílica, com o ataque no carbono carbonílico e conseqüente substituição do grupo -OR' por -OH, -OR'' ou -NH₂. Catalisada por meios ácidos ou básicos, a hidrólise alcalina dos ésteres mostra-se mais rápida quando comparada ao meio ácido^[10]. A presença do íon OH⁻, um reagente fortemente nucleofílico, faz a reação ser irreversível, pois o íon carboxilato é estabilizado por ressonância, tendo pouca tendência a reagir com os álcoois terminais formados^[11]. Dessa forma, a hidrólise alcalina de poliésteres não só permite acelerar o processo de degradação desses materiais, como vem sendo utilizada para simular condições específicas do ambiente bioquímico celular pela presença de radicais livres como a hidroxila, presente nos processos de reação de corpo estranho quando implantados^[12,13].

Por meio da degradação *in vitro* de amostras de PCL e PLGA (50/50) em soluções de NaOH, este trabalho busca prever de forma acelerada o comportamento da variação de massa, das propriedades térmicas e morfológicas em pH fisiológico, 7,4.

Experimental

Preparo das amostras

Amostras de polímeros bioreabsorvíveis foram preparadas utilizando-se poli(D,L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (50/50) (PLGA50) (Mw 65.000 g/mol), fornecido pela Purac (Groningen, Holanda) e poli(ε-caprolactona) (PCL) (Mw 100.000 g/mol), fornecido pela Sigma (St. Louis, EUA). Utilizando-se uma mini injetora Mini Max Molder (LMM-2017), com sistema de injeção manual, os materiais foram fundidos

a 160 °C durante aproximadamente 3 min. Após a fusão injetou-se com pressão manual a massa polimérica no molde cilíndrico de 2 mm de diâmetro.

Caracterização

A caracterização das amostras foi realizada pela variação da massa normalizada, obtida pela relação entre a massa inicial e a massa experimental, em oito réplicas. A morfologia da superfície das amostras foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando-se microscópio Jeol JXA 840A, com tensão de operação em 10 kV. As amostras foram fraturadas em N₂ líquido e recobertas com ouro-paládio com metalizador Sputer Coater (Bal-Tec – SCD 050) com corrente de 40 mA durante 200 s.

Análises de DSC (STA 409C da Netzsch – Geratebau GmbH Thermal Analysis) foram realizadas utilizando dois aquecimentos no intervalo de varredura de 25 a 200 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, sob atmosfera de Hélio. Foram avaliados os valores da temperatura de transição vítrea (T_g), cristalização (T_c), fusão (T_m), variação da entalpia de cristalização (ΔH_c) e fusão (ΔH_m). Para o cálculo do grau de cristalinidade das amostras de PCL considerou-se a relação: Grau de Cristalinidade = (ΔH_m - ΔH_c)/ΔH_{100%}, onde ΔH_m = entalpia de fusão experimental (J/g), ΔH_c = entalpia de cristalização experimental (J/g) e ΔH_{100%} = 139,5 J/g (entalpia de fusão para um polímero teoricamente 100% cristalino)^[14].

Degradação *in vitro* em NaOH

Após o preparo e caracterização inicial, as amostras foram submetidas ao estudo da degradação *in vitro* em soluções aquosas de hidróxido de sódio (NaOH) (Merck) com concentrações 0,01 mol/L (pH = 12,0), 0,1 mol/L (pH = 13,0), 0,5 mol/L (pH = 13,7) e água destilada para controle. O acondicionamento das amostras foi feito em tubos de ensaio mantidos em banho a 37 °C ± 0,5 °C. Após períodos de 1, 2, 4, 8 e 15 semanas para PCL e 1, 2 e 3 semanas para PLGA50, as amostras foram retiradas, lavadas abundantemente com água destilada, posteriormente com etanol, secas por aproximadamente 2 h em dessecador a vácuo, e caracterizadas pelas técnicas descritas anteriormente.

Resultados e Discussão

Variação de massa

A variação da massa é comumente utilizada na caracterização da degradação de polímeros bioreabsorvíveis^[15]. A massa normalizada em função do tempo de imersão em soluções alcalinas mostra um comportamento distinto entre os materiais: as amostras de PCL (Figura 2a) são significativamente mais estáveis quando comparadas às de PLGA50 (Figura 2b). Não há variação significativa da massa das amostras de PCL imersas em água destilada. Nas amostras de PLGA50 o decaimento da massa ocorre a partir da primeira semana, com uma relação diretamente proporcional à concentração do meio alcalino.

Buscando estabelecer o mecanismo de degradação *in vitro* de amostras de poli(ácido láctico) e PLGA (50/50) na presença de H^+ e OH^- , Jong *et al.*^[16], descrevem a reação de hidrólise através de um modelo de reação secundária de eliminação de monômeros. Após o rompimento da ligação éster, o terminal álcool, das macromoléculas resultantes da degradação, reage com o meio alcalino, promovendo a eliminação de um monômero lactato ou glicolato, conforme a composição do material. Este mecanismo sugere ocorrer de forma semelhante ao descrito pela degradação térmica das amostras de PCL^[17].

Catalisada pela presença da hidroxila, a cinética da reação de hidrólise, e conseqüente perda de massa, possui uma relação direta entre a concentração de OH^- e os grupamentos ésteres do material, em menor concentração nas cadeias de PCL.

Estabelecendo-se uma variação linear da variação da massa normalizada em função do tempo, a taxa de decaimento ($semanas^{-1}$) é dada pelo coeficiente angular da reta de tendência. Representada de forma gráfica (Figuras 2c e 2d), a curva da taxa de variação da massa em função do pH permite a interpolação dos valores em pH 7,4, fornecendo uma

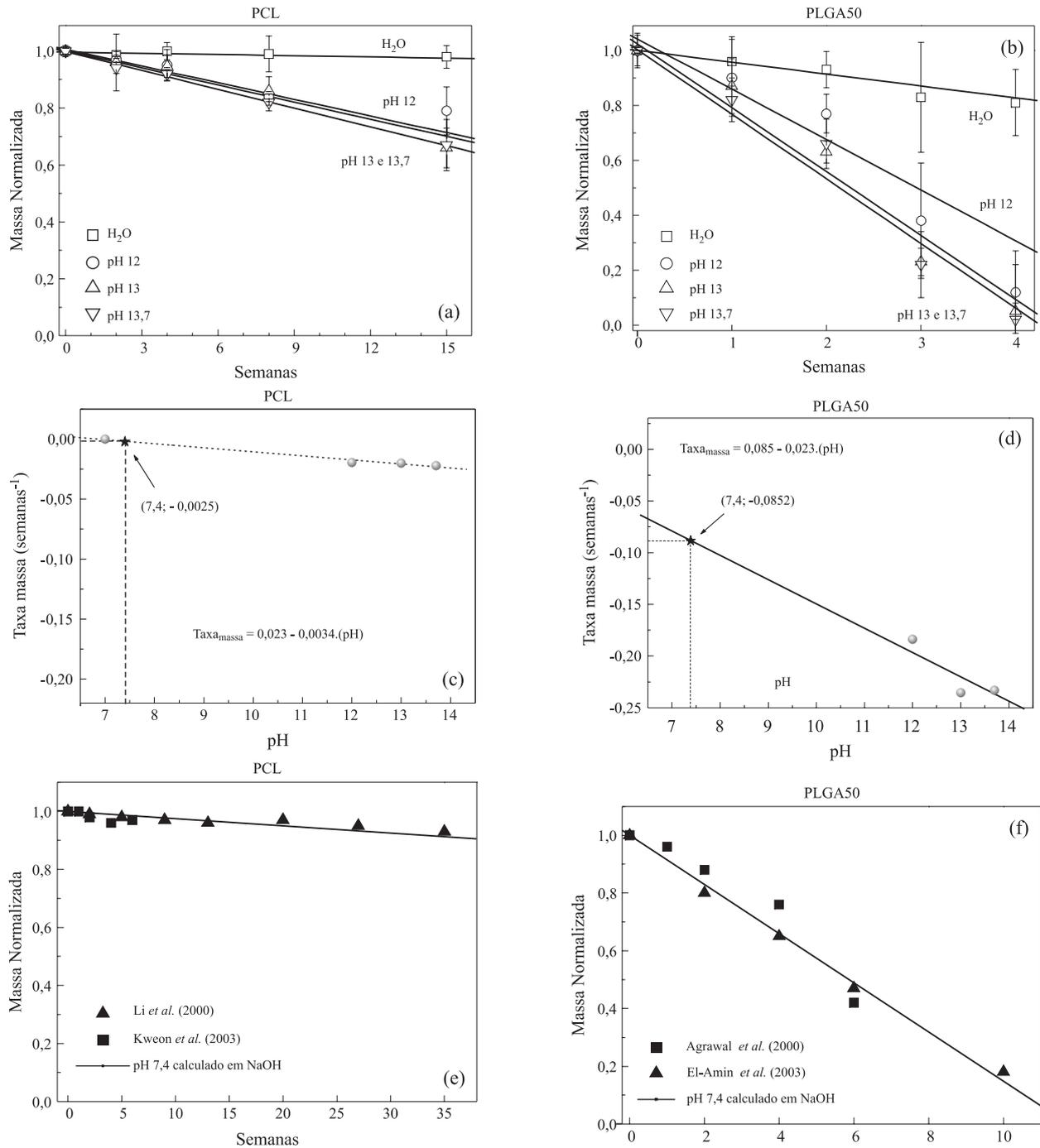


Figura 2. Massa normalizada na degradação alcalina de amostras de PCL e PLGA50. (a), (b) Variação da massa normalizada em soluções de NaOH (pH 12, 13 e 13,7). (c), (d) Taxa de decaimento da massa normalizada em função do pH. (e), (f) Variação da massa em pH 7,4 comparada aos dados da literatura.

estimativa da degradação em meio fisiológico. A interpolação em pH = 7,4 para amostras de PLGA50 mostra uma taxa de decaimento em $-0,0852$ semanas⁻¹ e $-0,0025$ semanas⁻¹ para amostras de PCL, indicando que as amostras do copolímero possuem uma velocidade de perda de massa 40 vezes superior às de PCL.

Com base na taxa de decaimento em pH 7,4 obtido pelo estudo acelerado em meio alcalino, o decaimento da massa foi extrapolado e apresentado em função do tempo (Figuras 2e e 2f). Os resultados desta predição da perda de massa mostram-se semelhantes aos estudos descritos por Li *et al.*^[18], Kweon *et al.*^[19], Agrawal *et al.*^[20] e El-Amin *et al.*^[21] na degradação em tampão fosfato, pH 7,4. Apesar do ambiente químico distinto e, do meio fisiológico apresentar tamponamento, a hidrólise dos polímeros bioreabsorvíveis vem sendo descrita com mecanismos semelhantes nesses ambientes^[13]. Os trabalhos comparados sugerem que a estimativa da perda de massa em pH 7,4 obtida pela degradação acelerada proposta neste trabalho possui validação.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises térmicas de DSC demonstram que o PCL é um material semicristalino. O material não envelhecido apresenta picos endotérmicos de fusão (T_m) entre 63 e 64 °C, no primeiro aquecimento e picos de cristalização (T_c) em 25 °C durante resfriamento padronizado (10 °C/min). Num segundo aquecimento, foi possível obtermos a T_g das amostras de PCL em valores de -63 °C. Prosseguindo o segundo aquecimento, obteve-se novo pico de fusão em 56 °C. Por outro lado, termogramas referentes às amostras de PLGA50 são típicos de materiais amorfos, identificado pela presença de T_g (44 °C no primeiro e 42 °C no segundo aquecimento) e pela ausência de T_m.

Durante o período de 15 semanas de degradação *in vitro*, amostras de PCL imersas em água destilada não apresentaram variações significativas nos valores de T_g e T_m. Nas soluções alcalinas o decaimento de T_g foi proporcional à concentração da solução de NaOH (Figura 3a), mostrando serem semelhantes nos valores de pH entre 13 e 13,7 (decaimento de aproximadamente 3 °C). Nas amostras de PLGA50 a análise da variação das propriedades térmicas foram feitas usando-se os valores do segundo aquecimento, pois foi observada a presença da relaxação de tensão molecular no primeiro aquecimento, podendo deslocar o valor da temperatura na curva de DSC^[22]. O decaimento de T_g durante o processo de degradação mostra-se acentuado com 3 semanas de degradação (Figura 3b).

A diminuição dos valores de T_g tem sido atribuída fundamentalmente a dois fatores: diminuição da massa molar e, o conseqüente aumento da flexibilidade das cadeias, e também pela presença da água proveniente do meio de imersão, atuando como um agente plastificante no material^[23].

Obtidas pela regressão linear da variação de T_g em função do tempo de degradação, a taxa de decaimento de T_g (°C/semana) correlacionada com o pH é apresentada pelas Figuras 3c e 3d. A interpolação do valor em pH 7,4 nos permite inferir sobre o comportamento de decaimento para valores em pH

fisiológico. Obtido o valor de $-0,011$ °C/semana em pH 7,4 para as amostras de PCL, os valores são apresentados em comparação aos dados descritos por Coombes *et al.*^[24] e Barbanti *et al.*^[25] com longo tempo de degradação em tampão fosfato (Figura 3e). Nas amostras de PCL, o comportamento de T_g mostra não ter um padrão linear que permita predizer sobre longos tempos de degradação (Figura 3e). A comparação entre os valores apresentados neste trabalho com a literatura fica prejudicada, ora pela ausência de dados específicos na bibliografia com longos tempos de degradação de amostras de PCL, ora pela grande variação de meios, tipos de amostras de PCL e métodos de preparação nos estudos de degradação *in vitro*. Nas amostras de PLGA50, os dados do decaimento de T_g extrapolados em pH 7,4 comparados aos dados de Barbanti *et al.*^[25,26] e Deng *et al.*^[27], mostram que a curva obtida acompanha a tendência de decaimento (Figura 3f).

A avaliação de T_m e do grau de cristalinidade das amostras foram realizadas de maneira análoga às descritas anteriormente. Nas amostras de PCL, T_m apresenta uma tendência de aumento durante o processo de degradação e demonstra ser mais acentuado com o aumento da concentração de NaOH (Figuras 4a e 4c). Apesar do aumento de T_m não demonstrar uma boa correlação linear (linha contínua em comparação à linha tracejada), os valores foram correlacionados para padronização das análises. Em estudos da degradação de fibras de polímeros bioreabsorvíveis em meio alcalino NaOH, Yuan *et al.*^[28] atribuem o aumento na temperatura de fusão à mobilidade das cadeias de menor massa molar e ao conseqüente aumento na “perfeição” dos cristais. A comparação dos resultados obtidos pela degradação *in vitro* em NaOH, e calculado para pH 7,4, mostra valores intermediários entre o estudo da degradação em tampão fosfato apresentados por Barbanti *et al.*^[25] e os dados de Coombes *et al.*^[24] (Figura 4e).

Conforme descrito anteriormente, o grau de cristalinidade das amostras de PCL foi obtido pela relação entre as variações de entalpia. Com exceção das amostras imersas em água destilada, os resultados indicam um aumento do percentual do grau de cristalinidade (Figura 4b) diretamente proporcional ao aumento da concentração da solução de NaOH. Não há diferenças significativas entre as amostras imersas em pH 13 e 13,7.

A literatura tem atribuído o aumento do grau de cristalinidade dos polímeros bioreabsorvíveis semicristalinos à influência da disposição das cadeias poliméricas na taxa de absorção de água pelo material. O primeiro estágio de degradação consiste na penetração e difusão das moléculas de água nas regiões amorfas do material, e subseqüente cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas^[23]. O segundo estágio se dá quando parte considerável da região amorfa está degradada, e prossegue no centro dos domínios cristalinos. Dessa forma, há um aumento porcentual da porção cristalina e pela formação de novos cristais, através do rearranjo das cadeias de menor massa molar, originadas no processo de degradação^[23,26].

Utilizando-se a mesma metodologia empregada anteriormente foi obtida, pela interpolação dos dados, a taxa de aumento do grau de cristalinidade em função do pH das amostras

(Figura 4d). A interpolação dos dados mostra uma taxa de acréscimo de 0,077 %/semana em pH 7,4. Comparado com os resultados de degradação em tampão fosfato^[25] e com os valores publicados por Coombes *et al.*^[24], o modelo proposto neste trabalho apresenta um comportamento mais próximo ao descrito por Coombes. A validade dos resultados poderia ser melhor avaliada pela presença de um maior número de amostras

em diferentes tempos de coleta, ou pela análise de outros valores de pH, concentrados neste trabalho entre 12 e 13,7.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura das amostras de PLGA50 e PCL estão representadas pela Figura 5. Devido ao grande número de amostras e micrografias optou-se por

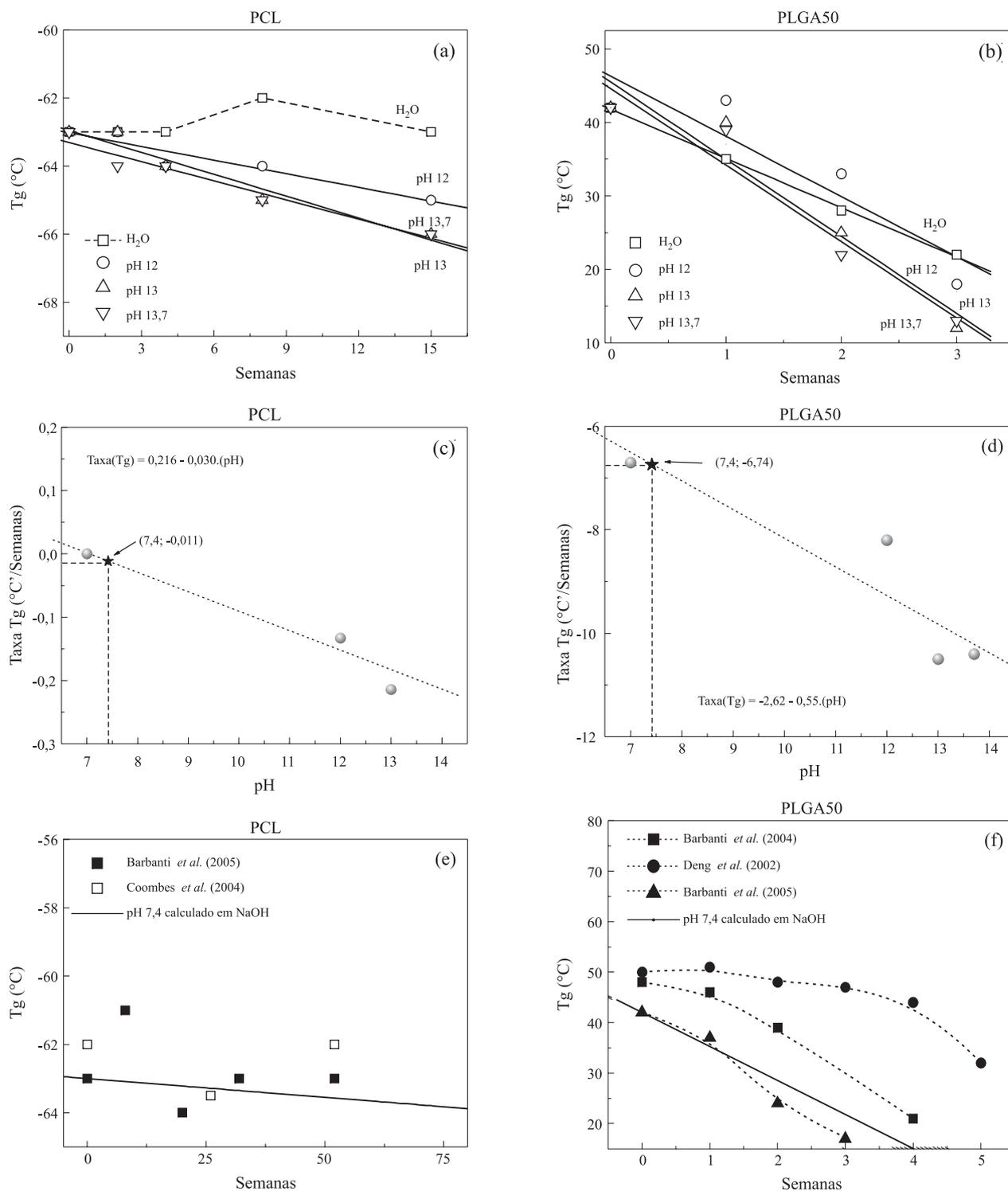


Figura 3. Temperatura de transição vítrea (Tg) na degradação alcalina de amostras de PCL e PLGA50. (a), (b) Variação de Tg em soluções de NaOH (pH 12, 13 e 13,7). (c), (d) Taxa de decaimento de Tg em função do pH. (e), (f) Decaimento de Tg em pH 7,4 comparado aos dados da literatura.

apresentar as que melhor representavam o processo de alteração morfológica.

A Figura 5a apresenta amostras de PLGA50 previamente à degradação. O material mostra-se com morfologia densa, compacta, sem a presença de poros em sua extensão. Durante o processo de degradação *in vitro*, amostras com uma semana de degradação, em pH 13, apresentaram erosão

superficial (Figura 5b), gradativa e proporcionalmente ao tempo de imersão. A erosão interna pode ser observada no interior das amostras (Figura 5c), sendo mais acentuada no período de 3 semanas (Figura 5d).

O mecanismo da degradação *in vitro* dos polímeros bioreabsorvíveis tem sido avaliado nos últimos anos e demonstra ser um processo heterogêneo na extensão do material. Den-

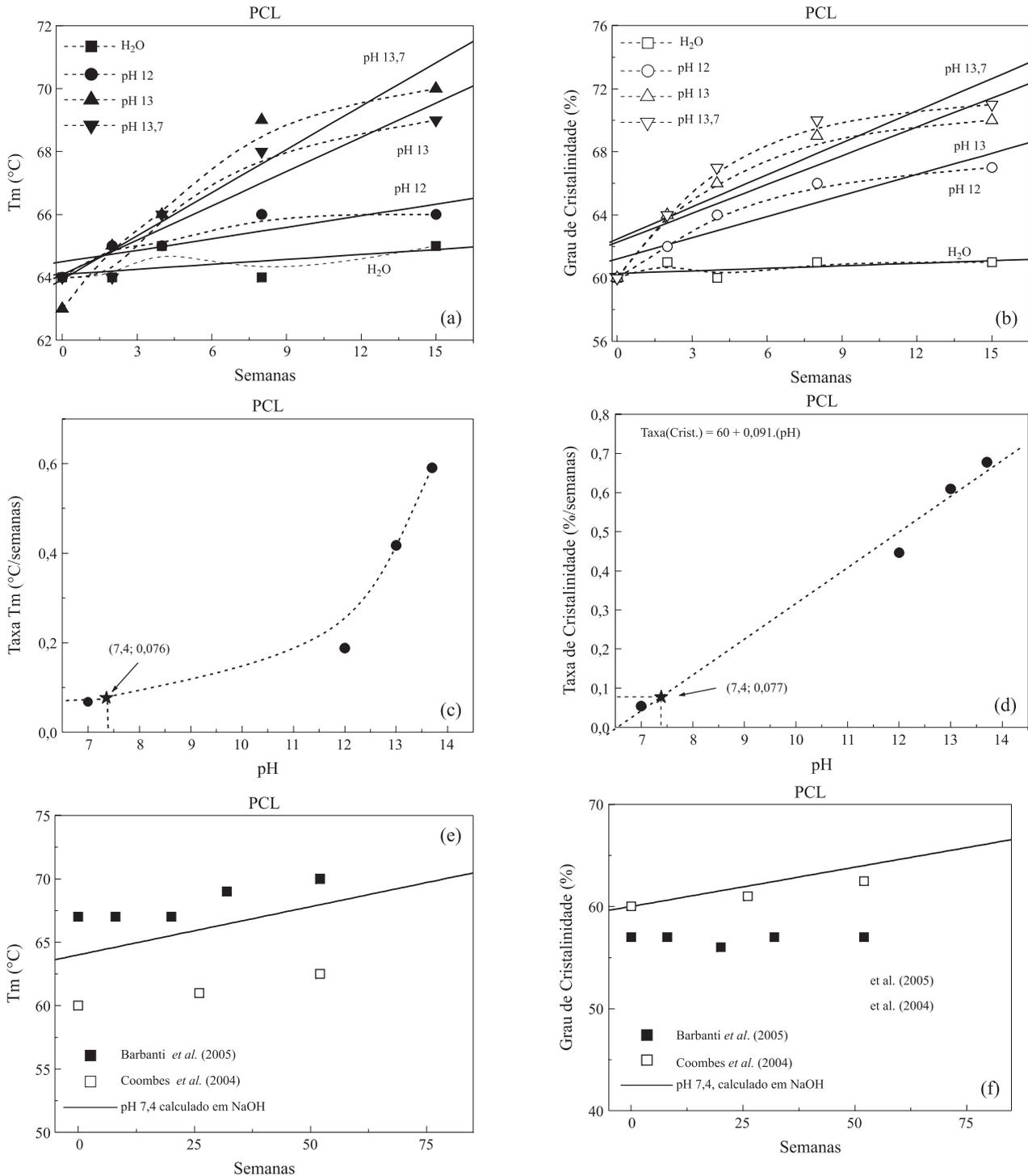


Figura 4. Temperatura de fusão (Tm) e Grau de Cristalinidade (%) na degradação alcalina de amostras de PCL e PLGA50. (a), (b) Variação de Tm e Grau de Cristalinidade em soluções de NaOH (pH 12, 13 e 13,7). (c), (d) Taxa de acréscimo de Tm e Grau de Cristalinidade em função do pH. (e), (f) Acréscimo de Tm e Grau de Cristalinidade em pH 7,4 comparado aos dados da literatura.

tre os produtos da hidrólise das ligações ésteres, a presença de terminais ácidos catalisa a reação de degradação. É o chamado efeito autocatalítico dos poliésteres bioreabsorvíveis. O processo é homogêneo inicialmente, gerando oligômeros solúveis em água em toda a extensão do material. Os produtos presentes na superfície da matriz são difundidos para o meio, entretanto, a baixa taxa de difusão dos produtos da reação no interior do material gera um acúmulo de ácidos, fazendo com que estruturas densas tenham uma erosão inicial na superfície, mas apresentando uma degradação mais acentuada no centro^[29]. Em nosso estudo, o efeito autocatalítico das amostras de PLGA50 é também verificado na degradação em meio alcalino.

As amostras de PCL durante o processo de degradação mostraram-se mais estáveis quando comparadas às de PLGA50. A morfologia das amostras não degradadas (Figura 5e) é semelhante às amostras de PLGA50: densas, sem a presença de poros na superfície e no interior do material. Com 4 semanas de degradação *in vitro*, em pH 13, (Figura 5f), as amostras apresentam uma degradação superficial, verificada também com 8 semanas (Figura 5g) de degradação. Em 8 semanas, a degradação é superficial, entretanto em maior intensidade. Após 15 semanas de degradação em meio alcalino, as amostras de PCL apresentaram-se com diversas zonas de erosão (Figura 5h).

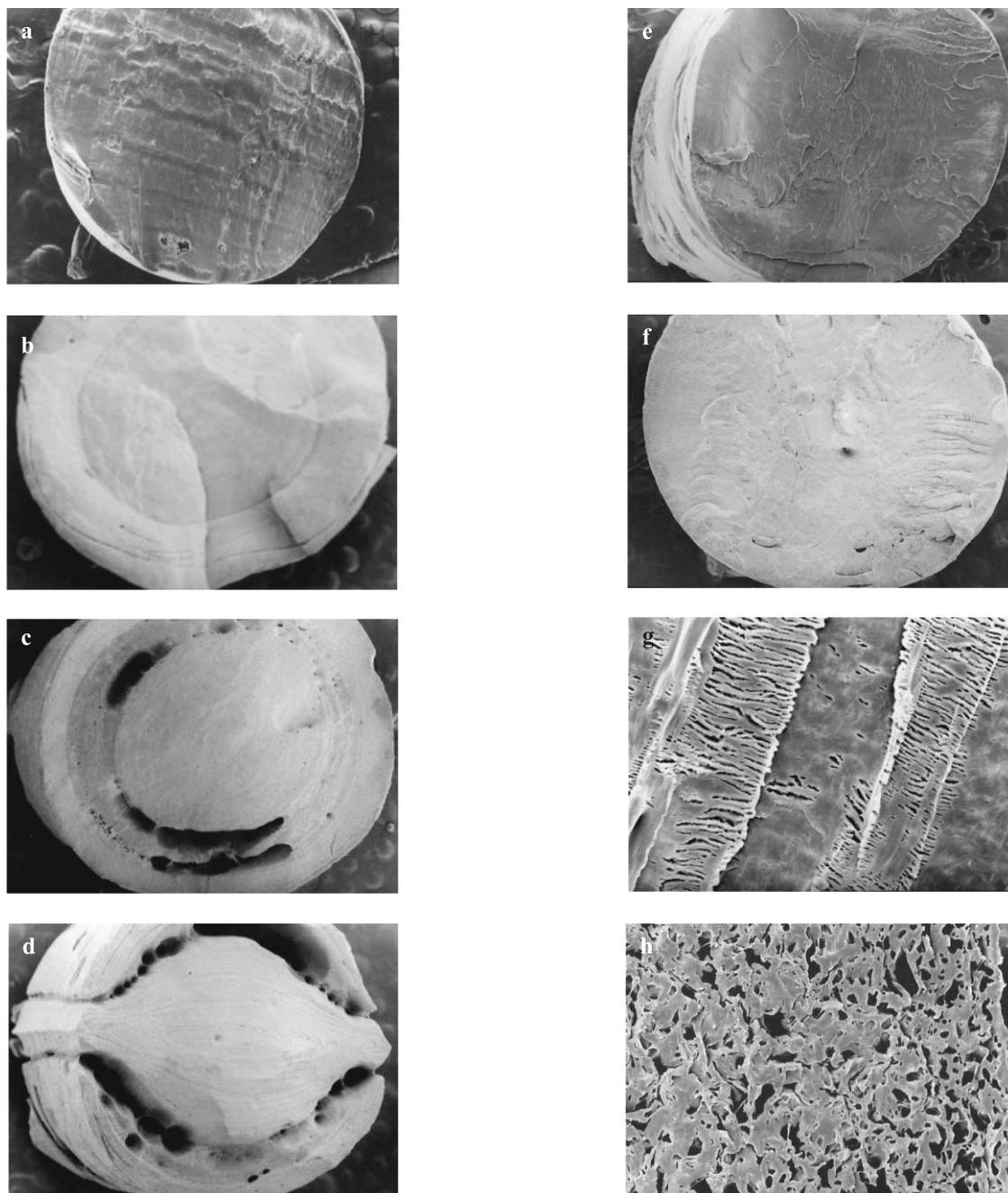


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da seção transversal de amostras de PLGA50 e PCL na degradação em NaOH, pH = 13. Tempos de degradação: (a, e) 0 semana; (b) 1 semana; (c) 2 semanas; (d) 3 semanas; (f) 4 semanas; (g) 8 semanas; (h) 15 semanas.

A análise das amostras por microscopia eletrônica de varredura no estudo da degradação *in vitro* em meio alcalino mostrou-se com variação dos resultados significativa, e em alguns grupos, conflitantes com os resultados de variação de massa. Entretanto, os resultados morfológicos em comparação com a literatura têm mostrado aplicações promissoras na modificação da superfície de polímeros bioreabsorvíveis tratados com NaOH. Num recente estudo, Park *et al.*^[30] avaliaram suportes de PLGA (50/50) tratados previamente com NaOH nas funções celulares de condrócitos. Amostras porosas foram preparadas pelo processo de evaporação do solvente com adição e lixiviação do sal (partículas superiores a 250 µm), com imersão em solução 1 mol/L de NaOH por 10 min. A caracterização do material mostrou um aumento significativo da porosidade e da área superficial. Usando as amostras como suporte para cultura de condrócitos, o estudo mostrou um aumento na adesão, proliferação e síntese de matriz extracelular, como o colágeno total e glicosaminoglicanas (GAGs) durante 7 dias de cultura. Gao *et al.*^[31] mostraram que o tratamento de amostras de PGA com NaOH promove a exposição dos terminais carboxi-ácidos na superfície do material, aumentando assim a sua hidrofiliabilidade.

Conclusões

O estudo da degradação *in vitro* em meio alcalino representa uma alternativa aos tradicionais estudos de degradação com tampão fosfato. O baixo custo do ensaio e a possibilidade de variação das concentrações tornam seu uso versátil na avaliação das propriedades dos suportes de polímeros bioreabsorvíveis. O método proposto neste trabalho buscou suprir a necessidade de uma avaliação mais rápida do processo de degradação de materiais com longo tempo de degradação, como o PCL. As predições da variação de massa e das propriedades térmicas das amostras de PCL mostraram-se mais próximas da validação quando comparadas às de amostras de PLGA50.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pelo suporte financeiro do trabalho.

Referências Bibliográficas

1. Kulkarni, R. K.; Pani, K. C.; Leuman, C. & Leonard, F. – Arch. Surg., 93, p.839 (1966).
2. Liu, T. V. & Bhatia S. N. – Adv. Drug Deliver. Rev., 56, p.1635 (2004).
3. Valimaa T. & Laaksovirta S. – Biomaterials, 25, p.1225 (2004).
4. Ambrose C. G. & Clanton, T. O. – Ann. Biomed. Eng., 32, p.171 (2004).
5. Barbanti, S. H.; Zavaglia, C. A. C. & Duek, E. A. R. – Pol. Ciên. Tecno., 1, p.13 (2005).
6. Elke, M.; Rolf-Joachim, M. & Wolf-Dieter, D. – Polym. Degrad. Stab., 80, p.485 (2003).
7. Huang, M. H.; Li, S.; Hutmacher, D. W.; Schantz, J. T.; Vacanti, C. A.; Braud, C. & Vert, M. – J. Biomed. Mater. Res., 69A, p.417 (2004).

8. Luciano, R. M.; Zavaglia, C. A. C.; Duek, E. A. R. & Alberto-Rincon, M. C. – J. Mater. Sci. Mater. Med., 14, p.87 (2003).
9. Laine, P.; Kontio, R.; Lindqvist, C. & Suuronen, R. – Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 33, p.240 (2004).
10. Mancini, S. D. & Zanin, M. – Pol. Ciên. Tecno., 12, p.34 (2002).
11. Morrison, R. & Boyd, R. – “Química Orgânica”, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa (1994).
12. Huang, W.; Carlsen, B.; Wulur, I.; Rudkin, G.; Ishida, K.; Wu, B.; Yamaguchi, D. T. & Miller, T. A. – Exp. Cell Res., 299, p.325 (2004).
13. Cam, D., Hyon, S. H. & Ikada, Y. – Biomaterials, 16, p.833 (1995).
14. Eldsäter, C.; Erlandsson, B.; Renstad, R.; Albertsson, A. -C. & Karlsson, S. – Polymer, 41, p.1297 (2000).
15. Hedberg, E. L.; Shih, C. K.; Lemoine, J. J.; Timmer, M. D.; Liebschner, M. A.; Jansen, J. A. & Mikos, A. G. – Biomaterials, 26, p.3215 (2005).
16. Jong, S. J.; Arias, E. R.; Rijkers, D. T. S.; van Nostrum, C. F.; Kettenes-van den Bosch, J. J. & Hennin, W. E. – Polymer, 42, p.2795 (2001).
17. Sivalingam, G.; Karthik, R. & Madras, G. – J. Analy. App. Pyroly., 70, p.631 (2003).
18. Li, S. M.; Chen, X. H.; Gross, R. A. & McCarthy, S. P. – J. Mater. Sci. Mater. Med., 11, p.227 (2000).
19. Kweon, H. Y.; Yoo, M. K.; Park, I. K.; Kim, T. H.; Lee, H. C.; Lee, H-S; Oh, J-S; Akaike, T. & Cho, C-S. – Biomaterials, 24, p.801 (2003).
20. Agrawal, C. M.; McKinney, J. S.; Lanctot, D. & Athanasiou, K. A. – Biomaterials, 21, p.2443 (2000).
21. El-Amin, S. F.; Lu, H. H.; Khan, Y.; Burems, J.; Mitchell, J.; Tuan, R. S. & Laurencin, C. T. – Biomaterials, 24, p.1213 (2003).
22. Lucas, E. F.; Soares, B. G. & Monteiro, E. – “Caracterização de polímeros”, e-papers, Rio de Janeiro (2001).
23. Duek, E. A. R.; Zavaglia, C. A. C. & Belangero, W. D. – Polymer, 40, p.6465 (1999).
24. Coombes, A. G. A.; Rizzi, S. C.; Williamson, M.; Barralet, J. E.; Downes, S. & Wallace, W. A. – Biomaterials, 25, p.315 (2004).
25. Barbanti, S. H. – “Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos”, Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Brasil (2005).
26. Barbanti, S. H.; Santos Jr., A. R.; Zavaglia, C. A. C. & Duek, E. A. R. – J. Mater. Sci. Mater. Med., 15, p.1315 (2004).
27. Deng, M. & Urich, K. E. – J. Mater. Sci. Mater. Med., 13, p.1091 (2002).
28. Yuan, X.; Mak, A. F. T. & Yao, K. – Polym. Degrad. Stab., 79, p.45 (2003).
29. Li, S. – J. Biomed. Mater. Res., 48, p.342 (1999).
30. Park, G. E.; Pattison, M. A.; Park, K. & Webster, T. J. – Biomaterials, 26, p.3075 (2005).
31. Gao, J.; Niklason, L. & Langer, R. – J. Biomed. Mater. Res., 42, p.417 (1998).

Enviado: 21/11/05

Reenviado: 14/03/06

Aprovado: 20/03/06