

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em  
Medicamentos

Ingrid Suely Melo de Lima

**DISPOSITIVOS NANO E MICROESTRUTURADOS UTILIZADOS COMO  
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS**

RECIFE - PE

2017

Ingrid Suely Melo de Lima

**DISPOSITIVOS NANO E MICROESTRUTURADOS UTILIZADOS COMO  
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos da Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr. Patrícia Lopes Barros de Araújo

RECIFE - PE  
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

L732d Lima, Ingrid Suely Melo de  
Dispositivos nano e microestruturados utilizados como sistemas  
de liberação controlada de substâncias bioativas / Ingrid Suely Melo  
de . – 2017.  
252 f. : il.

Orientadora: Patrícia Lopes Barros de Araújo.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e  
Inovação Tecnológica em Medicamentos, Recife, BR-PE, 2017.  
Inclui anexo(s) e referências.

1. Liberação controlada de bioativos 2. Polímeros 3. Micelas  
4. Nanofibras 5. Eletrofição 6. Radioesterilização 7. Gama  
I. Araújo, Patrícia Lopes Barros de, orient. II. Título

CDD 540

Ingrid Suely Melo de Lima

**DISPOSITIVOS NANO E MICROESTRUTURADOS UTILIZADOS COMO  
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS**

TESE AVALIADA E APROVADA PELA BANCA EM:

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dr. Patrícia Lopes Barro de Araújo

Departamento de Engenharia Biomédica - UFPE

**Orientadora**

---

Prof. Dr. Elmo Silvano Araújo

Departamento de Energia Nuclear – UFPE

**Membro Externo - 1º Examinador**

---

Prof. Dr. Lindomar José Pena

Departamento de Virologia e Terapia Experimental – UFPE

**Membro Interno - 2º Examinador**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr. Márcia Nascimento

Departamento de Antibióticos – UFPE

**Membro Externo - 3º Examinador**

---

Prof. Dr. Ronaldo Nascimento de Oliveira

Departamento de Química – UFRPE

**Membro Interno - 4º Examinador**

---

*Ao meu pai, minha mãe meus avós  
e amigos, por todo carinho, apoio e  
incentivo.*

## **AGRADECIMENTOS**

*A Deus, por sempre me dar força e calma para passar pelos obstáculos encontrados no meio do caminho.*

*À minha professora e orientadora Dr. Patrícia Lopes Barros de Araújo, por aceitar a realizar a orientação desta tese, pela confiança depositada em mim e pelo incentivo.*

*Ao Prof. Dr. Elmo Silvano de Araújo, por ter me apresentado à minha orientadora, por dispor o laboratório de Polímeros e Nanoestruturas (LPN) para que fossem realizados os experimentos, e pelo incentivo, auxílio e esclarecimento que foram fundamentais para construção deste trabalho.*

*Às Prof.<sup>as</sup> Kátia Aparecida da Silva Aquino e Renata Francisca dos Santos, pelas análises realizadas que compõem este trabalho e sugestões, pelas palavras de apoio e carinho.*

*Aos Profs. Ronaldo Nascimento e Celso Amorim por colocarem à disposição o Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos (LSCB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde foram realizados parte dos experimentos.*

*À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, pelas análises, especialmente à Eliete, Elaine, Ceça e Elias.*

*Ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), pelas análises realizadas, especialmente à Adriana e Kelvin.*

*Ao amigo Gian Carlos, pelas inúmeras vezes que se dispôs a realizar as análises de difração de raios-X.*

*Ao Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) da UFRPE, pelas análises realizadas, especialmente à Patrícia e Júlio pela torcida e disponibilidade de me ajudarem.*

*Ao Laboratório de Polímeros Não-Convencionais do Departamento de Física da UFPE, por disponibilizarem do equipamento de Zetasizer.*

*Ao Departamento de Energia Nuclear (DEN) da UFPE, pela oportunidade de ser realizado o trabalho.*

*Ao GAMALAB/DEN/UFPE, na pessoa de André Luiz, pela radiação das amostras.*

*Ao Dr. Ayyzas Mahmood, pelo auxílio na Modelagem Computacional das moléculas apresentadas no trabalho.*

*Ao Laboratório de Radioecologia e Controle Ambiental, pela colaboração com sugestões e materiais para realização dos experimentos, em especial a Tiago.*

*Aos funcionários do DEN pela constante simpatia, em especial aos vigilantes pelo cuidado e atenção comigo nos fins de semana, feriado e o horário noturno em que estava no laboratório trabalhando.*

*Aos amigos Vinícius, Deyse, e Neto por disponibilizarem seu tempo em me acompanhar nos fins de semana, feriados e horário noturno para realização dos experimentos.*

*Aos amigos do LSCB/UFPE, Josy, Mauro, Deyvison, Ingrid, Cibele, Karol, Rerison, Victória, Bruna, Filipe, Moara e Antônio, pela amizade construída.*

*Aos amigos do LPN/UFPE, Valdilene, Thalita, Linda, Roberta, Natércia, Thaíses, Nara, Elton, Eduardo, Luiz, Fernando, Pablo e Reginaldo, pelas palavras de incentivo, pela troca de conhecimento e pelo ambiente harmonioso de trabalho.*

*À CAPES, pela concessão da bolsa do doutorado;*

*Ao CNPq, pelo apoio financeiro ao Projeto.*

*A todos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.*

**“Se a Educação sozinha não transforma a sociedade, sem ela tampouco a sociedade muda.”**

**Paulo Freire**



## RESUMO

Os nanodispositivos, objetos desenvolvidos em escala nanométrica, são fabricados por apresentarem propriedades físico-químicas mais eficientes que os materiais em escala macro. Tendo influência direta na área da saúde, pois os nanossistemas carregados com substâncias bioativas ultrapassam as barreiras lipídicas, agem com precisão no local de ação, promovem aumento na biodisponibilidade da droga ao estabilizar por mais tempo a concentração plasmática máxima, e isso possibilita diminuir a dose aplicada e quantidade de vezes em que é administrada. Além disso, evitam efeitos adversos e tóxicos. Portanto, a pesquisa teve por objetivo o desenvolvimento de nanodispositivos, micelas poliméricas e tapetes fibrilares confeccionados pela técnica de *electrospinning* (eletrofiação), para liberação controlada de drogas. Foram fabricados por métodos simples, de fácil manipulação, produção em larga escala e com menor ou nenhuma quantidade de excipientes, o que diferencia das formas convencionais de liberação de fármacos. Os materiais utilizados para compor os dispositivos foram os polímeros hidrofóbicos (PCL e (±)-P(3-HB)), o polímero hidrofílico (PEG ou PEO) e o açúcar álcool, sorbitol. Esses materiais foram selecionados por condicionar as características de biodegradáveis e biocompatíveis dos nanossistemas, o que se faz necessário para aplicação em meio biológico. Os copolímeros sintetizados para confecção das micelas foram produzidos em tribloco e em formato estrela, com rendimentos acima de 50% e sem presença de reagentes. As micelas apresentaram tamanhos inferiores a 1000 nm, ideal para uso em administração parenteral, e a estabilidade foi melhor para as micelas formadas por copolímeros estrela. Os tapetes fibrilares apresentaram mais de 95% de eficiência no encapsulamento das cargas bioativas. Finalmente, ambos dispositivos foram radioesterilizados por radiação gama, dose 25 kGy, e, das onze substâncias bioativas utilizadas, apenas duas demonstraram produtos indesejáveis radiolíticos, o que torna o processo efetivo. Os nanoproductos têm como perspectivas futuras amplo uso com diversas drogas, estudo *in vivo*, encapsulamento dual de substâncias bioativas e confecção de tapetes fibrilares com dupla camada.

Palavras chave: liberação controlada de bioativos, polímeros, micelas, nanofibras, eletrofiação, radioesterilização gama.

## ABSTRACT

Nanodispositives, objects developed at nanometer scale, are manufactured by presenting physicochemical properties more efficient than materials in macro scale, having good influence in health area. The nanosystems loaded with bioactive substances surpass the lipid barriers, act with precision in the place of action and promote increase in bioavailability of the drug, by stabilizing for a longer time the maximum plasma concentration and this allows to decrease the dose And how many times it is administered. In addition, they avoid adverse and toxic effects. Therefore, the research objective was to develop nanodevices, polymeric micelles and fibrils made by the electrospinning technique, for a controlled drug release. They were manufactured by methods simple, easy to handle, large scale production and with little or no excipients, which differs from conventional forms of drugs releasing. The materials used to compose devices were the hydrophobic polymers (PCL and P (3-HB), the hydrophilic polymer (PEG or PEO) and the sugar alcohol, sorbitol. These materials were selected for conditioning the biodegradable and biocompatible characteristics of nanosystems, which is necessary for application in biological systems. The copolymers synthesized to make the micelles were produced in triblock and star format, with efficiency above 50% and without reagents. The micelles had sizes below 1000 nm, ideal for use in parenteral administration and the stability was better for micelles formed by star copolymers. The fibrillary mats presented more than 95% efficiency in the encapsulation of bioactive loads. Finally, both devices were radio sterilized by gamma radiation, dose 25 kGy and from the eleven bioactive substances used, Only two demonstrated undesirable radiolytic products, which made the process effective. Nanoproducts have future prospects and a wide use with various drugs, in vivo study, dual encapsulation of bioactive substances and fabrication of double layer fibrils.

Key words: Controlled release of bioactives, polymers, micelles, nanofibers, electrospinning, gamma sterilization.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cadeia principal do poli ( $\epsilon$ -caprolactona).....	31
Figura 2: Cadeia principal do poli (3-hidroxi-butirato) .....	33
Figura 3: Cadeia principal do poli (etileno glicol) .....	34
Figura 4: Estrutura química do sorbitol.....	35
Figura 5: Estrutura química da finasterida .....	37
Figura 6: Estrutura química do paracetamol.....	38
Figura 7: Estrutura química da nimesulida.....	40
Figura 8: Estrutura química do ibuprofeno .....	41
Figura 9: Estrutura química da furosemida.....	43
Figura 10: Estrutura química do propranolol.....	45
Figura 11: Estrutura química da riboflavina .....	46
Figura 12: Estrutura química do ácido pantotênico .....	48
Figura 13: Estrutura química do ácido fólico .....	50
Figura 14: Estrutura química da fenilalanina.....	51
Figura 15: Estrutura química da L-histidina .....	52
Figura 16: Sistema nanoestruturado micelar.....	55
Figura 17: Mecanismo de reação da copolimerização do tribloco (P(CL-co-( $\pm$ )-3-HB))- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -P(CL-co-( $\pm$ )-3-HB)) .....	61
Figura 18: Reação geral da reação de copolimerização estrela do sorbitol- <i>b</i> - (PCL) <sub>6</sub> .....	64
Figura 19: Espectro de FT-IR do copolímero tribloco PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL.....	75
Figura 20: Espectro de FT-IR do copolímero tribloco ( $\pm$ )-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -( $\pm$ )-P(3- HB).....	77
Figura 21: Espectro de FT-IR do copolímero tribloco (P(CL-co-( $\pm$ )-3-HB))- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> - (P(CL-co-( $\pm$ )-3-HB)) .....	79
Figura 22: Espectro de FT-IR do copolímero estrela sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> .....	81
Figura 23: Espectro de FT-IR do copolímero estrela sorbitol- <i>b</i> -(( $\pm$ )-P(3-HB)) <sub>6</sub> .....	83
Figura 24: Difratoograma de raios-X do copolímero tribloco PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL .....	85
Figura 25: Difratoograma de raios-X do PCL .....	85
Figura 26: Difratoograma de raios-X do PEG.....	86
Figura 27: Difratoograma de raios-X do ( $\pm$ )-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> - ( $\pm$ )-P(3-HB).....	87

Figura 28: Difratoograma de raios-X do (R)-P(3-HB) .....	88
Figura 29: Difratoograma de raios-X do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB))-b-PEG-b-(P(CL-co-(±)-3-HB)) .....	90
Figura 30: Difratoograma de raios-X do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> .....	92
Figura 31: Difratoograma de raios-X do sorbitol .....	92
Figura 32: Difratoograma de raios-X do copolímero estrela sorbitol-b-(±)-P(3-HB) <sub>6</sub> ...	94
Figura 33: Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do copolímero tribloco PCL-b-PEG-b-PCL .....	96
Figura 34: Espectro de RMN- <sup>13</sup> C do copolímero tribloco PCL-b-PEG-b-PCL.....	97
Figura 35: Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-b-PEG-b-(±)-P(3-HB) .....	100
Figura 36: Espectro de RMN- <sup>13</sup> C do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-b-PEG-b-(±)-P(3-HB) .....	101
Figura 37: Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB))-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-3-HB)) .....	104
Figura 38: Espectro de RMN- <sup>13</sup> C do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB))-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-3-HB)) .....	105
Figura 39: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN- <sup>1</sup> H.....	108
Figura 40: Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> .....	109
Figura 41: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN- <sup>13</sup> C .....	110
Figura 42: Espectro de RMN- <sup>13</sup> C do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> .....	111
Figura 43: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-b-(±)-P(3-HB) <sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN- <sup>1</sup> H.....	114
Figura 44: Espectro de RMN- <sup>1</sup> H do copolímero estrela sorbitol-b-(±)-P(3-HB) <sub>6</sub> .....	115
Figura 45: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-b-(±)-P(3-HB) <sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN- <sup>13</sup> C .....	116
Figura 46: Espectro de RMN- <sup>13</sup> C do copolímero estrela sorbitol-b-(±)-P(3-HB) <sub>6</sub> ...	117
Figura 47: Taxa de liberação <i>in vitro</i> das micelas copoliméricas sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> /SDS carregadas com fármacos (finasterida ■, paracetamol ●, nimesulida ▲, ibuprofeno ▼, furosemida ◆, propranolol ◀).....	129

Figura 48: Cromatograma por CLAE da finasterida. A) fármaco padrão, B) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + finasterida não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + finasterida irradiada 25 kGy.....	131
Figura 49: Cromatograma por CLAE do paracetamol. A) fármaco padrão, B) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS+ paracetamol não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + paracetamol irradiada 25 kGy.....	132
Figura 50: Cromatograma por CLAE da nimesulida. A) fármaco padrão, B) fármaco irradiado a 25 kGy, C) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + nimesulida não irradiada, D) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + nimesulida irradiada 25 kGy.....	133
Figura 51: Cromatograma por CLAE do ibuprofeno. A) fármaco padrão, B) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + ibuprofeno não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + ibuprofeno irradiada 25 kGy.....	134
Figura 52: Cromatograma por CLAE da furosemida. A) fármaco padrão, B) fármaco irradiado a 25 kGy, C) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + furosemida não irradiada, D) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + furosemida irradiada 25 kGy.....	135
Figura 53: Cromatograma por CLAE do propranolol. A) fármaco padrão, B) micelas Copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + propranolol não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS + propranolol irradiada 25 kGy .....	136
Figura 54: Conformações mais estáveis dos copolímeros. A) copolímero linear PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL, B) copolímero estrela Sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> . O PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde).....	137
Figuras 55: Conformações mais estáveis do complexo paracetamol. A) 2Pmol-PEG, B) 2Pmol-sorb. O PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde) ..	140
Figura 56: Conformação mais estável do complexo paracetamol 4Pmol-Sorb. O PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde).....	141
Figura 57: Conformações mais estáveis dos complexos nimesulida. A) 2Nim-PEG, B) 1Nim-Sorb, C) 2Nim-Sorb. PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde) .....	142
Figura 58: Conformações mais estáveis dos complexos ibuprofeno. A) 2Ibu-PEG, B) 2Ibu-Sorb. PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde).....	143

Figura 59: Conformações mais estáveis dos complexos furosemida. A) 2Fur-PEG, B) 2Fur-Sorb. PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde). .....	144
Figura 60: Conformações mais estáveis dos complexos propranolol. A) 2Pro-PEG, B) 2Pro-Sorb. PEG ou sorbitol (região azul), cadeias de PCL (região verde) .....	145
Figura 61: Configuração básica de um equipamento de eletrofiação.....	150
Figura 62: Tapete fibrilar eletrofiado com pérolas achatadas .....	153
Figura 63: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco finasterida (aumento 450x).....	163
Figura 64: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco finasterida (aumento 2700x).....	164
Figura 65: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco finasterida (aumento 7000x).....	164
Figura 66: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco paracetamol (aumento 500x) .....	165
Figura 67: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco paracetamol (aumento 2400x).....	165
Figura 68: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco paracetamol (aumento 4500x).....	166
Figura 69: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B2 (aumento 300x) .....	166
Figura 70: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B2 (aumento 1200x) .....	167
Figura 71: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B5 (aumento 600x) .....	167
Figura 72: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B5 (aumento 2700x) .....	168
Figura 73: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B9 (aumento 100x) .....	168
Figura 74: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B9 (aumento 1000x) .....	169
Figura 75: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-fenilalanina (aumento 450x) .....	170

Figura 76: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-fenilalanina (aumento 1200x) .....	170
Figura 77: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-histidina (aumento 240x) .....	171
Figura 78: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-histidina (aumento 450x) .....	171
Figura 79: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO.....	173
Figura 80: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + finasterida .....	174
Figura 81 Difratoograma de raios-X da finasterida.....	174
Figura 82: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + paracetamol.....	175
Figura 83: Difratoograma de raios-X do paracetamol. ....	175
Figura 84: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + vitamina B2 .....	176
Figura 85: Difratoograma de raios-X da vitamina B2.....	176
Figura 86: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + vitamina B5 .....	177
Figura 87: Difratoograma de raios-X da vitamina B5.....	177
Figura 88: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + vitamina B9 .....	178
Figura 89: Difratoograma de raios-X da vitamina B9.....	178
Figura 90: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + L-fenilalanina.....	179
Figura 91: Difratoograma de raios-X da L-fenilalanina.....	179
Figura 92: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + L-histidina.....	180
Figura 93: Difratoograma de raios-X da L-histidina .....	180

Figura 94: Termogravimetria dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas. Fibra não carregada (preto), Fibra + Finasterida (vermelho), Fibra + Paracetamol (azul escuro), Fibra + vitamina B2 (verde), Fibra + vitamina B5 (roxo), Fibra + vitamina B9 (marrom), Fibra + L-fenilalanina (azul claro), Fibra + L-histidina (laranja) ..... 183

Figura 95: Calorimetria diferencial de varredura dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas. Fibra não carregada (preto), Fibra + finasterida (vermelho), Fibra + Paracetamol (azul escuro), Fibra + vitamina B2 (verde), Fibra + vitamina B5 (roxo), Fibra + vitamina B9 (marrom), Fibra + L – fenilalanina (azul claro), Fibra + L – histidina (laranja) ..... 185

Figura 96: Perda de massa por degradação hidrolítica dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas. Fibra não carregada (1), Fibra + Finasterida (2), Fibra + Paracetamol (3), Fibra + vitamina B2 (4), Fibra + vitamina B5 (5), Fibra + vitamina B9 (6), Fibra + L – fenilalanina (7), Fibra + L – histidina..... 189

Figura 97: Liberação *in vitro* dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO com cargas bioativas. Fibra + Finasterida (—■—), Fibra + Paracetamol (—●—), Fibra + vitamina B2 (—▲—), Fibra + vitamina B5 (—▼—), Fibra + vitamina B9 (—◆—), Fibra + L – fenilalanina (—◀—), Fibra + L – histidina (—▶—)..... 193

Figura 98: Cromatograma por CLAE da vitamina B2. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada..... 195

Figura 99: Cromatograma por CLAE da vitamina B5. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada..... 196

Figura 100: Cromatograma por CLAE da vitamina B9. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada..... 196

Figura 101: Cromatograma por CLAE da L-fenilalanina. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada ..... 197

Figura 102: Cromatograma por CLAE da L-histidina. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada..... 197



## LISTA DE TABELA

Tabela 1: Rendimento dos copolímeros sintetizados.....	71
Tabela 2: Resultados da ANOVA para os rendimentos.....	72
Tabela 3: Média do fator de retenção (RF) dos copolímeros sintetizados .....	73
Tabela 4: Resultados da ANOVA para o fator de retenção (RF) .....	73
Tabela 5: Sinais do espectro FT-IR do copolímero tribloco PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL.....	75
Tabela 6: Sinais do espectro FT-IR do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB) .....	77
Tabela 7: Sinais do espectro FT-IR do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB))- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(P(CL-co-(±)-3-HB)) .....	79
Tabela 8: Sinais do espectro FT-IR do copolímero estrela sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> .....	81
Tabela 9: Sinais do espectro FT-IR do copolímero estrela sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> ... ..	83
Tabela 10: Grau de cristalinidade do copolímero tribloco PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL.....	86
Tabela 11: Grau de cristalinidade do copolímero tribloco (±)-P(3HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB) .....	89
Tabela 12: Grau de cristalinidade do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB))- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(P(CL-co-(±)-3-HB)).....	90
Tabela 13: Grau de cristalinidade do copolímero estrela sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> .....	93
Tabela 14: Grau de cristalinidade do copolímero estrela sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> .....	95
Tabela 15: Tamanho das micelas copoliméricas não carregadas preparada sem e com tensoativos .....	119
Tabela 16: Tamanho das micelas copolimérica sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS carregadas com fármacos, não e radioesterilizadas a 25kGy .....	121
Tabela 17: Potencial zeta das micelas copoliméricas não carregadas preparada sem e com tensoativos.....	123
Tabela 18: Resultados da ANOVA para o potencial zeta das micelas copoliméricas não carregadas preparada sem e com tensoativos.....	123
Tabela 19: Potencial zeta das micelas copolimérica sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS carregadas com fármacos, não e radioesterilizadas a 25kGy.....	125

Tabela 20: Resultados da ANOVA para potencial zeta das micelas copolimérica sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS carregadas com fármacos, não e radioesterilizadas a 25kGy .....	125
Tabela 21: Taxa de eficiência do encapsulamento das micelas copolimérica sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS carregadas com fármacos .....	126
Tabela 22: Resultados da ANOVA para taxa de eficiência do encapsulamento das micelas copoliméricas sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS carregadas com fármacos .....	127
Tabela 23: Dose diária estabelecidas das micelas carregadas com fármacos .....	129
Tabela 24: Energias fundamental ( $E_{fund.}$ ) e a de ligação ( $E_{ligação}$ ) em kJ/mol de diferentes complexos fármaco-polímero e número de ligações de hidrogênio.....	138
Tabela 25: Grau de ângulo de difração dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas.....	172
Tabela 26: Grau de cristalinidade dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas.....	181
Tabela 27: Resultados da ANOVA para grau de cristalinidade dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas.....	182
Tabela 28: Temperaturas de degradação térmicas para os tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas .....	184
Tabela 29: Entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e grau de cristalinidade ( $X\%$ ) por DSC dos tapetes fibrilares sem e com carga bioativas .....	186
Tabela 30: Medida de ângulo de contato das fibras sem e com cargas bioativas... ..	186
Tabela 31: Resultados da ANOVA para medida de ângulo de contato das fibras sem e com cargas bioativas .....	187
Tabela 32: Taxa diária de perda de massa dos tapetes fibrilares sem e com cargas bioativas por degradação hidrolítica.....	190
Tabela 33: Taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA) ...	191
Tabela 34: Resultados da ANOVA para taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA) .....	191
Tabela 35: Dose diária estabelecidas dos tapetes fibrilares carregadas com as substâncias bioativa .....	194

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Materiais utilizados para síntese dos copolímeros e das micelas.....	59
Quadro 2: Parâmetros específicos dos fármacos para análise no CLAE.....	68
Quadro 3: Materiais utilizados para confecção dos tapetes fibrilares.....	156
Quadro 4: Parâmetros específicos das vitaminas hidrossolúveis e dos aminoácidos essenciais para análise no CLAE .....	161

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%EE = Taxa de eficiência do encapsulamento

$\Delta H^\circ$  = entalpia de fusão 100% cristalino

$\Delta H_f$  = entalpia de fusão da fibra eletrofiada,

$2\theta$  = Ângulo de difração

$^{60}\text{Co}$  = Cobalto 60

CCD = Cromatografia por camada delgada

$\text{CDCl}_3$  = Clorofórmio deuterado

$\text{CHCl}_3$  = Clorofórmio

CLAE = Cromatografia Líquida de Alta eficiência COX = proteína ciclo-oxigenase

DR-X = Difractometria de raio-X

DSC = Calorimetria diferencial de varredura

$\epsilon$ -CL =  $\epsilon$ -caprolactona

FT-IR = Infravermelho por Transformada de Fourier

kGy = quilogray, dose de radiação

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

mV = milivolt

nm = nanômetro

( $\pm$ )-P(3-HB) = poli (3-hidroxi butirato)

( $\pm$ )-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-( $\pm$ )-P(3-HB) = copolímeros tribloco poli(3-hidroxi butirato)-*b*-poli(etileno glicol)-*b*-( $\pm$ )-poli(3-hidroxi butirato)

PBS = solução tampão fosfato salino

PCL = poli ( $\epsilon$ -caprolactona)

PCL/PEO = Blenda formada por PCL e PEO

PCL-*b*-PEG-*b*-PCL = copolímeros tribloco poli( $\epsilon$ -caprolactona )-*b*-poli(etileno glicol)-*b*-poli( $\epsilon$ -caprolactona)

P(CL-co-( $\pm$ )-3-HB)-*b*-PEG-*b*-P(CL-co-( $\pm$ )-(3-HB)) = copolímero tribloco poli ( $\epsilon$ -caprolactona-co-( $\pm$ )- $\beta$ -butirolactona)-*b*-poli(etileno glicol)-*b*-poli( $\epsilon$ -caprolactona-co-( $\pm$ )- $\beta$ -butirolactona)

PLA = poli (ácido láctico)

RF = Fator de retenção

RMN = Ressonância Magnética Nuclear

SDS = Dodecil Sulfato de Sódio Sn(Oct)<sub>2</sub> = Octanoato estanho

sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB)<sub>6</sub> = copolímero estrela sorbitol-*b*-poli(3-hidroxi-*b*utirato)<sub>6</sub> sorbitol-*b*-  
(PCL)<sub>6</sub> = copolímero estrela sorbitol-*b*-(poli(ε-caprolactona)<sub>6</sub>)

T<sub>f</sub> = Temperatura final

TGA = Análise termogravimétrica THF =

Tetraidrofurano

T<sub>i</sub> = Temperatura inicial

T<sub>MÁX</sub> = Temperatura máxima UV/Vis =

Ultravioleta-visível

β-BL = mistura racêmica de β-butirolactona

X% = grau de cristalinidade

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	26
--------------------	----

### CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1. NANOTECNOLOGIA.....	28
1.1 Nanotecnologia na área da saúde.....	29
2. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS.....	30
2.1 Poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL).....	31
2.2 Polihidroxibutirato (P(3-HB)).....	32
2.3 Poli (etileno glicol) (PEG) / poli (óxido de etileno) (PEO).....	33
3. AÇÚCARES ÁLCOOIS.....	34
3.1 Sorbitol.....	35
4. SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS UTILIZADAS NESTE TRABALHO.....	36
4.1 Finasterida.....	37
4.2 Paracetamol.....	38
4.3 Nimesulida.....	39
4.4 Ibuprofeno.....	41
4.5 Furosemida.....	42
4.6 Propranolol.....	44
4.7 Vitamina B2 (Riboflavina).....	45
4.8 Vitamina B5 (Ácido pantotênico).....	47
4.9 Vitamina B9 (Ácido Fólico).....	49
4.10 Fenilalanina.....	51
4.11 Histidina.....	52

### CAPÍTULO II: MICELAS COPOLIMÉRICAS, COMO SISTEMAS NANOMÉTRICOS SOLÚVEIS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE BIOATIVOS

1. MICELAS COPOLIMÉRICAS.....	55
2. OBJETIVO.....	58
2.1 Objetivo Geral.....	58
2.2 Objetivos Específicos.....	58
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
3.1 Materiais.....	59
3.2 Métodos.....	60
3.2.1 Síntese de copolímeros.....	60
3.2.1.1 Síntese dos copolímeros triblocos PCL-b-PEG-b-PCL e ( $\pm$ )-P(3-HB)-b-PEG-b-( $\pm$ )-P(3-HB).....	60
3.2.1.2 Síntese do copolímero tribloco (P(CL-co-( $\pm$ )-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co-( $\pm$ )-	

(3-HB))) .....	60
3.2.1.3 Síntese dos copolímeros estrelas sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> e sorbitol-b-((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> .....	63
3.2.2 Preparação das micelas copoliméricas .....	64
3.2.3 Irradiação gama das micelas copoliméricas contendo fármacos.....	65
3.2.4 Caracterização dos copolímeros sintetizados e dos nanodispositivos.....	65
3.2.4.1 Identificação dos copolímeros por Cromatografia em camada delgada da (CCD) .....	65
3.2.4.2 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) .....	65
3.2.4.3 Difratomia de raios-X (DR-X).....	66
3.2.4.4 Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	66
3.2.4.5 Tamanho e o Potencial zeta.....	66
3.2.4.6 Taxa de eficiência do encapsulamento (%EE).....	67
3.2.4.7 Taxa de liberação in vitro .....	67
3.2.4.8 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	68
3.2.4.9 Modelagem Computacional .....	68
3.2.4.10 Teste de Tuckey.....	70
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71
4.1 Caracterização dos copolímeros tribloco e estrela .....	71
4.1.1 Rendimento .....	71
4.1.2 Identificação dos copolímeros por CCD .....	72
4.1.3 Análise de FT-IR.....	74
4.1.3.1 Análise de FT-IR do copolímero tribloco PCL-b-PEG-b-PCL.....	74
4.1.3.2 Análise de FT-IR do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-b-PEG-b-(±)-P(3-HB) .....	76
4.1.3.3 Análise de FT-IR do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-(3-HB))) .....	78
4.1.3.4 Análise de FT-IR do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> .....	80
4.1.3.5 Análise de FT-IR do copolímero estrela sorbitol-b-((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> .....	82
4.1.4 Difratomia de raios-X.....	84
4.1.4.1 Difratomia de raios-X do copolímero tribloco PCL-b-PEG-b-PCL.....	84
4.1.4.2 Difratomia de raios-X do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-b-PEG-b-(±)-P(3-HB).....	87
4.1.4.3. Difratomia de raios-X do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-(3-HB))).....	89
4.1.4.4 Difratomia de raios-X do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> .....	91
4.1.4.5 Difratomia de raios-X do copolímero estrela sorbitol-b-((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> .....	93
4.1.5 Espectroscopia de RMN.....	94
4.1.5.1 Espectroscopia de RMN do copolímero tribloco PCL-b-PEG-b-PCL.....	94
4.1.5.2 Espectroscopia de RMN do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-b-PEG-b-(±)-P(3-HB).....	98
4.1.5.3 Espectroscopia de RMN do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-(3-HB))) .....	102
4.1.5.4 Espectroscopia de RMN do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL) <sub>6</sub> .....	106
4.1.5.5 Espectroscopia de RMN do copolímero estrela sorbitol-b-((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> .....	112

<b>4.2 Caracterização das Micelas copoliméricas.....</b>	<b>118</b>
4.2.1 <i>Tamanho.....</i>	118
<b>4.2.1.1 <i>Tamanho das micelas copoliméricas não carregadas.....</i></b>	<b>118</b>
<b>4.2.1.2 <i>Tamanho das micelas copolimérica sorbitol-b-(PCL)<sub>6</sub> carregadas com fármacos.....</i></b>	<b>120</b>
4.2.2 <i>Estabilidade.....</i>	121
<b>4.2.2.1 <i>Estabilidade das micelas copoliméricas não carregadas.....</i></b>	<b>121</b>
<b>4.2.2.2 <i>Estabilidade micelas copolimérica sorbitol-b- (PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos .....</i></b>	<b>124</b>
4.2.3 <i>Taxa de eficiência do encapsulamento (%EE).....</i>	126
4.2.4 <i>Taxa de liberação in vitro.....</i>	127
4.2.5 <i>Efeito da irradiação gama na radioesterilização, detectado por CLAE nas micelas copoliméricas carregadas com fármacos.....</i>	130
4.2.6 <i>Modelagem computacional .....</i>	137
<b>4.2.6.1 <i>Modelagem computacional dos copolímeros.....</i></b>	<b>137</b>
<b>4.2.6.2 <i>Modelagem computacional dos complexos fármaco -copolímero.....</i></b>	<b>138</b>
<b>5. CONCLUSÃO DAS MICELAS COPOLIMÉRICAS .....</b>	<b>146</b>

### **CAPÍTULO III: TAPETES FIBRILARES, COMO SISTEMAS NANOMÉTRICOS IMPLANTÁVEIS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE BIOATIVOS**

<b>1. NANOFIBRAS POLIMÉRICAS .....</b>	<b>149</b>
<b>1.1 Processo de eletrofiação .....</b>	<b>149</b>
1.1.1 <i>Parâmetros que influenciam na eletrofiação.....</i>	151
<b>1.1.1.1 <i>Viscosidade da solução.....</i></b>	<b>151</b>
<b>1.1.1.2 <i>Condutividade elétrica .....</i></b>	<b>152</b>
<b>1.1.1.3 <i>Distância entre o coletor e a agulha.....</i></b>	<b>152</b>
<b>1.1.1.4 <i>Fluxo.....</i></b>	<b>153</b>
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>155</b>
<b>2.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>155</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>155</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>156</b>
<b>3.1 Materiais .....</b>	<b>156</b>
<b>3.2 Métodos.....</b>	<b>157</b>
3.2.1 <i>Preparação dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO pela técnica de eletrofiação (electrospinning) .....</i>	157
3.2.2 <i>Irradiação gama das vitaminas hidrossolúveis e aminoácidos essenciais ....</i>	157
3.2.3 <i>Caracterização dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO.....</i>	157
<b>3.2.3.1 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</i></b>	<b>157</b>
<b>3.2.3.2 <i>Difratometria de raios-X (DR-X).....</i></b>	<b>158</b>
<b>3.2.3.3 <i>Análise térmica.....</i></b>	<b>158</b>
<b>3.2.3.4 <i>Molhabilidade (medidas do ângulo de contato).....</i></b>	<b>158</b>
<b>3.2.3.5 <i>Degradação Hidrolítica.....</i></b>	<b>159</b>
<b>3.2.3.6 <i>Taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA).....</i></b>	<b>159</b>
<b>3.2.3.7 <i>Taxa de liberação in vitro.....</i></b>	<b>160</b>



<b>3.2.3.8 Cromatografia Líquida por Alta Eficiência (CLAE)</b> .....	<b>160</b>
<b>3.2.3.9 Teste de Tuckey</b> .....	<b>161</b>
<b>4. RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	<b>162</b>
<b>4.1 Caracterização dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO</b> .....	<b>162</b>
4.1.1 <i>Micrografias Eletrônica de Varredura (MEV)</i> .....	162
4.1.2 <i>Difratometria de raios-X</i> .....	171
4.1.3 <i>Caracterização Térmica</i> .....	182
<b>4.1.3.1 Análise Termogravimétrica (TGA)</b> .....	<b>182</b>
<b>4.1.3.2 Análise de Calorimetria diferencial de varredura (DSC)</b> .....	<b>184</b>
4.1.4 <i>Caracterização da superfície</i> .....	186
<b>4.1.4.1 Molhabilidade (medida de ângulo de contato)</b> .....	<b>186</b>
<b>4.1.4.2 Degradação hidrolítica</b> .....	<b>188</b>
4.1.5 <i>Taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA)</i> .....	190
4.1.6 <i>Taxa de liberação in vitro</i> .....	192
4.1.7 <i>Efeito da irradiação gama na radioesterilização, detectado por CLAE nas substâncias bioativas</i> .....	194
<b>5. CONCLUSÃO DOS TAPETES FIBRILARES</b> .....	<b>198</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>200</b>
<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	<b>201</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>202</b>
<b>ANEXO A – Resumo da 1ª patente</b> .....	<b>250</b>
<b>ANEXO B – Resumo da 2ª patente</b> .....	<b>251</b>
<b>ANEXO C – Resumo da 3ª patente</b> .....	<b>252</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia, ciência que compreende e controla objetos com dimensões nanométrica, vem sendo aplicada em diversos setores, tais como alimentício, saúde, agricultura e engenharia. Na área da saúde, por exemplo, os nanomateriais (micelas, lipossomas, nanoemulsões, nanotubos, nanofibras e outros), ganham importância por causarem impactos diretos no sistema biológico e por serem mais precisos que os materiais em escala macro, devido as propriedades físico-químicas diferenciadas (FREITAS, 2005, DAVIES, 2007).

No meio biológico, os nanodispositivos, em especial os de liberação controlada, atuam com precisão no transporte de substâncias bioativas ao local de ação específico, aumentando assim a biodisponibilidade e a atividade terapêutica, como também diminuindo os efeitos tóxicos e indesejáveis (DURÁN et al., 2010). Entre os nanodispositivos destacam-se as micelas, estrutura coloidal anfifílica, e as nanofibras obtidas a partir da técnica de eletrospinning (*electrospinning*). O processo de obtenção de ambos é simples, de fácil manipulação e de produção em larga escala (MOURYA et al., 2010; COSTA et al, 2012). A fabricação e otimização desses dispositivos é dependente da escolha dos materiais, os quais deverão ser biodegradáveis, biocompatíveis e de funcionalização de superfície, para promover a conjugação, a complexação e/ou encapsulamento de substâncias bioativas (MOGHIMI et al., 2005).

Portanto, o trabalho tem como finalidade o desenvolvimento de nanodispositivos biodegradáveis e radioesterilizáveis por radiação gama, designados para liberação controlada de substâncias bioativas. Estes dispositivos foram micelas copolímeras formuladas por copolímeros sintetizados e tapetes fibrilares poliméricos eletrofiados. As matérias-primas utilizadas foram os polímeros sintéticos biodegradáveis, como a poli ( $\epsilon$ -caprolactona) e o poli (3-hidroxitirato), e os poliéteres hidrossolúveis poli (etileno glicol) de massa molar  $6 \text{ kg.mol}^{-1}$  e o poli (óxido de etileno) de massa molar  $600 \text{ kg.mol}^{-1}$ . Além desses, o sorbitol, um poliól, também foi usado como componente da matriz polimérica.

Na confecção dos dispositivos foram introduzidas as cargas bioativas, tais como fármacos, vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais. Por fim, os materiais fabricados, foram caracterizados para comprovação da formação dos copolímeros e dos nanosistemas, os quais nas micelas e nos tapetes fibrilares serão averiguados os perfis de liberação das cargas.

# ***Capítulo I: Generalidades***

## 1. NANOTECNOLOGIA

Conceito criado em 1974 por Norio Taniguchi, professor da Tokio University of Science, que descreveu a nanotecnologia como a ciência que consiste principalmente na criação e manipulação dos agrupamentos formados por átomos ou moléculas, cujos arranjo espacial e composição são usados para obter estruturas com novas características (RAMSDEN, 2011). O termo popularizou-se na década de 80 com referência à área do conhecimento que estuda materiais com uma das dimensões físicas em escala nanométrica, ou seja, na ordem de grandeza  $10^{-9}$  ou a bilionésima parte de um metro (MELO, PIMENTA, 2004).

Esse ramo da ciência que amplamente vem crescendo tem sido aplicado em vários setores, principalmente alimentícios, biotecnológico, médico-hospitalar, agrícola e farmacêutico (CHEN, SCHLUESENER, 2008). Isto, devido às propriedades físico-química incomuns, como a grande área superficial, propriedades eletrônicas únicas, forma e estado de agregação, que proporcionam aos materiais nanométricos características químicas, físicas, mecânicas e biológicas distintas da matéria de origem (NEL et al., 2006; DAVIES, 2007).

Os principais nanomateriais utilizados nos setores descritos anteriormente são nanopartículas (micelas, lipossomas, nanoemulsões), nanotubos, nanofibras e nanofios (GUO, WANG, 2007). Esses materiais são produzidos na escala nanométrica através de interações fracas, tais como dipolo eletrostático, ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas ou hidrofílicas, aglomeração fluídica e outras formas de agregação. Segundo Gai (2002), os exemplos dessas arrumações são descritos como automontagem, em que o arranjo das moléculas individuais forma agregados, e auto-organização, que formam estruturas maiores.

Na literatura, o processo de obtenção dos nanomateriais consta desde 1857, quando Faraday relatou a síntese do ouro coloidal, cujos procedimentos químicos em geral, foram baseados nos métodos de automontagem e auto-organização (KECSKES et al., 2007). Os métodos podem ser divididos com duas estratégias: *bottom-up* (“do simples para o complexo”), que é construção de materiais a partir de átomos ou moléculas individuais e o *top-down* (“do complexo para o simples”) em que uma fonte de energia é utilizada para reduzir o material em partículas menores (DATTA, MISHRA, 1999; MIZUTA, ODA, 2006).

A síntese, propriamente dita, desenvolve nanomateriais em estados altamente dispersos e que necessitam de controle rigoroso de variáveis, tais como pH, temperatura do meio reacional e dispersão das espécies químicas de interesse.

Também sendo avaliado o método sintético adequado para preparação de nanomateriais, pois deve ser considerado a rapidez, a qualidade e o custo da preparação (CORDENTE et al., 2001). Uma síntese bem estruturada pode originar nanodispositivos, que terão importância relevante principalmente na área da saúde, devido aos impactos diretos causados no sistema biológico (FREITAS, 2005).

### **1.1 Nanotecnologia na área da saúde**

Na área da saúde, a Agência Europeia de Medicamentos (European Medicines Agency) define nanotecnologia como a parte da ciência que usa, aplica, ou desenvolve estruturas com diâmetro inferiores a 1000 nm e projetadas para apresentarem propriedades específicas (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2010). Particularmente, a medicina e a farmacologia objetivam o desenvolvimento de nanomedicamentos, em especial de liberação controlada, que ofereçam vantagens em relação às formas convencionais, seja na prevenção, terapia ou diagnóstico (LAMMERS et al., 2011).

Os nanodispositivos na área médica são produzidos a partir de materiais, em geral, biodegradáveis, biocompatíveis, com capacidade de funcionalização de superfície, e que podem promover conjugação, complexação e/ou encapsulamento (MOGHIMI et al., 2005). Dentre os principais nanodispositivos, encontram-se os lipossomas, micelas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, nanocristais e nanofibras, que têm por objetivos transportar os fármacos para um local de ação específico para exercer sua atividade terapêutica e diagnóstica com máximo de segurança e eficácia, diminuindo a toxicidade, aumentando a biodisponibilidade, além de auxiliar na passagem pelas barreiras lipídicas (DURÁN et al., 2010; ETHERIDGE et al., 2013).

## 2. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Polímeros são macromoléculas constituídas por pequenas partes que se repetem, os monômeros, que estão ligados entre si por ligações covalentes. À reação de síntese de um polímero dá-se o nome de polimerização (SALVADOR, 2000).

A polimerização pode ser classificada em dois grandes grupos: polimerização em cadeia ou passo. Na polimerização em cadeia, que acontece por mecanismo de adição, uma cadeia de qualquer comprimento  $x$  pode apenas ser adicionada de um monômero para continuar a crescer. No caso da polimerização por passo, também conhecida por polimerização por condensação, cadeias de quaisquer comprimentos  $x$  e  $y$  se combinam para formar cadeias mais longas (ROSEN, 1993).

Os polímeros foram classificados de acordo com suas estruturas, suas finalidades e sua moldagem. Segundo a estruturação, esses são divididos em lineares, quando há apenas uma cadeia; ramificadas, as que se apresentam com uma cadeia principal e outras secundárias na sua lateral; e as reticuladas, nas quais cadeias principais se cruzam por ligações químicas (MANO, MENDES, 2000).

A outra classificação é baseada na sua aplicação nas indústrias; por exemplo os elastômeros também denominados de borracha, são polímeros de alta elasticidade, que ao se deformarem voltam a seu estado inicial, entretanto algumas borrachas de origem natural podem se romper ao serem submetidas a altas tensões (KOUTSOS, 2009). Têm-se ainda neste grupo, as fibras, que são materiais de alta resistência mecânica e de temperatura, e por fim, os plásticos que são polímeros sólidos a temperatura ambiente.

Em relação à moldagem os polímeros são classificados em termorrígidos e termoplásticos (CORDEIRO, 2007). Os termorrígidos são aqueles que são formados por cadeias cruzadas e que não podem ser remodeladas, pois o reaquecimento leva a sua decomposição. Os termoplásticos, são constituídos por cadeias lineares e ramificadas e que podem ser remodeladas por reaquecimento (DEMARQUETE, 2010).

Muitos dos polímeros têm aplicação na área médica, sendo designados como não degradáveis e biodegradáveis, o que irá depender do comportamento na presença de tecido biológico (ALMEIDA, 2010). Os não degradáveis, como o polietileno, são estáveis nas suas propriedades químicas, principalmente nas

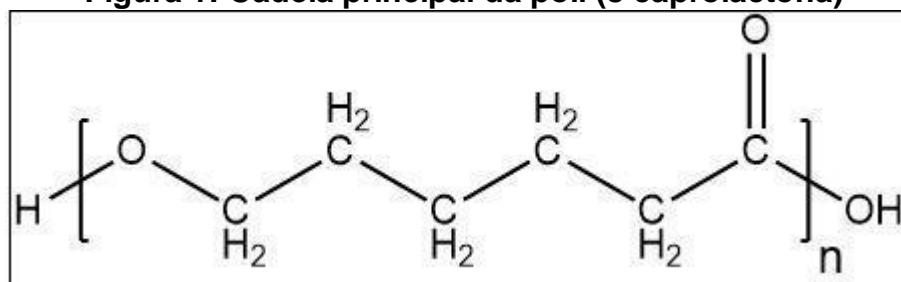
ligações químicas carbono-carbono (SANTOS et al., 2013). Segundo Fambri (2002) os biodegradáveis, como a poli ( $\epsilon$ -caprolactona), têm uma taxa de degradação, que possibilita seu uso em implante sem a necessidade de retirada do material, além do que a degradação pode vir a estimular a regeneração do tecido.

Pela importância na área da saúde, os poliésteres poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) e o poli (3-hidroxiбутirato) são escolhidos como materiais principais, devido as suas propriedades biodegradáveis, biocompatíveis e o tempo de degradação que auxiliarão na liberação de drogas, porém, por serem polímeros hidrofóbicos, esses são insolúveis em meio aquoso (ALMEIDA, 2010; VILLANOVA et al., 2010). O problema da solubilidade nas nanoestruturas pode ser solucionado através da associação com polímeros hidrofílicos ou mucoadesivos, como o poli (etileno glicol) (PEG) o que facilita a absorção dos polímeros hidrofóbicos pelo organismo fazendo com isso, que os fármacos atinjam o tecido alvo (TAVARES, 2011).

## 2.1 Poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL)

Poli ( $\epsilon$ -caprolactona) é um poliéster alifático, quimicamente conhecido por poli (6-hidroxihexanoato)(P(6-HH)), formada por uma cadeia linear de caráter semicristalino, cujo grau de cristalinidade é de 50%, porém podendo chegar a 69% (ANDRADE et al., 2008) (Figura 1). Seu ponto de fusão é em torno de 60° C e sua temperatura de transição vítrea varia entre - 60° a - 70° C (CANEVAROLO, 2006).

**Figura 1: Cadeia principal da poli ( $\epsilon$ -caprolactona)**



Fonte: Elaborado pela autora.

A primeira vez a ser sintetizada foi em 1930, desde então, tem sido alvo de estudo científico (SINHA et al., 2004). A síntese ocorre por abertura do anel do monômero  $\epsilon$ -caprolactona (CL), que se abre por iniciação radicalar ou iônica. A PCL quando formado apresenta característica de hidrofobicidade, resultante dos

grupamentos metilênicos não polares e um grupo éster relativamente polar que se repete ao longo da cadeia, e faz com que seja solúvel em solventes orgânicos, como o clorofórmio (SILVA, 2011).

Por não se dissolver em água, esse material é degradado, ou seja, a cadeia polimérica é reduzida a oligômero e a monômeros, por ação microbiana, enzimática ou hidrolítica, tendo um tempo médio de 2 anos para se degradar (FAMBRI et al., 2002; BARBANTI et al., 2005). A degradação hidrolítica, inicia-se com a hidrólise das ligações ésteres, produzindo terminais ácidos que podem ou não serem difundidos para o meio (WOODRUFF, HUTMACHER, 2010).

Devido às suas propriedades, como a biodegradabilidade, a biocompatibilidade e o baixo ponto de fusão, a poli ( $\epsilon$ -caprolactona) tem sido alvo de procura, principalmente na área biomédica (KOST, 1995). Para área farmacêutica, vem sendo utilizada para liberação controlada de fármaco, sendo permeável a drogas lipofílicas, e como cimento ósseo (ARRUDA et al., 2003).

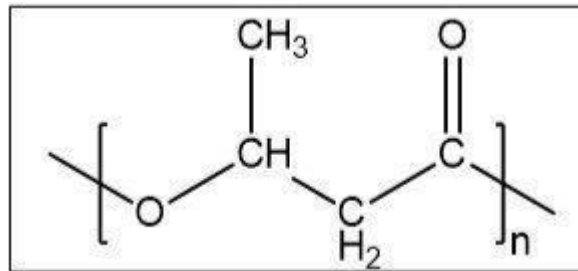
## **2.2 Poli (3-hidroxiбутирато) (P(3-HB))**

Polímero da classe dos termoplásticos, denominados poli-hidroxiálcanoatos, foi isolado e caracterizado pela primeira vez em 1926 por Maurice Leimogne, pesquisador do Instituto Pasteur em Paris (LEMES, 2005). Trata-se de um homopolímero poliéster, linear, alifático, composto por quatro átomos de carbono (Figura 2), solúvel principalmente em clorofórmio, biocompatível e biodegradável, com degradação variando entre seis a doze meses (SUDESH, ABE, 2000; BOHMERT et al, 2002).

Sua produção geralmente, são por métodos biológicos através do processo de fermentação, em que bactérias como *Ralstonia eutropha* e *bacillus megaterium* sintetizam o polímero no interior citoplasmático das células, em resposta ao estresse nutricional (REPASKE, REPASKE, 1976; CARTER, DAWES, 1979; TADA, 2009). Além disso, o polímero pode ser também sintetizado quimicamente, através da abertura do anel da  $\beta$ -butirolactona (MULLER, SEEBACH, 1993; FONSECA 2014).



**Figura 2: Cadeia principal do poli (3-hidroxi-butirato)**



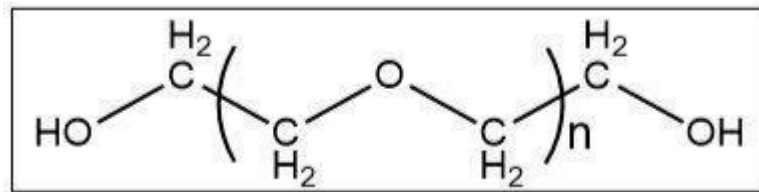
Fonte: Elaborado pela autora.

O poli-hidroxi-butirato é um sólido semicristalino, com grau de cristalinidade entre 60 a 90% (TADA, 2009). Segundo Nascimento (2001), através da análise do difratograma das moléculas do PHB, essas demonstraram conformação helicoidal, sendo as interações de Van der Waals as forças básicas para o modelo conformacional.

A semicristalinidade do PHB influenciará na sua temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), que varia entre 5 a 9° C (AMASS et al., 1998; ANTUNES 2003; TADA, 2009). A baixa  $T_g$  promove ao polímero menor resistência ao impacto, o que confere características quebradiças (ANTUNES 2003). Seu ponto de fusão em 180° C limita o uso na indústria, pois a temperatura de fusão aproximasse da temperatura de degradação, que varia entre 175° a 250°C. Isso faz com que o polímero apresente baixa estabilidade (ZHANG et al., 2000). Mesmo com essa desvantagem, a gama de vantagem que o polímero traz faz com que seja amplamente empregado na área médico-farmacêutica, prestando-se à fabricação de fios de sutura, próteses ósseas e cápsulas que liberam gradualmente medicamentos na corrente sanguínea (BOHMERT et al, 2002; COUTINHO et al., 2004).

### **2.3 Poli (etileno glicol) (PEG) / poli (óxido de etileno) (PEO)**

O poli (etileno glicol) é um poliéter, homopolímero sintético, linear ou ramificado, neutro e está disponível em uma grande variedade de pesos moleculares, de poucas centenas a milhares de Daltons (Figura 3) (COIMBRA,1995; OLIVEIRA, 2006). O PEG é designado para composto de baixa molaridades, os de alta são conhecidos como polióxido de etileno (PEO) (RIBEIRO, 2001). Os polímeros de massas baixa são fluidos viscosos ou sólidos cerosos, enquanto os de massa elevada são termoplásticos cristalino moldáveis.

**Figura 3: Cadeia principal do poli (etileno glicol)**

Fonte: Elaborado pela autora.

O tamanho da cadeia irá influenciar em determinadas propriedades, pois o PEG apresenta solubilidades em água e em solventes orgânicos, possui capacidade lubrificante, baixa toxidez, estabilidade, pequena volatilidade e pode se complexar com metais, além de ser facilmente modificado quimicamente; e apresentar compatibilidade biológica (YEH, 2000). Tanto o PEG como PEO são solúveis em água a temperatura ambiente, em todas as proporções (POWELL, 1980; LOH, 2001).

A sua solubilização em água é atribuída à ligação das moléculas de água em torno da cadeia de polietileno através das pontes de hidrogênio, que por serem fracas, permitem a quebra da cadeia de diversas maneiras. Ao haver a quebra, há liberação de energia (COIMBRA, 1995). A higroscopicidade aumenta com a diminuição da massa molar do polímero devido, principalmente, ao aumento relativo do número de hidroxilas terminais (DEIBLE, 1998).

A facilidade do polímero de solubilizar em água fez com que houvesse uma expansão em sua aplicação na química, biomédica e na indústria, isso associado ao seu baixo custo (ZALIPSKY, 1983; BURGAZ, 2011). É um polímero utilizado em detergente, tintas, na purificação de proteínas e na entrega de drogas (MEDEIROS, KANIS, 2010). Além disso, pode tornar solúvel compostos insolúveis em água (HARRIS, 1992).

### 3. AÇÚCARES ÁLCOOIS

Os açúcares álcoois ou polióis pertencem a uma classe de compostos contendo vários grupos hidroxila, sendo por isso denominados de álcoois poli-hidroxílicos. Podem ser derivados de monossacarídeos (sorbitol, manitol, xilitol e eritritol) ou de dissacarídeos (maltitol, lactitol e isomalte) (PERINA, 2012). Diferem dos outros sacarídeos, devido à redução do grupo cetona ou aldeído, a hidroxilas (KRUGER, 1999). A reação ocorre pela hidrogenação catalítica do grupo redutor de um sacarídeo específico facilmente acessível (sacarose, açúcar invertido, frutose,

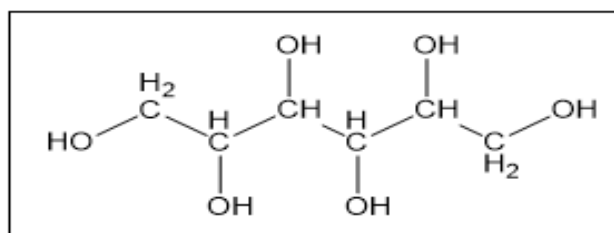
glucose, xarope de glucose, xarope de maltose, lactose, xilose etc.), dessa forma os polióis podem ser obtidos industrialmente (POLIÓIS, 2016).

Os monossacarídeos polióis são encontrados em frutas, verduras e como intermediários no metabolismo de carboidratos de animais. Industrialmente são comercializados como emulsificantes, estabilizantes, umectantes, crioprotetores e redutores de ponto de congelamento (BAUCHART et al., 1985; GEAY et al., 1992). Possuem solubilidade próxima à da sacarose (195g/100g H<sub>2</sub>O a 20°C), enquanto os dissacarídeos a solubilidade é cerca de 20 a 40% a da sacarose. São agentes redutores da atividade de água, o que evita proliferação microbiana, são também higroscópicos, sendo o sorbitol de alta higroscopicidade (POLIÓIS, 2016). Essa característica do sorbitol e a hidrofiliçidade, que copolimerizado com cadeias hidrofóbicas facilitará a absorção.

### 3.1 Sorbitol

É um poliol, monossacarídeo hexitol, de cadeia linear alifática, altamente hidrofílico, de ponto de fusão entre 93° a 98°C e fórmula molecular C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, conforme a Figura 4 (QUINQUENET, MADELMONT, 1988, GRILLAUD, et al., 2005). Foi descoberto em 1872 pelo químico francês, Joseph Boussingault, que isolou o composto de bagas de tramazeira (*Sorbus aucuparia*), fruto europeu (ERNANDES, 2009; PERINA, 2012). O pesquisador passou a investigar o motivo de o fruto ser intensamente adocicado. Ele separou uma amostra do suco fermentado desta fruta, destilou o álcool e, a partir do xarope residual, cristalizou o composto adocicado, como cristais em forma de agulha, concluindo que não se tratava de um açúcar comum, mas de um monossacarídeo poli-hidroxicos, o qual nomeou de sorbitol (ERNANDES, 2009).

**Figura 4: Estrutura química do sorbitol**



Fonte: Elaborado pela autora.

O sorbitol pode ser isolado a partir de diversas fontes, tais como batata, trigo, arroz, cana-de-açúcar, dentre outros (GORP, 1999). A síntese inicia pela hidrogenação catalítica da glicose, frutose ou sacarose, que é catalisada pelo níquel (Ni), a temperatura de cerca de 150°C e pressão entre 40 e 50 atm. O produto da reação, o xarope de sorbitol, passa por várias colunas de troca-iônica para que seja reduzido a concentração de níquel e posteriormente possa entrar no mercado (FARIA, 2002; ERNANDES, 2009).

Na indústria o sorbitol é usado em várias áreas, como alimentícia e a saúde. Esse composto, estimula interesse por ser lentamente absorvido pelo intestino delgado por absorção passiva, sem elevar o nível de glicose no sangue e por ser convertido no fígado em glicose pela aldose redutase, ou à frutose pela sorbitol desidrogenase (SILVEIRA, JONAS, 2002; AKINTERINWA et al, 2008; DABBAWALA et al., 2013). É a metabolização em composto atóxico, juntamente com estrutura química e suas propriedades, por exemplo ser bacteriostático, estável, solúvel em água e solvente orgânicos, além de suportar altas temperatura, que torna o sorbitol amplamente empregado na área da saúde, principalmente nas indústrias químicas, cosmecêuticas e farmacêuticas (GORP, 1999).

## **4. SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS UTILIZADAS NESTE TRABALHO**

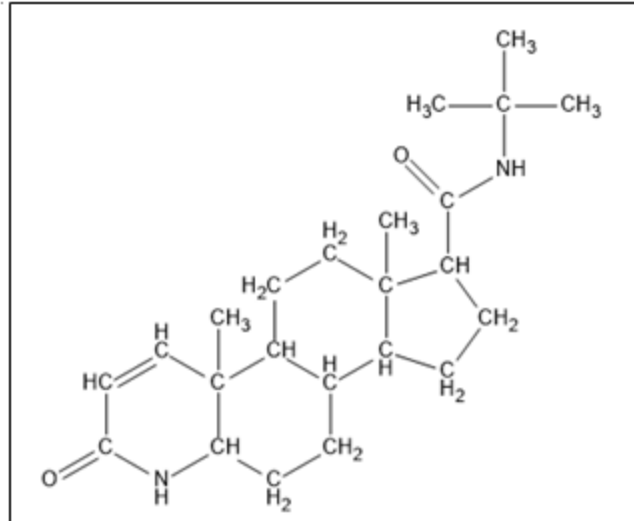
### **4.1 Finasterida**

A finasterida, utilizada para hiperplasia benigna da próstata e calvície, é um fármaco antiandrógeno que inibe a 5 $\alpha$ -redutase do tipo 2, receptor conversor da testosterona em di-hidrotestosterona (DHT) (MILLER, 2003). Embora exista essa inibição, o organismo não deixa de produzir o DHT, pois a isoenzima tipo 1 não é afetada pela ação do fármaco (ANDRIOLE et al., 2005).

Essa droga trata-se de um pó branco ou quase branco, cristalino, que possui polimorfismo (SWEETMAN, 2005). Solúvel em solventes orgânicos polares, como metanol, clorofórmio e DMSO, praticamente insolúvel em água, tendo sua solubilidade à temperatura ambiente na ordem de 0,043 mg/mL (BUDAVARI, 1996; LOFTSSON, HREINSDÓTTIR, 2006). É Denominada quimicamente por N-(2-metil-2-propil)-3-oxo-4-aza-5 $\alpha$ -androst-1-eno-17 $\beta$ -carboxamida (Figura 5), tem a fórmula

molecular  $C_{23}H_{36}N_2O_2$  e apresenta massa molar de  $372,55 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (FARMACOPEIA BRITÂNICA, 2003).

**Figura 5: Estrutura química da finasterida**



Fonte: Elaborado pela autora.

O fármaco é administrado por via oral, sendo bem absorvido e alcançando uma concentração plasmática máxima de 39 ng/mL. Não pode ser usado por via tópica, devido à dificuldade em atravessar as barreiras lipídicas (GRIFFITH, WINTER, 2000). Sua biodisponibilidade é em torno 80% e a meia vida de 6 horas em jovens e 8 horas em pessoas acima de 70 anos (SWEETMAN, 2003). A finasterida ainda se liga em até 90% com as proteínas plasmática e seu metabolismo ocorre no fígado, em que os metabolitos sintetizados são excretados na urina e nas fezes.

É considerada uma substância seguras por não interagir com outros medicamentos, sendo possível sua administração com outras substâncias. Pode ser administrada com ou sem alimentação, nas doses de 1 mg/dia para o tratamento da calvície ou duas a três doses de 5 mg/dia para a hiperplasia benigna.

A droga pode promover alguns efeitos adversos, o mais frequentes: diminuição da libido, impotência, transtornos de ejaculação e redução do volume de sêmen. E os eventuais como ginecomastia (inchaço do tecido mamário masculino), mastalgia (dor nas mamas), além de reações de hipersensibilidade, por exemplo, inchaço do rosto e dos lábios, prurido, urticária, exantemas (erupções cutâneas) e dor testicular (SWEETMAN, 2003, PATEL, CHAPPLE, 2006). A finasterida tem restrição para mulheres em idade reprodutiva, pois pode levar a feminização do feto

do sexo masculino ou os que estão sendo amamentados (GORMLEY, 1995; PRAHALADA et al., 1998).

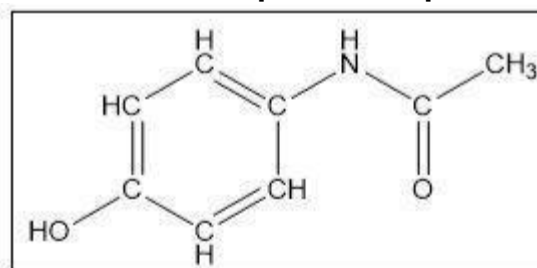
## 4.2 Paracetamol

O paracetamol, ou acetaminofeno, é um fármaco de venda livre e um dos mais vendidos no Brasil, em diversas formas de apresentação, tais como: cápsulas, drágeas, comprimidos, gotas, xarope, efervescentes e pastilhas. É um analgésico (medicamento para alívio da dor) e antipirético (atua na redução e prevenção da febre) de ação analgésica média, antipirética alta e anti-inflamatória baixa (TAGLIATI, 2008; HE et al., 2011).

Foi sintetizado em 1878 por Harmon Northrop Morse e utilizado clinicamente em 1887, por von Mering que logo descartou o paracetamol em favor da fenacetina, porque suas propriedades eram menos tóxicas. Apenas em 1948, Brodie e Axelrod demonstraram que o principal metabólito responsável pela ação analgésica da fenacetina era o paracetamol e que os efeitos tóxicos eram produzidos por outro metabólito, a fenil-hidroxilamina (BERTOLINI et al., 2006).

A síntese da droga pode ser realizada a partir da reação do p-aminofenol com o anidrido acético – a acetilação do p-aminofenol resulta no ácido acético e no paracetamol (KOROLKOVAS, BURCKHALTER, 1988; REFAT et al., 2013). O paracetamol é um pó cristalino branco, inodoro, de sabor levemente amargo, insolúvel em clorofórmio e solúvel em água e etanol. Possui um ponto de fusão compreendido entre 168° a 172°C e quimicamente é denominado por *N*-(4-Hidroxifenil)acetamida (Figura 6), cuja fórmula molecular é C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>, correspondendo a uma massa molecular de 151,16 g.mol<sup>-1</sup> (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

**Figura 6: Estrutura química do paracetamol**



Fonte: Elaborado pela autora.

A droga é administrada por via oral, tendo absorção no trato gastrointestinal, atingindo o pico de concentração plasmática entre 40 a 60 minutos, com biodisponibilidade em torno de 75%, meia-vida de 1 a 3 horas e volume de distribuição de 0,8 a 1 L/kg. O paracetamol liga-se as proteínas plasmáticas em média de 20% e pode atravessar a barreira hematoencefálica e placentária (MUNNÉ, 2003).

A metabolização ocorre via biotransformação hepática através da conjugação com ácido glicurônico (40% a 67%), sulfatação (20% a 46%, principalmente em crianças) e oxidação (5% a 15%) (MOKHLESI et al., 2003). A conjugação e sulfatação produzem metabólitos atóxicos que são eliminados pela urina, enquanto a via oxidativa produz um metabólito reativo altamente tóxico que, em condições terapêuticas, se une a glutatona, formando conjugados de cisteína e ácido mercaptúrico que neutralizam a toxicidade, mas em superdosagem, há saturação das vias metabólicas principais, ocorrendo então, a oxidação. Isso excederá a capacidade de desintoxicação da glutatona, gerando logo, maior quantidade de metabólito tóxico (*n*-acetil-*p*-benzoquinonimina [NAPBQI]) (MUNNÉ, 2003; ROWDEN, et al., 2005).

Os principais efeitos adversos do paracetamol são hepatotoxicidade, asma, promovida por danos teciduais, espasmos musculares, hiperresponsividade brônquica e permeabilidade vascular provocada por radicais livres de oxigênio. A diminuição da glutatona também influenciar na produção de quimiocinas, promovendo assim, o desenvolvimento de doenças atópicas, cardiovasculares, neurológicas e endócrinas (WÉMEAU et al., 2011). Esses efeitos, são produzidos quando existe administração de superdosagem, ou seja, dose a cima de 4 g/dia, ou ainda, quando o fármaco é associado com outros medicamentos, tais como isoniazida, halotano, fenitoína, fenobarbital, carbamazepina e rifampicina (ALBERTO et al., 2009; SEBBEN et al., 2010).

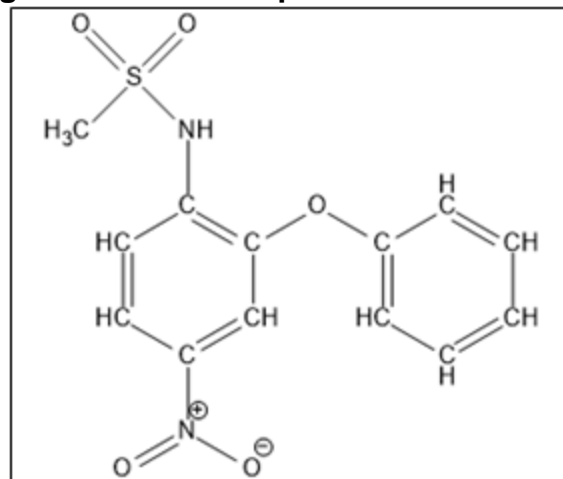
### **4.3 Nimesulida**

Pertencente a categoria II da Classificação Biofarmacêutica (baixa solubilidade, alta permeabilidade) é um anti-inflamatório ácido, não- esteroide, com propriedades analgésica e antipirética (AMIDON et al., 1995; MERIANI et al., 2003). Encontrado nas formas farmacêuticas de soluções, suspensões, granulados e

injetáveis; trata-se de um fármaco em pó amarelado, cristalino, não higroscópico, inodoro, praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em álcool, muito solúvel clorofórmio e possui um faixa de fusão média em 144°C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; GOUVEIA, 2011).

Quimicamente a nimesulida é conhecida por *N*-(4-Nitro-2-fenoxifenil) metanossulfonamida (Figura 7), de massa molar igual a 308,31 g.mol<sup>-1</sup> e fórmula molecular C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Por ser uma alquilsulfonamida, é considerada com elevado potencial anti-inflamatório e de segurança terapêutica (LIU, 2000).

**Figura 7: Estrutura química da nimesulida**



Fonte: Elaborado pela autora.

É uma droga de meia vida em torno de 4h, que quando administrada por via oral, em dose única de 100 mg, é absorvida pelo trato gastrointestinal alcançando o pico de concentração máxima entre 2 a 4 mg/mL em cerca de 2 horas (LAURINI, 2007). A distribuição dessa pelos tecidos varia entre 0,18 a 0,39 L/kg, e liga-se 99% com as proteínas plasmáticas, logo, menos de 1% da concentração está disponível para serem distribuídas pelos tecidos extravasculares (TEIXEIRA, 2009). A eliminação é por via urinária em sua maioria, podendo também ser através das fezes (RCM, 2007).

O mecanismo de ação é inibindo seletivamente a COX-2 (ciclo-oxigenase), o que interfere na produção e liberação das prostaglandinas e tromboxanos, (agregantes plaquetários). Essa inibição a COX-2 estaria relacionada aos efeitos colaterais do fármaco que, em alguns casos, promove sonolência, cefaleias, tonturas e vertigens (LAURINI, 2007). Enquanto no trato gastrointestinal os efeitos podem



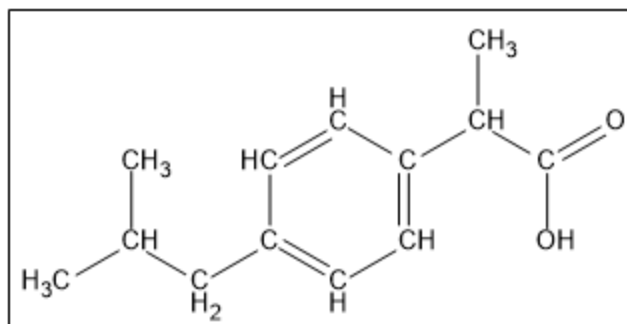
incluir dispepsia, diarreia, dor epigástrica, náuseas e vômitos e, em alguns casos, sangramento gástrico e ulceração (TEIXEIRA, BIELA, 2001).

#### 4.4 Ibuprofeno

Composto pertencente aos fármacos derivados do ácido propiônico, é um anti-inflamatório não esteroide de ação moderada e de primeira escolha, por apresentar menor incidência de efeitos adversos (BROCKS, JAMALI, 1999; OSSWALD, 2001). Possui também ação analgésica e antipirética e é utilizado para alívio de dores brandas e moderadas tais como: dor de cabeça e enxaqueca, dor pós-operatória, dor de dentes, cólica menstrual, desordens músculo-esqueléticas e articulares, espondilite anquilosa, osteoartrite e artrite reumatoide (SEBASTINE, WAKEMAN, 2003).

A droga apresenta-se como um pó cristalino branco ou quase branco, com odor característico, praticamente insolúvel em água e solúvel em álcoois e clorofórmio, tendo ainda ponto de fusão em torno de 76° C. Quimicamente é conhecida por ácido  $\alpha$ -metil-4-(2-metilpropil)benzoacético (Figura 8), de massa molar 206,28 g.mol<sup>-1</sup> e fórmula molecular C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

**Figura 8: Estrutura química do ibuprofeno**



Fonte: Elaborado pela autora.

O ibuprofeno foi originalmente sintetizado em 1961, no Reino Unido, pelo Dr. Stewart Adams e pelos seus colegas John Nicholson e Colin Burrows, vindo ser comercializado em 1969 para o tratamento da artrite reumatoide (ALMEIDA, 2009). A administração do fármaco é geralmente feita com a mistura racêmica, em que o isômero S-ibuprofeno é biologicamente ativo e o R-ibuprofeno inativo. Segundo

Duggan (2011), a presença da enzima isomerase 2-arilpropionil-CoA epimerase permite converter 50% a 60% de R-ibuprofeno no enantiômero S-ibuprofeno. Entretanto, a fração não convertida pode se tornar biologicamente ativa e exibir alguma toxicidade, embora alguns estudos revelem que a toxicidade estaria ligada ao armazenamento no tecido adiposo (WILLIAMS et al., 1986; DAVIES, 1998; LEDNICER, 2008; LIU, WANG et al., 2009).

Comercialmente, o fármaco é encontrado nas formas farmacêuticas comprimidos, cápsulas, suspensão oral, granulado, supositórios, creme ou gel e gotas de aplicação oral, tópica e injetáveis (MARQUES, 2009). Quando administrado por via oral apresenta uma boa absorção pelo trato gastrointestinal, iniciando sua ação entre 15 a 30 minutos, após administração. Alcança o pico de concentração plasmática entre 1 a 2 horas, sua biodisponibilidade é acima de 80% e a meia-vida é cerca de 2 horas. Liga-se 99% às proteínas plasmáticas e possui uma distribuição de 0,1 a 0,2 L/kg. A metabolização é via hepática oxidativa, em sua maioria, e por conjugação, em que 4 metabolitos, todos inativos, serão gerados e eliminados por via urinária, sendo ainda 1% de forma inalterada (ALMEIDA, 2009; SEABRA, 2015).

Sua ação é na inibição das ciclo-oxigenases COX-1 e COX-2, que por consequência há inibição das prostaglandinas, o que evita o processo inflamatório (RAINSFORD, 2009). Os efeitos adversos mais comuns são de origem gastrointestinal (náusea, vômito, dor epigástrica, desconforto abdominal, diarreia, constipação intestinal). Podendo ocorrer também reações de hipersensibilidade, ambliopia (diminuição da acuidade visual) tóxica (diminuição da acuidade visual), elevação significativa da transaminase no soro, retenção de líquidos, edema, inibição da agregação plaquetária, linfopenia (diminuição do número de linfócitos), anemia hemolítica, granulocitose, trombocitopenia, tontura, “rash” cutâneo, depressão, insônia e insuficiência renal em pacientes desidratados (MARQUES, 2009).

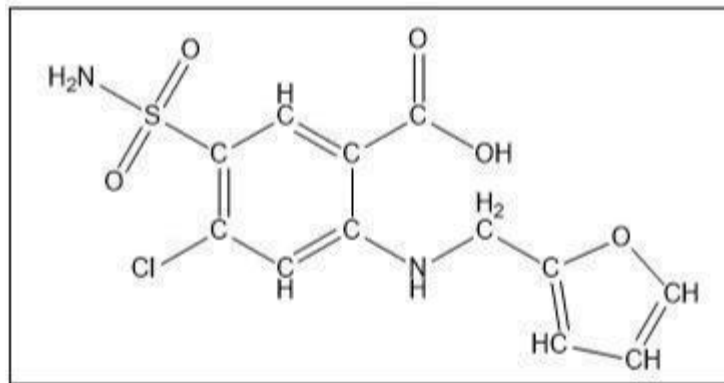
#### **4.5 Furosemida**

Droga da família das sulfonamidas, a furosemida, classificada como um diurético de alça, atua inibindo o transporte simultâneo dos íons sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) no ramo ascendente espesso da alça glomerular (OATES, 1996; KATZUNG, 2005). É amplamente utilizado por sua rápida ação diurética, sobretudo em quadros agudos, por exemplo hipertensão arterial, sendo empregada também na

terapêutica do edema pulmonar agudo, no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva crônica, bem como em edema, ascite decorrente da cirrose hepática e hipercalcemia (MARTINDALE, 1941; SILVA, 1994, BRUNTON et al., 2007).

Trata-se de um fármaco em pó, de baixa solubilidade e baixa permeabilidade, de aparência cristalina branca ou quase branca, inodoro, insolúvel em água, ligeiramente solúvel em etanol e muito solúvel em acetona e dimetilformamida. Quimicamente denomina-se ácido 5-(aminossulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil)amino]-benzoico, determinado conforme a estrutura química da Figura 9, massa molar  $330,74 \text{ g.mol}^{-1}$  e fórmula molecular  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$  (BRUNTON et al., 2007; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

**Figura 9: Estrutura química da furosemida**



Fonte: Elaborado pela autora.

Comercialmente, a furosemida é vendida sob as formas de comprimido, cápsula ou solução injetável, e em associações, sob as formas comprimido e cápsula (KOROLKOVAS, 1995; 1996). Ao ser administrado por via oral, o fármaco é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, alcançando a concentração máxima em cerca de 1,5 hora e em caso de administração por via parenteral, em 15 minutos, o tempo de duração do efeito varia entre 3 a 6 horas.

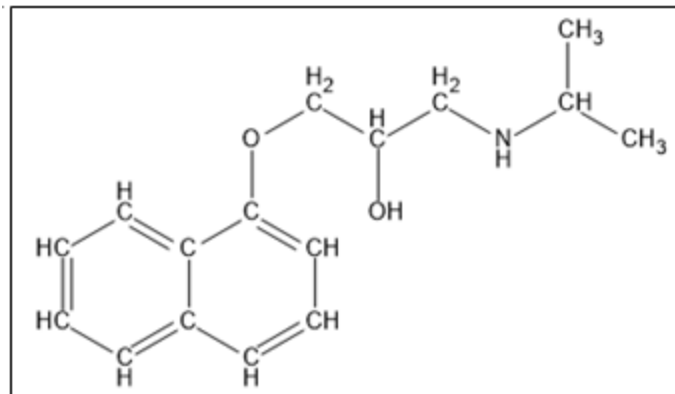
A furosemida liga-se 98% a proteínas plasmáticas e tem biodisponibilidade média de 60%, que pode ser influenciada quando administrada junto com alimentação. Sua distribuição pelo organismo apresenta taxa de 0,1 a 0,2 L/kg, metaboliza-se 35% no fígado, com excreção urinária dos metabólitos, juntamente com os 65% restante que não foram metabolizados (BRUNTON et al., 2007; SILVEIRA et al., 2011).

Alguns efeitos adversos são observados com o uso da droga, tais como: distúrbio eletrólitos sintomáticos (polidipsia (sede excessiva), cefaleia, confusão, dores musculares, tetania, fraqueza muscular, distúrbios do ritmo cardíaco e sintomas gastrintestinais), redução acentuada de pressão, aumento nos níveis séricos de colesterol e triglicérides, reações cutâneas e alcalose metabólica. Entre os sintomas gastrointestinais destacam-se náuseas, vômitos ou diarreia, ocorrendo em casos raros. Em casos isolados, podem se desenvolver colestase (interrupção do fluxo biliar) intra-hepática, aumento nas transaminases hepáticas ou pancreatite aguda (BRUNTON et al., 2007).

#### 4.6 Propranolol

O propranolol é um fármaco beta bloqueador adrenérgico, não seletivo, de primeira geração e usado sob a forma de cloridrato (CHEN et al., 1999; GOTTLIEB, MCCARTER, 2001; NEWTON et al., 2015). É encontrado nas formas farmacêuticas comprimidos (10, 40 e 80 mg), cápsulas (80 e 160 mg), pó (40 mg) e solução injetável (1mg/mL) para tratamento da hipertensão arterial, angina, fibrilação atrial, arritmia, cardiopatia obstrutiva, glaucoma, infarto do miocárdio, e ainda para alívio da enxaqueca (BRASIL, 2002; RODRIGUES et al., 2006; GOODMAN; GILMAN, 2011; ABRUZZO et al, 2015).

Possui como características físicas um caráter anfifílico, ponto de fusão em torno de 164°C e aparência sólida branca ou quase branca. O fármaco ainda é inodoro, de sabor amargo, aspecto cristalino ou amorfo, praticamente insolúvel em clorofórmio e solúvel em água e etanol, sendo considerada uma droga de alta solubilidade e alta permeabilidade. Conhecido quimicamente, conforme sua estrutura (Figura 10), como cloridrato de 1-[(1-metiletil)amino]-3-(1-naftaleniloxi)-2-propanol, de massa molar  $295,80 \text{ g.mol}^{-1}$  e fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2.\text{HCl}$  (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; GARTI, 2012).

**Figura 10: Estrutura química do propranolol**

Fonte: Elaborado pela autora.

Por ser anfifílico, o propranolol é facilmente absorvido pelo trato gastrointestinal, em que o princípio ativo é rapidamente metabolizado no fígado antes de chegar na circulação sistêmica, sofrendo dessa forma o efeito de primeira passagem (ABRUZZO et al, 2015). Em média, apenas 25% do fármaco atinge a circulação sistêmica e o pico de concentração plasmática acontece uma a duas horas após a ingestão, variando de indivíduo, levando à necessidade de doses altas. A droga tem uma meia-vida entre 3 a 6 horas, distribuição de 4 L/kg, ligando-se 90% às proteínas plasmáticas.

O propranolol metaboliza-se no fígado, em que um dos metabolitos é o 4-hidroxi-propranolol, que é biologicamente ativo (HOFFMAN, LEFKOWITZ, 1996). A eliminação é pela urina, em que 0,5% é eliminada de forma inalterada (RODRIGUES, 2006; NEWTON et al., 2015). Dentre os efeitos adversos do propranolol, estão: broncoespasmos, hipoglicemia e vasoconstrição periférica, ocorrendo principalmente em pacientes com asma, redução do miocárdio, insuficiência vascular periférica e diabetes (GOODMAN et al., 1997; BENOWITZ, 2003). Podendo-se também observa com menos frequência: diarreia, vômito, náusea e constipação (BENOWITZ, 2003; PONTES, 2009).

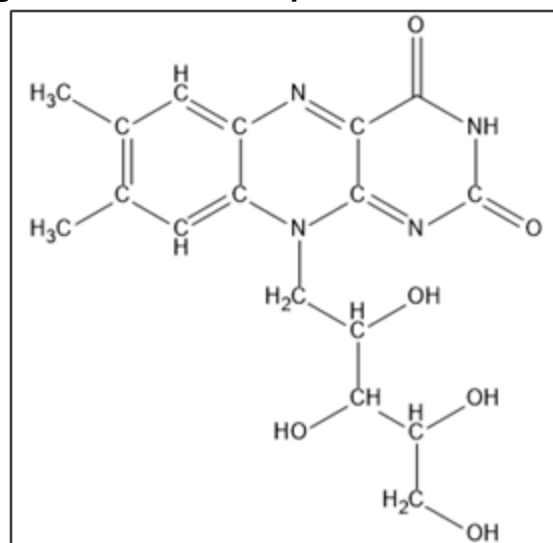
#### 4.7 Vitamina B2 (Riboflavina)

A Riboflavina é uma vitamina hidrossolúvel descoberta em 1879 pelo químico inglês A. Wynter Blyth, de forma não purificada (MASSEY, 2000). Apenas em 1933, a substância, que apresenta fluorescência verde-amarelada, foi isolada por Kuhn, György e Wagner-Jauregg, no Instituto Kaiser Wilhelm, a partir do ovo, sendo

chamada então de ovoflavina (PERVEEN et al., 2009). Em seguida, um grupo de pesquisadores isolou essa substância a partir do soro do leite, chamando-a de lactoflavina. Ao mesmo tempo, Ellinger e Koschara, da Universidade de Düsseldorf, isolaram substâncias semelhantes a partir de fígado, rim e músculos, sendo designados como flavinas e tendo sua estrutura determinada em 1934 (VILLELA; HARGREAVES, 1945; SOUZA, 2005). O prefixo ribo foi adicionado ao nome por causa da cadeia ribitol.

Essa vitamina é encontrada além do leite, também em carne, peixe e, principalmente, em vegetais de cor verde-escura (COMBS, 2008) e apresenta massa molar de  $376,40 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , fórmula molecular  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ , sendo denominada quimicamente por 7,8-dimetil-10-ribitol-isoaloxazina (Figura 11) ((VILLELA; HARGREAVES, 1945; POWERS, 2003).

**Figura 11: Estrutura química da riboflavina**



Fonte: Elaborado pela autora.

Trata-se de um pó cristalino amarelo-alaranjado, de sabor amargo e odor leve, que em estado anidro é estável à luz, entretanto, em soluções alcalinas, decompõe-se rapidamente. É levemente solúvel em água e em álcool, e insolúvel em éter etílico e clorofórmio, sendo seu ponto de fusão igual a  $285^\circ \text{C}$  (ANICETO et al., 2000).

Sua dose diária varia de 0,3 a 0,9 mg/dia para crianças e 1,3 mg/dia para adultos, e em casos de deficiências 5 a 30 mg/dia. As doses podem ser por via oral ou parenteral (MOREIRA, 1999; BATISTUZZO, 2006). A indicação é para o tratamento e prevenção dos estados de sua deficiência, pois a riboflavina apresenta

papel dos mais importantes em diversos processos metabólicos, achando-se envolvida na transformação dos lipídios, glicídios, proteínas (FRANCO, 2000). Além disso é precursora das coenzimas participantes da cadeia transportadora de elétrons como a flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e a flavina mononucleotídeo (FMN), podendo também originar outras flavinas, como as que atuam na catálise, principalmente as relacionadas ao reparo do DNA (SOUZA, 2005).

A deficiência pode levar de início a sintomas como paralgia (insensibilidade a dor), cãibras, estomatite angular (inflamação da superfície do lábio), queilose (afecção dos lábios), vascularização corneana (olhos vermelhos e coceiras) e dermatose (manifestações alérgicas na pele) (FRANCO, 2000; BATISTUZZO, 2006).

Quando ingerida a vitamina B2 de meia-vida de 1,1 hora, é rapidamente absorvida no intestino delgado através de mecanismo de transporte específico que envolve a fosforilação da riboflavina pela enzima flavoquinase em FMN, sendo a reação sensível ao hormônio tireoidiano e inibida pela clorpramazina e pelos depressores tricíclicos. É distribuída uniformemente por todos os tecidos, inclusive placentário, armazenada em pequena quantidade e fixada principalmente sob forma de flavoproteínas. A eliminação ocorre pela urina na forma inalterada e como metabolito riboflavina-5'-fosfato (DUKES, 1996; ZEMPLINI, 1996; MILKPOINT, 2005). Efeitos adversos não são observados, principalmente quando há administração excessiva da riboflavina (BATISTUZZO, 2006).

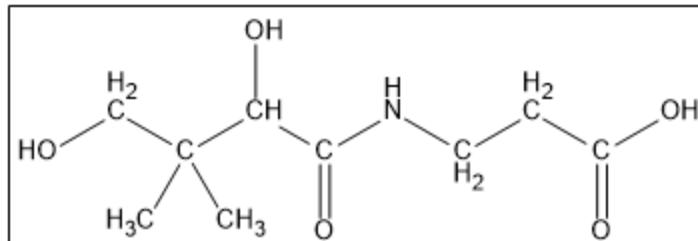
#### **4.8 Vitamina B5 (Ácido pantotênico)**

A descoberta da vitamina B5 ou ácido pantotênico é atribuída a J.R. Williams em 1939, ao identificar a substância como essencial para o crescimento das leveduras (WILLIAMS, 1939; OTTAWAY, 1993; FRANCO, 2008). O nome de origem grega, significa “por toda parte”, indicando a extensão dessa vitamina na natureza (OLIVEIRA, 2014). É encontrada na forma livre em alimentos, por exemplo em gema de ovo, leite, carne bovina, frango, leveduras, legumes e alguns cereais e; e ligada no organismo a coenzima A (CoA) e a proteína carreadora do grupo acil (ACP) como aceptores e doadores de prótons. Ambos as enzimas estão presentes no tecido muscular, no fígado e nos rins dos animais (ALMEIDA, 2003; MITTERMAYR et al., 2004; GROPPER, 2009).

Caracteriza-se como um pó cristalino branco, insolúvel em éter etílico e solúvel em água e acetato de etila. Estável em pH neutro e termolábil em soluções de pH ácido ou básico. A estabilidade depende do pH, fazendo com que a vitamina B5 se diferencie das outras do complexo B, por sofrer lixiviação quando surge qualquer alteração de pH. Por esta razão, a forma em sal é mais usada, por ser mais estável, como por exemplo, o pantotenato de cálcio (BALL, 2004; KELLY, 2011).

De acordo com a estrutura química (Figura 12), o ácido pantotênico é conhecido por N-(2,4-di-hidroxi-3,3-dimetil-butiril-β-alanina) com massa molar 219,23 g.mol<sup>-1</sup> e fórmula molecular C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>. É formado pela síntese entre a β-alanina, em ligação amido com o ácido pantóico (ALMEIDA, 2003, DAMADORAN, 2010). O ácido pantotênico não é sintetizado pelo organismo, sendo ativo biologicamente quando ligado a CoA e a ACP (BALL, 2004).

**Figura 12: Estrutura química do ácido pantotênico**



Fonte: Elaborado pela autora.

O corpo humano necessita em média de 5 mg/dia do ácido pantotênico para adultos e crianças, 4 mg/dia durante a gravidez e 1,7 mg/dia durante a lactação (KELLY, 2011). A vitamina B5 está envolvida no metabolismo de ácidos graxos, aminoácidos e carboidratos, na síntese de colesterol, hormônios esteroides, neurotransmissores, porfirinas e hemoglobina, participando da oxidação de ácidos graxos, piruvato e alfa-cetoglutarato, além de ser responsável pela acetilação de fármacos, por exemplo a sulfadimida e isoniazida (FOX, 1990; BENDER, 1999; MORESCHI, 2007).

É administrada por via oral e rapidamente absorvida no intestino delgado, transportada em células hepáticas e musculares para conversão na CoA e na ACP. Sua biodisponibilidade varia entre 40 a 60%, o pico de concentração ocorre em 6 horas e a eliminação é por via urinária (KELLY, 2011). Não existem efeitos adversos documentados, mas a sua deficiência está associada a desordens metabólicas e



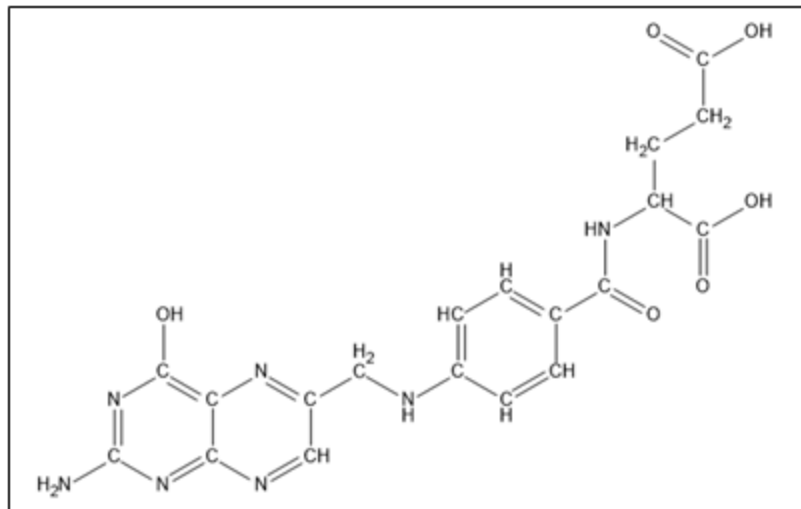
energéticas, além de poder interagir com alguns medicamentos, sendo necessário a recomendação de um médico para a administração (MITTERMAYR et al., 2004; KELLY, 2011).

#### 4.9 Vitamina B9 (Ácido Fólico)

Uma das vitaminas do complexo B, a vitamina B9 foi descrita em 1931 pela hematologista britânica Lucy Wills, como uma substância hematopoiética, encontrada na levedura que tinha ação de curar a anemia microcítica tropical das mulheres da Índia. Mais tarde foi denominada de ácido fólico, por ter sido isolada das folhas de espinafre (JAMRA et al, 1948; POLONEN et al., 1997; MARTINEZ et al., 2009). Esse é um micronutriente essencial para eritropoiese normal e processo de multiplicação celular, indispensável à síntese do DNA e conseqüentemente a divisão celular (WILSON et al., 2007; IYER, TOMAR, 2009).

O ácido fólico é presente na natureza sob a forma de poliglutamato, ou seja, ligada ao S-glutamato, por ser a forma mais estável. Pode ser encontrado nos vegetais verdes, legumes, grãos, frutas cítricas, entre outros, (WANG et al., 2008). O derivado poliglutamato deve ser convertido em monoglutamato para ser rapidamente absorvido, sendo esta a molécula constituinte de suplementos alimentares (DROGUETTI, PENTEADO, 2003).

A vitamina tem aspecto de um pó cristalino amarelo-alaranjado, inodoro, solúvel em água e insolúvel em acetona, etanol e clorofórmio. É quimicamente denominada de ácido *N*-[4-[[[(2-amino-3,4-diidro-4-oxo-6-pteridinil)metil]amino]benzoi] -L-glutâmico, de acordo com a estrutura representada na Figura 13, com massa molar de 440,41 g.mol<sup>-1</sup> e fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

**Figura 13: Estrutura química do ácido fólico**

Fonte: Elaborado pela autora.

O ácido fólico administrado por via oral, dose diária de 0,4 mg/dia, que antes de ser absorvida pelo intestino delgado é convertida em monoglutamato na membrana da borda em escova jejunal ao pH entre 5 e 6, pela ação das enzimas pteroilpoliglutamato hidrolase (folato conjugase ou glutamato carboxilase II), dependente de zinco (UEHARA, ROSA, 2010). O monoglutamato formado sofre redução originando o tetraidrofolato; este é ligado de 40 a 70% às proteínas plasmáticas, vindo a alcançar a circulação portal, onde será submetido à metilação ou formilação nos enterócitos (MARTINEZ et al., 2009).

O produto sintetizado nas células, o monoglutamifolato, é transportado pela veia porta para o fígado, o principal sítio de estocagem e processamento dos compostos. Em seguida, ocorre a distribuição para os tecidos e bile, o qual o pico de concentração plasmática é alcançado em uma hora. A eliminação ocorre por via urinária e também como ácido biliar via intestinal. Tendo ainda a possibilidade de reaproveitamento do produto pelo organismo através da circulação entero-hepática (McGUIRE et al., 2010).

A vitamina raramente apresenta efeitos adversos, os quais podem ser diagnosticados quando existe superdosagem, sendo evidenciados por alterações no SNC, distúrbios gastrintestinais e cutâneos. Além disso, pode levar à diminuição da absorção de zinco, acarretando sintomas como perda do apetite, alteração na saúde cutânea, entre outros (NEKEL, 2013). Entretanto em caso de deficiência sintomas como anemia megaloblástica, doenças cardiovasculares, trombose venosa, úlceras,

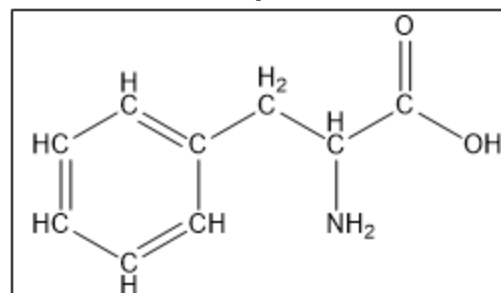
infertilidade, feridas e desconfortos na pele e na boca são geralmente observados (COUSSIRAT, 2010; NEKEL, 2013).

#### 4.10 Fenilalanina

Um dos aminoácidos essenciais, a fenilalanina é indispensável na nutrição, sendo encontrada em todas as proteínas vegetal e animal (BEHRMAN, 2002; KIM et al., 2004). O aminoácido é importante na síntese de proteínas do organismo, em que uma mínima porção é direcionada para síntese e a maior parte convertida em outro aminoácido, a tirosina, que além de participar da síntese proteica, será precursora de neurotransmissores e hormônios (CLARK, 2010; GONÇALVES et al., 2010; ALVES, 2015).

A fenilalanina apresenta-se como um pó cristalino branco, sem odor ou com leve odor característico, de sabor levemente amargo. Solúvel em água e insolúvel em etanol. É uma molécula anfótera conhecida quimicamente como ácido 2-amino-3-fenil-propanoico, segundo a estrutura química representada na Figura 14. Esta apresenta valores de pK em 2,11 e 9,13, e ponto isoelétrico (pI) em 5,48, possui massa molar igual a  $165,18 \text{ g.mol}^{-1}$  e fórmula molecular  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$ , além do ponto de fusão de  $283^\circ\text{C}$  (NAKAMICHI et al, 1984; ALVES, 2015).

**Figura 14: Estrutura química da fenilalanina**



Fonte: Elaborado pela autora.

A dose recomendada da fenilalanina é entre 50 a 100 mg/dia para adultos e 250 a 500 mg/dia para crianças saudáveis (MARQUEZ et al., 1997). Quando ingerida, é convertida à tirosina pela hidroxilação realizada pela apoenzima hepática fenilalanina-hidroxilase e o cofator tetraidrobiopterina.

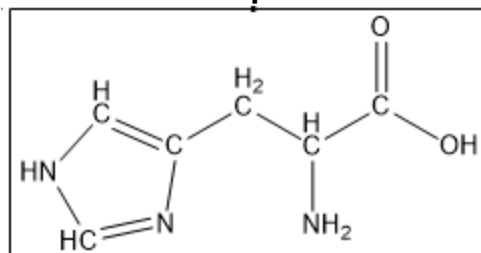
#### 4.11 Histidina

Classificada como um aminoácido essencial, a histidina regula os níveis de metais essenciais, auxilia no desenvolvimento e manutenção da mielina (camada lipídica envolta das fibras nervosas), constitui a pele, matriz ósseas, ligamentos, órgãos e músculos, e ainda precursora do hormônio histamina (MURRAY, 2003; COX, NELSON, 2006). Possui propriedades anti-inflamatória e antioxidante. A ação antioxidante é observada em pequenos peptídeos que contem a histidina, pois são agentes sequestradores dos radicais hidroxila e do oxigênio singlete (espécie eletronicamente excitada da molécula do oxigênio), um importante fator que participa de muitos processos oxidativos deletérios (BARISON, 2015).

Segundo Wade (1998), a histidina interage quimicamente com as espécies do oxigênio através da interferência nas reações de redox, originando radicais hidroxilas, e por interações entre seu anel imidazólico e o oxigênio singlete.

A histidina apresenta-se como um pó cristalino ou um cristal branco, cuja célula unitária pode ser monoclinica ou ortorrômbica. É solúvel em água e insolúvel em etanol e éter etílico, e tem o ponto de fusão em 287° C (NOZAKI, TANFORD 1963; AJINOMOTO, 2016). Quimicamente, é denominada de ácido (S) 2-Amino-1H-imidazola-4-propanóico (Figura 15). Sua fórmula molecular é  $C_6H_9O_2N_3$  e o massa molar  $155,16 \text{ g.mol}^{-1}$ . Possui caráter básico fraco e apresenta valores de pK em 1,82 e 9,17 e o ponto isoelétrico em 7,59 (CHAITOW, 1989).

**Figura 15: Estrutura química da histidina**



Fonte: Elaborado pela autora.

A dose diária do aminoácido varia de 100 a 150 mg, podendo ser de 1 a 6 g quando administrada concomitantemente com a vitamina C (BATISTUZZO, 2000). Absorvida no trato gastrointestinal, a histidina é metabolizada à histamina por descarboxilação catalisada pela enzima histidina-decarboxilase (PINTO, 2012).

A deficiência de histidina na dieta pode diminuir as concentrações plasmáticas de proteínas, que por sua vez prejudica a resposta imune. Além disso, o déficit pode causar transtornos auditivos, acumulação de radicais livres e vômitos durante a gestação (JONES et al., 2005). Entretanto o excesso da histidina não causa danos ao organismo (BATISTUZZO, 2000).

Esses dados descritos na literatura visando as aplicabilidades dos componentes escolhidos para a matriz polimérica e as vantagens e necessidades das substâncias bioativas para o organismo, objetivou a pesquisa a desenvolver sistemas de liberação controlada nano e microestruturados (micelas e tapetes fibrilares) para entrega dessas substâncias bioativas. Sendo selecionados um azoesteróide (finasterida), um analgésico (paracetamol), dois anti-inflamatórios (nimesulida e ibuprofeno) e dois anti-hipertensivos (furosemida e propranolol) para serem inseridos em micelas, cujas finalidades é obter vantagens quando comparadas com as formas convencionais de administração, principalmente em relação à quantidade de vezes que são administrados e a concentração elevada da dose. Visto que, uma quantidade de tempo de administração menor e uma concentração de dose mais baixa, tende a diminuir efeitos adversos e tóxicos.

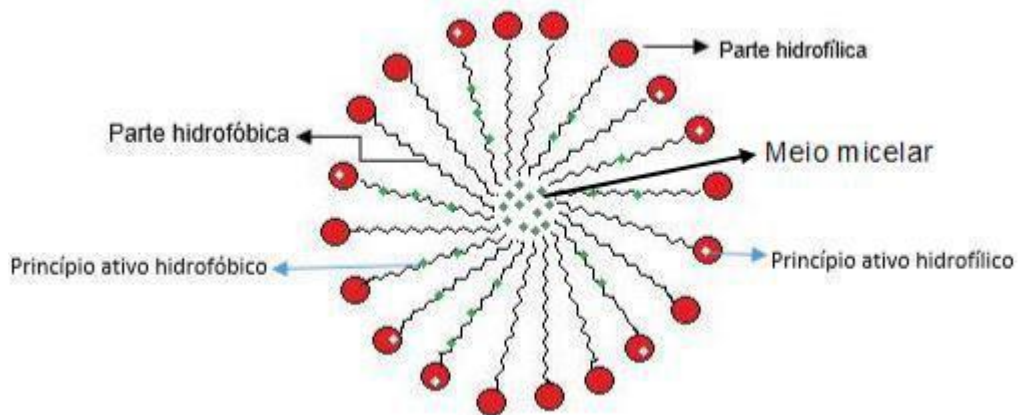
Enquanto os tapetes fibrilares foram confeccionados pois além das vantagens apresentadas para as micelas, este dispositivo se sobressai por não formar aglomerados e flocos, o que poderia vim provocar embolia em pacientes. Portanto foram selecionados como substâncias bioativas para compor os tapetes fibrilares, a finasterida e paracetamol, e além destes, vitaminas do complexo B (B2, B5 e B9) e aminoácidos essenciais (L-fenilalanina e L-histidina). Tanto as vitaminas como os aminoácidos foram escolhidos por causa da sua importância nutricional, pois serão utilizados como suplementos nutricionais a longo prazo.

**Capítulo II:**  
**MICELAS COPOLIMÉRICAS,**  
**COMO SISTEMAS**  
**NANOMÉTRICOS SOLÚVEIS**  
**DE LIBERAÇÃO**  
**CONTROLADA DE BIOATIVOS**

## 1. MICELAS COPOLIMÉRICAS

Micelas são estruturas coloidais, anfifílica, tendo um núcleo hidrofóbico e o exterior hidrofílico (Figura 16), podendo ser classificada em três tipos: sistemas micelares mistos (formadas por fosfolipídios e ácidos biliares), nanopartículas micelares (formada por altas pressão entre a substância bioativa, solvente, estabilizante, óleo e água) e micelas poliméricas (LEE et al., 2010; RUPP et al., 2010). São amplamente estudadas como dispositivos de liberação de fármaco, para administração tópica, oral e parenteral (TORCHILIN, 2007).

**Figura 16: Sistema nanoestruturado micelar**



Fonte: Elaborado pela autora.

As micelas poliméricas, foco do trabalho, são sistemas auto-organizados que apresentam tamanhos entre 10 e 200 nm, e caracterizam-se como estrutura de bloco de copolímeros hidrofóbicos e hidrofílicos, contendo ou não o fármaco (BAWARSKI, et al., 2008). Em sua composição, a parte hidrofóbica é altamente variável, o que permite a encapsulação de moléculas com diferentes estruturas, solubilidade e carga iônica, o que contribuirá para a versatilidade do sistema. Enquanto que a parte hidrofílica é formada por polímeros biocompatíveis que minimizam interações indesejadas com os componentes celulares, como poli (etileno glicol) (MIYATA, 2011).

A formação de micelas ocorre através da diminuição gradual da tensão superficial da solução que contém os componentes estruturais da micela. Em consequência, há também uma diminuição da energia livre de Gibbs (CHO et al., 2010). Isto ocorre, porque as moléculas do copolímero tende a se difundir através do

líquido e concentram-se na interface ar/líquido, com as cadeias orientadas e a parte hidrofóbica localizada na parte interna, em caso de o meio ser polar, ou da parte hidrofóbica no meio externo, em meio contendo solventes apolares (micelização reversa) (KILIKIAN et al., 2000).

Nessas condições, as moléculas do copolímero que estavam em agregados unímeros, formam agora partículas coloidais. Com essa formação, é então possível calcular a concentração micelar crítica, que indica a menor concentração na qual as moléculas do copolímero encontram-se nas formas de micelas (DALVIN, 2011).

Esse processo é influenciado por vários fatores, entre os quais tamanho da porção hidrofóbica, concentração dos compostos anfílicos, temperatura e solvente. Enquanto o tamanho da micela formada dependerá da massa molar dos copolímeros, do número de moléculas agregadas, da proporção entre os segmentos hidrofílico e hidrofóbico, bem como o processo escolhido de preparação (MOURYA et al., 2011). As interações químicas, por exemplo, as forças hidrofóbicas serão as principais responsáveis pela formação micelar. Enquanto outras forças intermoleculares, como ligação de hidrogênio e interações eletrostáticas presentes promoverão maior estabilidade (MORSHED et al., 2013).

As interações entre a porção hidrofóbica, o núcleo e os fármacos, principalmente lipofílicos poderão acontecer através de ligações covalentes, interações hidrofóbicas ou incorporação física, e isso fará com que as drogas aumentem a solubilidade (HUSSEINI, PITT, 2008; MIYATA et al., 2011). O exterior hidrofílico, por sua vez, servirá de interface estabilizante entre o meio aquoso e o núcleo. Esse equilíbrio torna as micelas poliméricas um sistema com elevado potencial para transportar fármacos que apresentam fraca solubilidade em água, melhorando a biodisponibilidade bem como a farmacocinética desses fármacos no organismo (TORCHILIN, 2007; MOURYA et al., 2010).

Além do mais, as micelas poliméricas não apresentam citotoxicidade e permitem a conjugação com uma multiplicidade de grupos funcionais, oferecendo vantagens terapêuticas. Algumas limitações do uso das micelas poliméricas são: instabilidade por causa de sua estrutura reversível e formação de agregados e flóculos, que possa vir promover embolia ao paciente (HUSSEINI, PITT, 2008). Entretanto, a gama de vantagens faz com que as micelas poliméricas sejam utilizadas como destaque principal no tratamento de câncer, no transporte de



proteínas, material genético e drogas hidrofóbicas, sendo um sistema intensamente promissor (FRANCIS et al., 2004, MORSHED et al., 2013).

## 2. OBJETIVO

### 2.1 Objetivo Geral

Fabricar micelas a partir de copolímeros biodegradáveis sintéticos para liberação controlada de substâncias bioativas.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar copolímeros tribloco anfifílicos do tipo poliéster-*b*-poliéter-*b*-poliéster por reação de abertura de anel lactônico de 7 ou 3 membros.
- b) Sintetizar copolímeros anfifílicos estrela do tipo sorbitol-*b*-(poliéster)<sub>6</sub> por reação de abertura de anel lactônico de 7 ou 3 membros.
- c) Preparar suspensões micelares com os copolímeros sintetizados.
- d) Determinar a taxa de liberação *in vitro* de substâncias bioativas a partir das micelas copoliméricas.
- e) Verificar a resistência radiolítica de copolímeros e substâncias bioativas pesquisadas quando submetidas à radioesterilização gama, dose de 25kGy.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

**Quadro 1: Materiais utilizados para síntese dos copolímeros e das micelas**

Monômeros e Polímeros	Procedência
$\epsilon$ -caprolactona ( $\epsilon$ -CL) (PM 114,14 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
$\beta$ -butirolactona ( $\beta$ -BL)(PM 86,09 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Poli(etileno glicol)(PEG) (PM 6 kg.mol <sup>-1</sup> ) (passou por tratamento de secagem à vácuo)	REAGEN
Reagentes e Solventes	
Octanoato estanhoso (Sn (Oct) <sub>2</sub> )(PM 405,12 g.mol <sup>-1</sup> ) (Iniciador)	SIGMA – ALDRICH®
Clorofórmio (CHCl <sub>3</sub> ) (PM 119,38 g.mol <sup>-1</sup> ) (foi destilado)	DINÂMICA®
Tetraidrofurano (THF) (PM 72,11 g.mol <sup>-1</sup> )	ÊXODO CIENTÍFICA
Sorbitol (PM 182,17 g.mol <sup>-1</sup> )	DINÂMICA®
Hexano (PM 86,18 g.mol <sup>-1</sup> )	NEON
Xilol (PM 106,17 g.mol <sup>-1</sup> ) (foi destilado)	CINÉTICA®
Fármacos	
Finasterida (PM 372,55 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Paracetamol (PM 151,16 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Nimesulida (PM 308,31 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Ibuprofeno (PM 206,28 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Furosemida (PM 330,74 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Propranolol (PM 295,80 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Materiais em geral	
Pireno (PM 202,25 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Ácido benzoico (PM 122,12 g.mol <sup>-1</sup> )	DINÂMICA®
Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) (PM 288,38 g.mol <sup>-1</sup> )	VE TEC®
Polissorbato 80 (Tween 80) (PM 1309,7 g.mol <sup>-1</sup> )	DINÂMICA®
Saco de diálise (membrana de acetato de celulose), 20kDa cut-off;	SIGMA – ALDRICH®
Membrana HA em éster de celulose (poro 0,45 $\mu$ m)	MILLIPORE
Placa de sílica gel (TLC-PET)	FLUKA
Óleo de silicone	DINÂMICA®
Iodo P.A (PM 253,81 g.mol <sup>-1</sup> )	VE TEC®

Fonte: Elaborado pela autora.

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Síntese de copolímeros

#### 3.2.1.1 Síntese dos copolímeros tribloco *PCL-b-PEG-b-PCL* e *(±)-P(3-HB)-b-PEG-b-(±)-P(3-HB)*

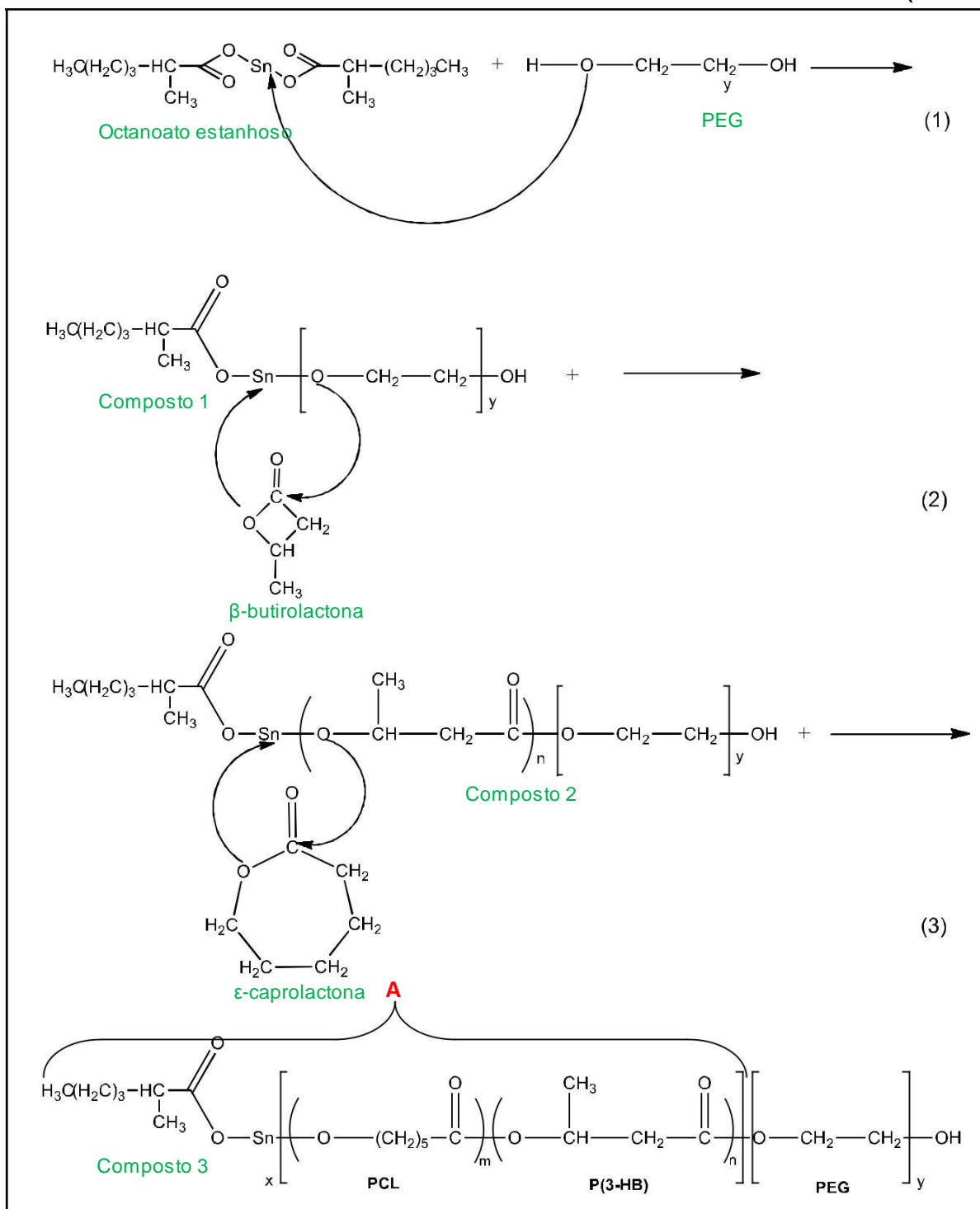
As reações foram realizadas em ampolas de vidro de 5 mL (para cada reação), adicionando 20 mg do iniciador  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  e uma proporção molar de 35:1 de  $\epsilon$ -CL/PEG ou  $\beta$ -BL/PEG. As ampolas seladas a vácuo foram aquecidas em banho de óleo de silicone, a 120° C, por 24 horas. Após este tempo, o produto foi dissolvido em clorofórmio destilado, transferidos para tubos de vidro de 10 mL e precipitados com hexano (LILI, 2007; LIMA, ANDRADE, 2012). De acordo com LILI (2007), a reação é por abertura dos anéis da  $\epsilon$ -caprolactona ou da  $\beta$ -butirolactona via inserção por coordenação, tendo o  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  e o poli(etileno glicol)-OH terminal como macroiniciador da reação.

#### 3.2.1.2 Síntese do copolímero tribloco *(P(CL-co-(±)-(3-HB))-b-PEG-b-(P(CL-co-(±)-(3-HB)))*

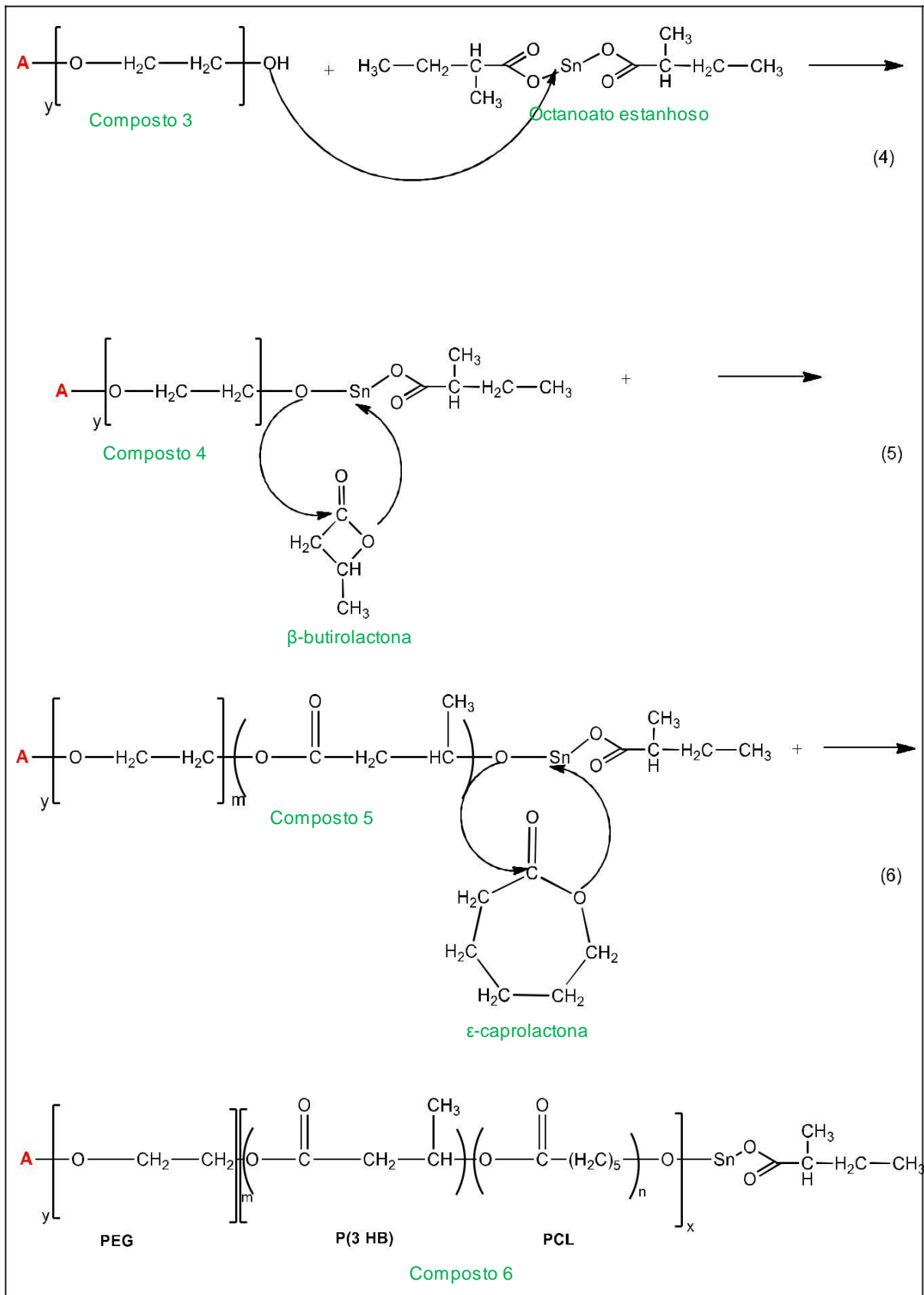
Em uma ampola de vidro de 5 mL foram adicionados 20 mg do iniciador  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  e proporções molar de 122:1:64 de  $\epsilon$ -CL/PEG/ $\beta$ -BL. A reação aconteceu em banho de óleo de silicone, a 120° C, por 24 horas e a vácuo. Em seguida, dissolveu-se o produto em clorofórmio destilado, transferiu-se para tubo de vidro de 10 mL e precipitou-se com hexano (LIMA, ANDRADE, 2012). O mecanismo proposto da reação está apresentado na Figura 17.

**Figura 17: Mecanismo de reação da copolimerização do tribloco (P(CL-co-(±)-(3-HB))-b-PEG-b-(P(CL-co-(±)-(3-HB))))**

(continua)



(continuação)



Fonte: Elaborado pela autora.

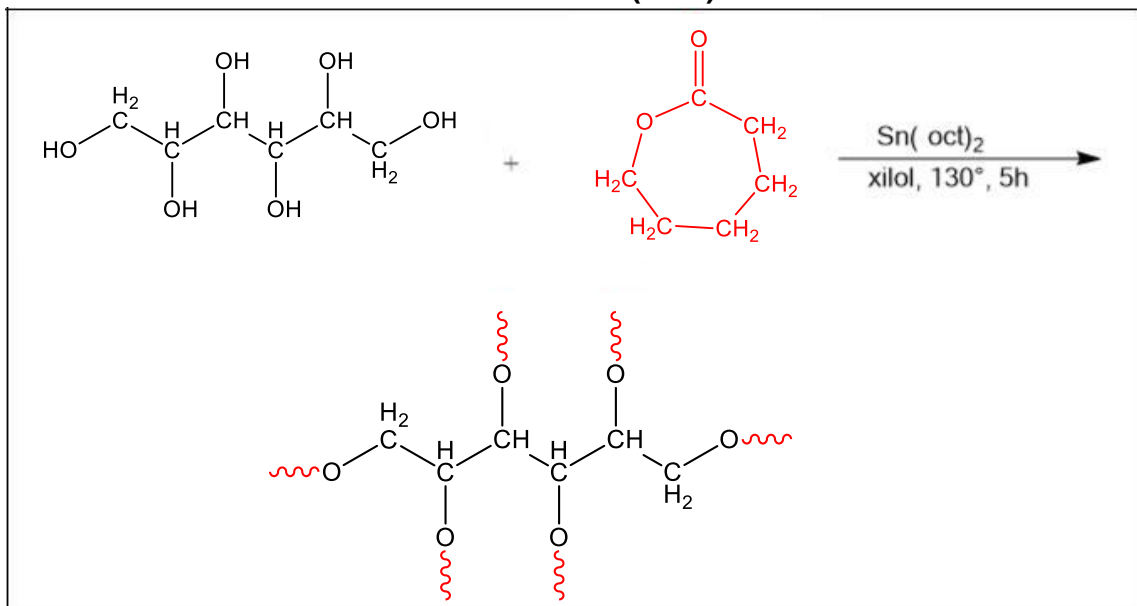
Legenda:

- (1) Na etapa 1: ocorre um ataque do oxigênio da hidroxila, agindo como nucleófilo, no estanho do iniciador. Há a formação de um íon. Em seguida a eliminação do ácido carboxílico, formando o composto 1.
- (2) Na etapa 2: ocorre dois ataques simultâneos para a formação do composto 2, o oxigênio do composto 1 ataca a carbonila da  $\beta$ -butirolactona e o oxigênio do éster da  $\beta$ -butirolactona ataca o estanho do composto 1.
- (3) Na etapa 3: ocorre dois ataques simultâneos também, desta forma para a formação do composto 3, o oxigênio do composto 2 ataca a carbonila da  $\epsilon$ -caprolactona e o oxigênio do éster da  $\epsilon$ -caprolactona ataca o estanho do composto 2.
- (4) Na etapa 4: ocorre um ataque do oxigênio da hidroxila do composto 3, agindo como nucleófilo, no estanho do iniciador. Há a formação de um íon. Em seguida a eliminação do ácido carboxílico, formando o composto 4.
- (5) Na etapa 5: ocorre dois ataques simultâneos para a formação do composto 5, o oxigênio do composto 4 ataca a carbonila da  $\beta$ -butirolactona e o oxigênio do éster da  $\beta$ -butirolactona ataca o estanho do composto 4.
- (6) Na etapa 6: ocorre dois ataques simultâneos também, desta forma para a formação do composto 6, o oxigênio do composto 5 ataca a carbonila da  $\epsilon$ -caprolactona e o oxigênio do éster da  $\epsilon$ -caprolactona ataca o estanho do composto 5.

### **3.2.1.3 Síntese dos copolímeros estrelas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> e sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>**

Adaptada da metodologia de Hao e colaboradores (2005), as sínteses aconteceram por abertura de anel lactônico, catalisada pelo Sn(Oct)<sub>2</sub> e iniciada pelo açúcar-álcool sorbitol (Figura 18). As reações aconteceram em balões volumétricos de 100 mL contendo 1,5 mL do solvente xilol e adicionando 20 mg do catalisador e proporções molar 1:45 de sorbitol/ $\epsilon$ -CL ou sorbitol/ $\beta$ -BL. As reações ocorreram em banho de óleo de silicone, a 130° C, por 5 horas e a vácuo. Posteriormente, os produtos das reações foram dissolvidos em clorofórmio destilado, transferidos para tubos de vidro de 10 mL e precipitados com metanol. Os precipitados foram secos a vácuo por 24 h (HAO et al., 2005).

**Figura 18: Reação geral de copolimerização em estrela do sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>**



Fonte: Elaborado pela autora.

### 3.2.2 Preparação das micelas copoliméricas

Segundo a metodologia de Almeida (2012), a síntese ocorre por difusão de solvente, em que o solvente orgânico é miscível em meio aquoso. Nesse processo os copolímeros anfifílicos se auto associam na emulsão (ALMEIDA, 2012). Os copolímeros sintetizados foram utilizados para construção de micelas capazes de encapsular os fármacos.

Dois métodos de emulsão foram utilizados de acordo com a solubilidade do fármaco. A técnica de emulsão simples ou óleo-água foi utilizada para fármacos hidrofóbicos, dissolvendo-se a substância simultaneamente com o copolímero sintetizado em solvente orgânico. Em seguida, esta fase orgânica foi emulsificada em meio aquoso, com posterior extração o solvente orgânico (LI et al., 2008). Para fármacos hidrofílicos, o método foi emulsão dupla ou água-óleo-água, em que a solução aquosa do fármaco foi emulsificada em fase orgânica contendo o copolímero sintetizado, em seguida, dispersa em uma segunda solução aquosa (HUNTER et al., 1989; O'DONNELL, MCGINITY, 1997; FREITAS et al., 2005).

A quantidade de copolímero usada foi de 50 mg, as dos fármacos foi de 10%, (em massa) e as dos surfactantes lauril sulfato de sódio ou Tween 80 foram 0,4 mg e 0,2 mg, respectivamente. Foram utilizados também 2,5 mL de THF e 12,5 mL de água deionizada. A suspensão micelar foi mantida sob agitação em ultrassom por 5



horas para completa evaporação do THF (ALMEIDA 2012, CRISTOBAL et al., 2012). Após este tempo, foram adicionadas 0,2 mg do ácido benzoico, para conservação da suspensão, evitando crescimento de micro-organismos. O valor de rendimento apresentado é a média de três reações para cada polímero.

### *3.2.3 Irradiação gama das micelas copoliméricas contendo fármacos*

As suspensões micelares copoliméricas de sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> contendo os fármacos foram irradiadas no ar atmosférico, em temperatura ambiente (~27°C), com raios gama da fonte de <sup>60</sup>Co, Gammacell, com taxa de dose de 2,515 kGy.h<sup>-1</sup> (Setembro/2016), e dose de radioesterilização de 25 kGy. O valor da dose foi estabelecido conforme determinado na Farmacopeia Brasileira (2010) para soluções injetáveis (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Os fármacos nimesulida e furosemida também foram irradiados em dose de 25kGy, porém a taxa de dose foi de 2,460 kGy.h<sup>-1</sup> (novembro/2016).

### *3.2.4 Caracterização dos copolímeros sintetizados e dos nanodispositivos*

#### ***3.2.4.1 Identificação dos copolímeros por cromatografia em camada delgada (CCD)***

A análise por cromatografia em camada delgada foi utilizada, por ser uma técnica rápida de separação e identificação dos produtos, tendo sido empregada como controle de qualidade analítica (VALENTE et al., 2006; SOUSA et al., 2007). As análises foram realizadas em triplicata, utilizando placas de sílica gel (TLC-PET), 50% de hexano e 50% acetato de etila como eluente e o revelador iodo. Nesses foram observados a pureza dos copolímeros sintetizados e o fator de retenção (RF).

#### ***3.2.4.2 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)***

A espectroscopia na região do infravermelho foi usada para identificar os copolímeros através de análise de vibrações características de grupos funcionais.

Esses espectros foram obtidos utilizando o espectrofotômetro da JASCO, modelo 4600, pela técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR), com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e na faixa de absorção de  $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ . As análises foram realizadas no Laboratório de Polímeros e Nanoestrutura no Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco (LPN/DEN/UFPE).

#### **3.2.4.3 Difratometria de raios-X (DR-X)**

A Difratometria de raios-X (DR-X) foi usada para estimativa do grau de cristalinidade calculada subtraindo a área do halo amorfo, aproximada para uma gaussiana da área total, segundo o método de Ruland (1964). As análises de DR-X foram realizadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), feitas em triplicata para os copolímeros sintetizados, sendo usando a radiação CuK (alfa), varredura de ângulo entre  $5^\circ$  e  $60^\circ$ , passo de  $0,03^\circ\text{s}^{-1}$  e equipamento da BRUKER, modelo D8 Advanced.

#### **3.2.4.4 Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

As análises por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas por designar informações estruturais e dinâmica das amostras a partir das propriedades magnéticas dos núcleos (LUZYANIN, ABRANTES, 2010). Foram feitas para os copolímeros sintetizados utilizando o equipamento da VARIAN, 400 MHz e modelo NMR System da Central Analítica no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco.

#### **3.2.4.5 Tamanho e o Potencial zeta**

As suspensões micelares contendo ou não fármacos foram analisadas no equipamento Zetasizer Nano ZS90, da MALVERN INSTRUMENTS, do laboratório de Polímeros Não-Convencionais, do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco. Foram observados nas micelas o tamanho e o potencial zeta, que é a determinação da estabilidade micelar através da medição eletrostática entre as partículas (MAGENHEIM et al., 1991). O potencial zeta relatado é a média de três medidas.

### 3.2.4.6 Taxa de eficiência do encapsulamento (%EE)

A %EE foi avaliada através da relação entre concentração molar inicial dos fármacos (CI) utilizadas nas preparações das micelas copoliméricas e concentração molar livre dos fármacos (CL), conforme a Equação 1 (BRUXEL et al., 2012).

$$\frac{CI - CL \text{ (g/mol)}}{CI \text{ (g/mol)}} \times 100 = \%EE \quad (1)$$

A determinação da quantidade de fármacos livre das micelas copoliméricas (realizadas em triplicata) foi obtida quando as micelas secas foram umedecidas com 1,5 mL de solução tampão fosfato salino (PBS) e em seguida, filtradas utilizando a membrana de HA em éster de celulose com porosidade 0,45 µm. Do filtrado obtido foi determinado a concentração por meio das equações encontradas por Ultravioleta-visível (UV). As análises do UV-visível foram realizadas no equipamento Agilent 8453, da AGILENT TECHNOLOGIES no Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

### 3.2.4.7 Taxa de liberação *in vitro*

As micelas copoliméricas contendo os fármacos foram inseridas no saco de diálise e imerso em 250 mL de solução tampão fosfato salino a 37 °C (± 0,2 °C). Em intervalos de 1, 5, 10 e 15 dias alíquota de 1 mL foi retirada e o volume final reconstituído com a solução tamponada (1 mL) (DUTRA, 2012). As soluções coletadas tiveram as concentrações determinadas utilizando as equações obtidas a partir da curva de calibração para cada substância no UV-visível. A taxa de liberação foi calculada de acordo com as equações 2 e 3.

$$\text{Concentração } \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times 250 \text{ mL} = \text{massa liberada } (\mu\text{g}) \quad (2)$$

$$\frac{\text{massa liberada } (\mu\text{g})}{\text{massa inicial } (\mu\text{g})} \times 100 = \% \text{ de liberação} \quad (3)$$

### 3.2.4.8 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência é um método analítico utilizado para quantificar e qualificar espécies não voláteis e termicamente estáveis, com destaque para indústrias farmacêuticas (TONHI et al., 2002). Esse método foi utilizado para detectar subprodutos nas suspensões micelares contendo fármacos pós radiação. Os parâmetros específicos para cada fármaco foram estabelecidos conforme o quadro 2. As análises foram realizadas no Centro de Apoio à Pesquisa da Universidade Federal Rural de Pernambuco, usando o equipamento SHIMADZU - PROMINENCE, sistema reverso, modo isocrático, coluna C<sub>18</sub> (4,6 mm ID x 25 cm), fluxo de 1mL/min, volume de injeção de 5 µL e tempo de corrida de 30 minutos.

**Quadro 2: Parâmetros específicos dos fármacos para análise no CLAE**

Fármaco	Fase móvel	Deteção no UV (nm)	Referência
Finasterida	Acetonitrila: água (60: 40)	207	PORTO, 2011.
Paracetamol	Metanol: água (65:35)	243	CHANDRA et al., 2013.
Nimesulida	Acetonitrila: metanol: água, pH 4,5 (40:40:20)	212	BATTU, 2009.
Ibuprofeno	Acetonitrila: água, pH 2,5 (60:40)	220	EL-HAMMADI et al., 2013.
Furosemida	Acetonitrila: solução Tampão PBS, pH 7 (30:70)	228	SANTOS et al., 2011.
Propranolol	Acetonitrila: solução Tampão PBS, pH 4,5 (35:65)	214	SRIKANTH et al., 2012.

Fonte: Resultado da pesquisa.

### 3.2.4.9 Modelagem Computacional

A modelagem computacional é realizada por diversos métodos, os quais identificam a percepção dos problemas químicos, estudam as interações inter e intramoleculares da estrutura, além de outras propriedades químicas dos sistemas a nível atômico (CRAMER et al., 2004; LAIDLER, 2004). Portanto, a modelagem computacional pode ser usada para determinar a natureza e a intensidade das interações fármaco-polímero (ATKINS et al., 2009). O método desenvolvido no trabalho foi o de Monte Carlo, dentre diversos métodos computacionais, tais como *ab initio* (via química quântica (QQ)), semi-empírico (via *ab initio* e via restrições matemática), teoria funcional de densidade (DFT) (via densidade eletrônica), dentre

outros. Esses são escolhidos dependendo do tamanho do sistema, tipo de propriedades a serem calculadas e precisão desejada de resultados (LASCHUK, 2005).

O método Monte Carlos (MC) é um modelo utilizado para resolver problemas matemáticos ou estatísticos em amostras repetidas (PRABHAKARAN et al., 2012, RODRIGUES et al., 2016). Baseia-se na mecânica molecular (MM), em que a energia do composto e o oscilador harmônico podem ser usados para estudar os sistemas de moléculas que variam em tamanho e complexidade em pequenos sistemas biológicos (TORRIE, VALLEAU, 1977). O método é comprovadamente bem-sucedido na atribuição de estruturas conformacionais de baixa energia e no fornecimento de estimativas quantitativas para diferentes energia conformacionais (HEHRE, 2003).

Esse, foi aplicado em dois tipos de copolímeros PCL-*b*-PEG-*b*-PCL e sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>, nos fármacos e nos complexos fármaco-copolímero, para obtenção das estruturais conformacionais de menores energias. Na otimização dessas estruturas foram realizados cálculos quânticos (DFT-B3LYP, conjunto de base 6-311G) para confirmação dos resultados obtidos por mecânica molecular (MM) (BECKE, 1993). As estruturas dos fármacos, copolímero e do complexos fármaco-copolímero foram construídas no programa Gauss View (Spartan'16 Wavefunction Inc., Irvine, CA, USA (2016)), em que as estruturas dos copolímeros foram estabelecidas conforme a caracterização prévia realizada por FT-IR, RMN e DR-X.

Uma busca aleatória de espaço conformacional usando o procedimento de MC foi realizada em cada sistema (drogas, copolímeros e complexos fármaco-copolímero). O procedimento gerou 2.000 estruturas conformacionais independentes, as quais foram selecionadas as de menores energias (mais estáveis). As estruturas conformacionais mais estáveis das moléculas dos fármacos foram colocadas em proximidades das regiões de interação com as mais estáveis estruturas copoliméricas, sendo possíveis para construir as dos complexos. Uma análise conformacional destes complexos foi realizada novamente para obter o mais estável.

As energias de estado fundamental, o número de ligações de hidrogênio e a energia de ligação gerada pelas interações foram calculados através do programa estudado. A energia de ligação pode ser encontrada teoricamente, por meio do

somatório da energia do fármaco e das moléculas do copolímero separadas, e posteriormente subtraída da energia do complexo (MANIRUZZAMAN et al., 2015).

#### **3.2.4.10 Teste de Tukey**

Para avaliar diferenças estatisticamente significativas entre os valores das médias dos parâmetros (rendimento e RF dos copolímeros e potencial zeta, EE% das micelas) foi utilizado o teste Tukey. Para isso, aplicou-se previamente, a análise de variância (ANOVA) aos dados.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização dos copolímeros tribloco e estrela

#### 4.1.1 Rendimento

Os valores da média de três rendimentos por cada reação de polimerização são demonstrados na Tabela 1.

**Tabela 1: Rendimento dos copolímeros sintetizados**

Copolímeros	Rendimento (%)	Significância	
PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL	81,1 ± 7,0	a	
(±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB)	77,4 ± 3,0	a	
(P(CL-co-(±)-(3-HB))- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(P(CL-co-(±)-(3-HB))))	75,3 ± 2,0	a	
sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub>	83,4 ± 0,9	a	
sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub>	51,1 ± 4,0		b

Fonte: Resultado da pesquisa

Os copolímeros apresentaram valores superiores a 50%. Numericamente, a síntese do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> teve o maior rendimento; enquanto que a do sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>, copolímero também em estrela, apresentou o menor rendimento. Foi encontrado na literatura, conforme a metodologia de Hao (2005), a mesma que foi utilizada nesse trabalho, a síntese com rendimento de 94,6%, na copolimerização do sorbitol e L-lactídeos, quando se aumentou a temperatura da reação de 100° para 130° C. De acordo com o autor, o aumento de temperatura favoreceu o equilíbrio entre a taxa de polimerização e a formação da arquitetura em estrela. Embora a mesma temperatura tenha sido usada, o rendimento da síntese do sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub> foi inferior, próximo a 50%.

Essa reação poderia ter sido melhorada com adição de um ácido catalisador porque, conforme Sanda (2002), a copolimerização em estrela da ε-caprolactona com o polioliol, pentaeritritol, rendeu 95% quando foi catalisada pelo ácido trifluoroacético, em 6 horas e a 70° C. A adição do ácido favoreceu a reação porque em temperaturas elevadas a sua atividade aumenta levando a quantidades maiores de meros.

Em relação aos copolímeros em tribloco os resultados foram bastante significativos, principalmente o tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL, em que o valor foi superior a 80%. Segundo Lima e Andrade (2012), a síntese do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL, sendo a mesma metodologia desse trabalho, apresentou rendimentos de 84,9% e 88,9%, bem próximo dos valores encontrados no experimento. No estudo de Li e colaboradores (2008), a síntese do (±)-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-(±)-P(3-HB) utilizando o PEG de 3 kg.mol<sup>-1</sup> como iniciador e obtendo 12 meros de PHB em ambos os lados, rendeu 79%, já o copolímero sintetizado por Oledzka e colaboradores (2015), usando o PEG 600 g.mol<sup>-1</sup> e proporção molar de 1:25 de PEG/β-BL, obteve 74% de rendimento. Portanto, o valor de 77% para síntese encontra-se dentro do esperado.

De acordo com o teste estatístico realizado, o teste de Tukey indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores dos rendimentos, com exceção do sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>. Na ANOVA dos dados, cujos os resultados são apresentados na Tabela 2, os números de tratamento, de repetições e de unidades foram iguais a 5, 3 e 15, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) foi igual a 88,21% e o valor do coeficiente de variação (CV) foi de 7,07%.

**Tabela 2: Resultados da ANOVA para os rendimentos**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	4	2029,60	507,40	18,70
Resíduos	10	271,40	27,402	
Total	14	2301,00		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM= Quadrado médio.

Sendo o valor de F<sub>calculado</sub> (18,70), maior do que o valor do F<sub>crítico</sub> para o nível de significância de 5% (3,48) e o valor da diferença mínima significativa (Δ) foi de 13,99%.

#### 4.1.2 Identificação dos copolímeros por CCD

Nas placas de sílica gel não houve presença de subprodutos ou reagentes nos produtos finais das reações. As placas apresentaram os fatores de retenção (RF) (realizados em triplicatas) conforme cada produto, visto na Tabela 3.



**Tabela 3: Média do fator de retenção (RF) dos copolímeros sintetizados**

Copolímeros	RF	Significância			
PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL	0,31 ± 0,01	a			
(±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB)	0,37 ± 0,02		b		
(P(CL-co-(±)-3-HB))- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -P(CL-co-(±)-(3-HB)))	0,32 ± 0,01	a			
sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub>	0,27 ± 0,0	a			d
sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub>	0,31 ± 0,01	a		C	d

Fonte: Resultado da pesquisa.

Na ANOVA dos dados, cujos os resultados são apresentados na Tabela 4, os números de tratamento, de repetições e de unidades foram iguais a 5, 3 e 15, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi igual a 85,17% e o valor do coeficiente de variação (CV) foi de 5,35%.

**Tabela 4: Resultados da ANOVA para o fator de retenção (RF)**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	4	0,02	0,00	14,36
Resíduos	10	0,00	0,0003	
Total	14	0,02		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado médio.

O valor  $F_{\text{calculado}}$  (14,36) foi maior do que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  para o nível de significância de 5% (3,48). O valor da diferença mínima significante ( $\Delta$ ) foi de 0,05%. Dessa maneira, foi empregado o teste de Tukey para avaliar quais pares de médias diferiram estatisticamente entre si.

Segundo dados do teste de Tukey as significâncias apresentada na Tabela 3 demonstrou diferença estatisticamente entre os valores das médias dos RF para o copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-(±)-P(3-HB), o qual apresentou menor afinidade pela fase estacionária. Observou-se também que entre os copolímeros estes não houve diferença estatisticamente.

### 4.1.3 Análise de FT-IR

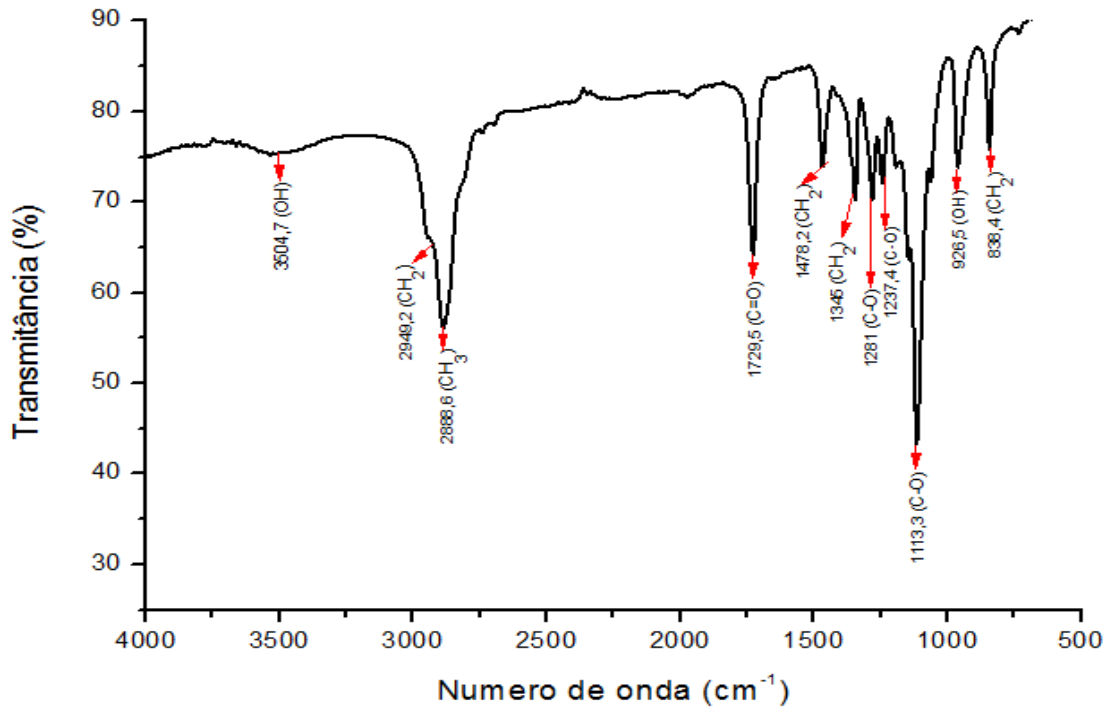
#### 4.1.3.1 Análise de FT-IR do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL

No espectro da Figura 19, os sinais da hidroxila terminal são identificados em  $3504,7\text{ cm}^{-1}$  e  $926,5\text{ cm}^{-1}$ , o primeiro se trata de um sinal fraco (deformação axial da hidroxila), resultante da associação polimérica, os quais representa os meros terminais da PCL, e o segundo também de fraca intensidade, representa a deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila (PERIOTTO, 2012). Feng e colaboradores (2012) identificaram um sinal pequeno, porém de intensidade forte em  $3436\text{ cm}^{-1}$  correspondendo também à hidroxila terminal do copolímero PLC-*b*-PEG-*b*-PCL. No trabalho de Zhou (2003) a determinação do sinal em  $3442\text{ cm}^{-1}$  foi a confirmação que o homopolímero PEG tinha sido reagido para ocorrência da polimerização.

Em  $2949,2$  e  $2888,6\text{ cm}^{-1}$ , os sinais são referentes a deformação axial do  $\text{CH}_2$  alifático. De acordo com Feng e colaboradores (2012), estes sinais são semelhantes ao da  $\epsilon$ -CL. Sinais em  $1478,2$ ,  $1345$  e  $838,4\text{ cm}^{-1}$  também identificam o  $\text{CH}_2$ , entretanto correspondem à deformação angular. O sinal forte em  $1729,45\text{ cm}^{-1}$  é indicativo da deformação axial da carbonila ( $\text{C} = \text{O}$ ) do éster, presente na PCL do copolímero. No artigo de Nguyen (2010) o autor atribui o valor encontrado ao sinal  $1728\text{ cm}^{-1}$  à formação do copolímero tribloco. Petrova e colaboradores (2012) também atribuíram o sinal em  $1731\text{ cm}^{-1}$  à presença do grupo éster, componente do bloco PCL na estrutura polimérica.

Os sinais  $1281$ ,  $1237,4$  e  $1113,3\text{ cm}^{-1}$  referem-se à deformação axial do C-O, em que os dois primeiros são assimétricos e a último, simétrico. Segundo Feng (2012), os sinais em  $1107$  e  $1246\text{ cm}^{-1}$  são correspondentes às vibrações de deformação axial das unidades repetitivas  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2$  do PEG. Enquanto que Lima e Andrade (2012) demonstraram que os sinais em  $1181$  e  $1092\text{ cm}^{-1}$  são atribuídos, respectivamente, à deformação axial assimétrica e simétrica do grupamento  $\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}$  da PCL. Entretanto, o trabalho de Zhou (2003) indicou que os sinais encontrados em  $1177$  e  $1240\text{ cm}^{-1}$  corresponderam ao  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2$  do PEG e  $\text{COO}-$  da PCL. Os sinais do espectro são representados resumidamente na Tabela 5.

**Figura 19: Espectro de FT-IR do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 5: Sinais do espectro FT-IR do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL**

Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
3504,7	Deformação axial da hidroxila	$\nu(\text{OH})$
2949,2	Deformação axial assimétrica (CH <sub>2</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2888,6	Deformação axial assimétrica (CH <sub>2</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
1729,5	Deformação axial da carbonila (C=O)	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1478,2	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1345,0	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1281,0	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1237,4	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1113,3	Deformação axial simétrica (C-O)	$\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$
926,5	Deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila	$\omega(\text{OH})$
838,4	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$

Fonte: Resultado da pesquisa.

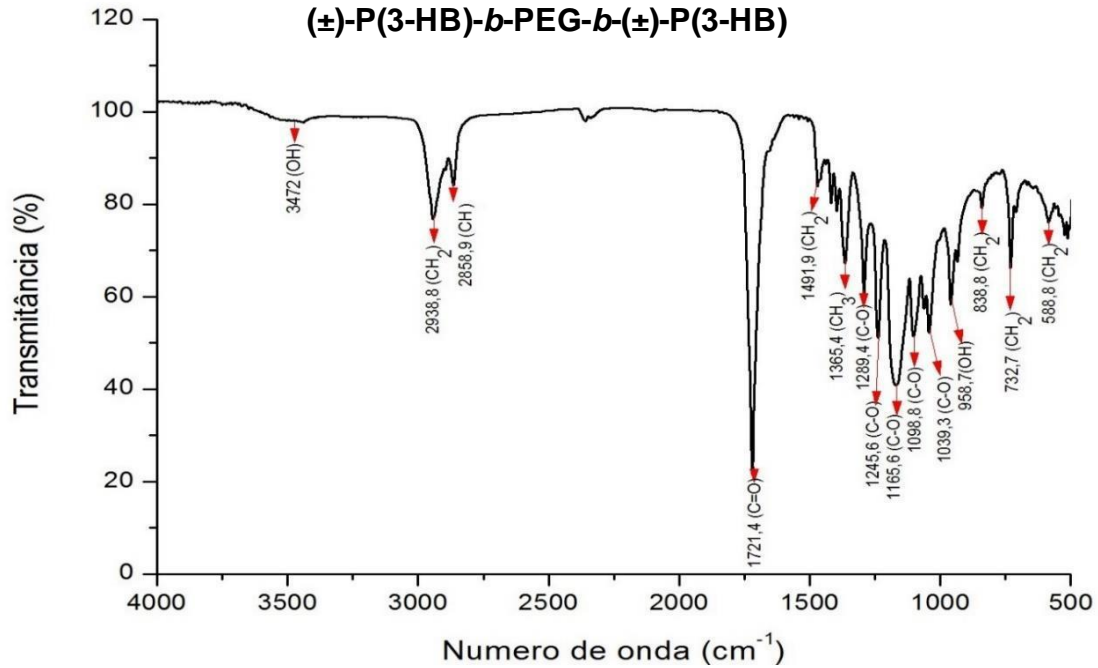
#### **4.1.3.2 Análise de FT-IR do copolímero tribloco ( $\pm$ )-P(3-HB)-b-PEG-b-( $\pm$ )-P(3-HB)**

Os sinais em 3472 e 958,7  $\text{cm}^{-1}$  são referentes aos sinais da hidroxila terminal. Liu e colaboradores (2008a) relatam que sinais em torno de 3500 a 3200  $\text{cm}^{-1}$  são indicativos da absorção do sinal representado pelas hidroxilas terminais dos blocos ( $\pm$ )-P(3-HB). Os sinais 2938,8 e 2858,9  $\text{cm}^{-1}$  determinam a deformação axial assimétrica alifático do CH, em que o primeiro sinal é relativo ao  $\text{CH}_2$  e o segundo sinal ao CH do bloco ( $\pm$ )-P(3-HB). O sinal em 1491,9  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuído à deformação angular de  $\text{CH}_2$ , assim como o sinal em 1365,4  $\text{cm}^{-1}$  que é referente a deformação angular do grupamento metila ( $\text{CH}_3$ ) do ( $\pm$ )-P(3-HB). Além do mais, os sinais 838,8, 732,7 e 588,8  $\text{cm}^{-1}$  são indicativos da deformação angular de cadeia do  $\text{CH}_2$  do PEG, segundo Liu e colaboradores (2008b).

Em 1721  $\text{cm}^{-1}$ , um sinal forte de deformação axial da carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ) pode ser visualizada. No trabalho de Shuai e colaboradores (2000) o sinal em 1735  $\text{cm}^{-1}$  indicou a carbonila do poliéster, o que afirmou conversão da  $\beta$ -butirolactona. LambEEK (1995) descreve em seu artigo que o sinal de absorção em 1723  $\text{cm}^{-1}$  é relativa à vibração de deformação axial do  $\text{C}=\text{O}$  da região cristalina do ( $\pm$ )-P(3-HB), enquanto o sinal em 1738  $\text{cm}^{-1}$  corresponde à mesma vibração na região amorfa (Liu 2008).

Os sinais em 1289,4, 1245,6 e 1165,5  $\text{cm}^{-1}$  correspondem ao grupo C-O dos blocos de ( $\pm$ )-P(3-HB), sendo as dois primeiros correspondentes as vibrações que ocorrem na região cristalina e o último, na região amorfa (LAMBEEK, 1995). Por fim, os sinais em 1098,8 e 1039,3  $\text{cm}^{-1}$  indicativas de deformação axial do C-O do PEG. O espectro de FT-IR é analisado de acordo com a Figura 20, e, resumidamente, os sinais são apresentados Tabela 6.

**Figura 20: Espectro de FT-IR do copolímero tribloco  
(±)-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-(±)-P(3-HB)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 6: Sinais do espectro FT-IR do copolímero tribloco  
(±)-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-(±)-P(3-HB)**

Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
3472,0	Deformação axial da hidroxila	$\nu(\text{OH})$
2938,8	Deformação axial assimétrica (CH <sub>2</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2888,6	Deformação axial assimétrica (CH)	$\nu_{\text{as}}(\text{CH})$
1721,4	Deformação axial da carbonila (C=O)	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1491,9	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1365,4	Deformação angular (CH <sub>3</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1284,4	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1245,6	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1165,6	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1098,8	Deformação axial simétrica (C-O)	$\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$
1039,3	Deformação axial simétrica (C-O)	$\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$
958,7	Deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila	$\omega(\text{OH})$
838,8	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
732,7	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
588,8	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$

Fonte: Resultado da pesquisa.

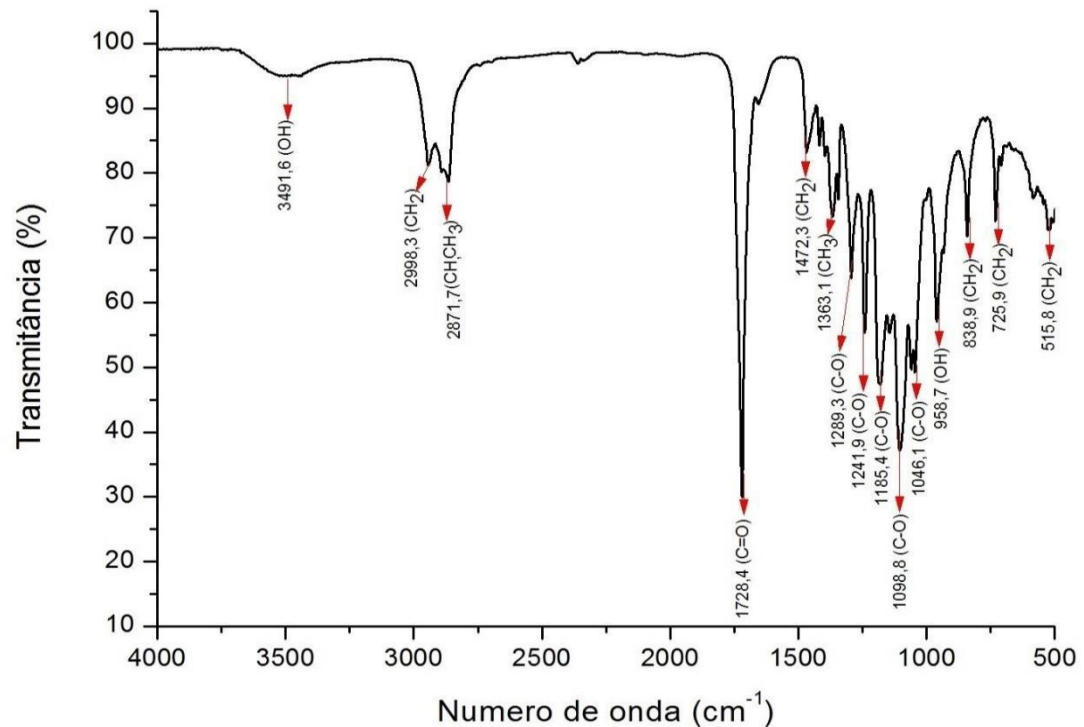
#### 4.1.3.3 *Análise de FT-IR do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-(3-HB))-b-PEG-b-(P(CL-co-(±)-(3-HB)))*

Conforme a estrutura determinada por RMN, ver na seção 4.1.5.3, os sinais em 3491,6 e 958,7  $\text{cm}^{-1}$  corresponde as hidroxilas terminais da PCL na cadeia. O primeiro sinal é relativo a deformação axial da hidroxila e o segundo à deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila. O sinal em 2998,3  $\text{cm}^{-1}$  determina a deformação axial assimétrica  $\text{CH}_2$  dos poliésteres. Segundo Roa e colaboradores (2010), a identificação de qual poliéster pertença o sinal, dependerá da maior concentração do polímero no produto final, pois em seu estudo o sinal em 2945  $\text{cm}^{-1}$ , confirmava a concentração maior de PCL, enquanto em 2976  $\text{cm}^{-1}$  correspondia a maior concentração de  $(\pm)$ -P(3-HB).

O sinal em 2871,7  $\text{cm}^{-1}$  é relativo a deformação axial do CH e  $\text{CH}_3$  característico do  $(\pm)$ -P(3-HB). Em 1728,4  $\text{cm}^{-1}$  o sinal refere-se à deformação axial do C=O, presente nos poliésteres, a absorção ocorre nesse sinal por se tratarem de ésteres de cadeia saturada (ROA, 2008). Os sinais em 1472,3 e 1363,1  $\text{cm}^{-1}$  identificam a deformação angular dentro do plano, sendo a primeira característica do  $\text{CH}_2$  tanto da PCL, como do  $(\pm)$ -P(3-HB) e segunda dos grupos CH e  $\text{CH}_3$  do  $(\pm)$ -P(3-HB). No trabalho de Paiva e colaboradores (1996) essa deformação dentro plano é decorrentes do acoplamento de átomos de hidrogênio adjacentes, sendo usados inclusive para determinar a posição de substituintes de anéis aromáticos.

Os sinais em 1289,3, 1241,9 e 1185,4  $\text{cm}^{-1}$  determinam a deformação axial do grupo C-O indicativo dos poliésteres. Em 1098,8 e 1046,1  $\text{cm}^{-1}$ , também referente a deformação axial do C-O, estes, porém corresponde a estrutura do PEG. Os últimos sinais, 838,9 725,9 e 515,8  $\text{cm}^{-1}$  são referentes ao  $\text{CH}_2$  indicando a deformação angular da cadeia fora do plano (ROA et al., 2010). O espectro dos sinais é visualizado na Figura 21 e resumidamente foram caracterizados na Tabela 7.

**Figura 21: Espectro de FT-IR do copolímero tribloco (P(CL-co( $\pm$ )-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB)))**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 7: Sinais do espectro FT-IR do copolímero tribloco (P(CL-co( $\pm$ )-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB)))**

(continua)

Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
3491,6	Deformação axial da hidroxila	$\nu(\text{OH})$
2998,3	Deformação axial assimétrica (CH <sub>2</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2871,7	Deformação axial assimétrica (CH, CH <sub>3</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}, \text{CH}_3)$
1728,4	Deformação axial da carbonila (C=O)	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1472,3	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1363,1	Deformação angular (CH <sub>3</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1289,3	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1241,9	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1185,4	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1098,8	Deformação axial simétrica (C-O)	$\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O})$

(continuação)		
Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
1046,1	Deformação axial simétrica (C-O)	vs(C-O)
958,7	Deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila	ω(OH)
838,9	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	δ <sub>s</sub> (CH <sub>2</sub> )
725,9	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	δ <sub>s</sub> (CH <sub>2</sub> )
515,8	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	δ <sub>s</sub> (CH <sub>2</sub> )

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.3.4 Análise de FT-IR do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>

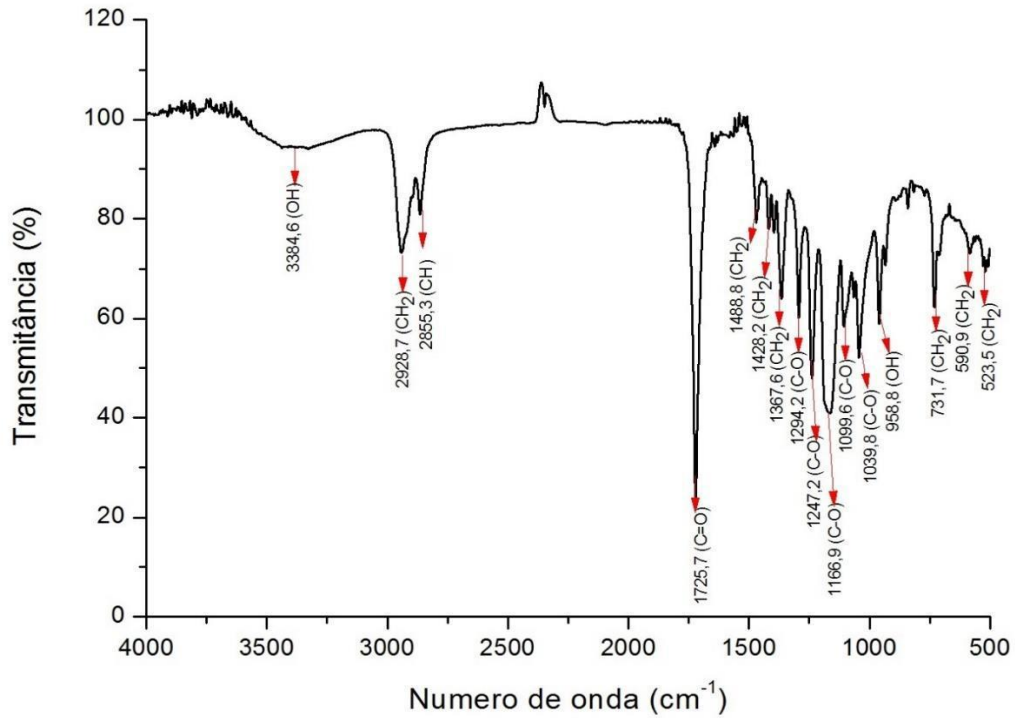
No espectro (Figura 22) o sinal em 3384,6 cm<sup>-1</sup>, um sinal fraco, representa as hidroxilas terminais (deformação axial), assim como o sinal em 958,8 cm<sup>-1</sup>, que representa uma deformação angular simétrica fora do plano. No artigo de Cristobal e colaboradores (2012) que sintetizaram o copolímero sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> encontraram sinal em 3540 cm<sup>-1</sup> referente as hidroxilas terminais. Um sinal de pouca intensidade é observado no gráfico, próximo 1000 cm<sup>-1</sup>, porém não é descrito pelos autores (CRISTOBAL et al.,2012).

Em 2928,7 cm<sup>-1</sup> o sinal determina a deformação axial assimétrica alifático do CH<sub>2</sub> da PCL, enquanto o sinal em 2855,3 cm<sup>-1</sup> determina deformação axial alifático do CH do sorbitol. No trabalho de Luo (2012), os sinais do espectro entre em 2993,53 e 2881,65 cm<sup>-1</sup> foram atribuídos à vibração de alongamento do saturado CH em cadeia do PLA e do segmento sorbitol.

O sinal em 1725,7 cm<sup>-1</sup> estabelece a vibração da deformação axial da carbonila relativo a estrutura da PCL. Em 1488,8, 1428,2 e 1367,6 cm<sup>-1</sup> os sinais são indicativos da deformação angular do CH<sub>2</sub> dentro do plano e os sinais em 731,7, 590,9 e 523,5 cm<sup>-1</sup> referem-se à deformação angular do CH<sub>2</sub> fora do plano. Os sinais 1294,2, 1247,2, 1166,9, 1099,6 e 1039,8cm<sup>-1</sup> identificam a vibração da deformação axial do grupo C-O. De acordo com Arvanitoyannis e colaboradores (1996), comparando os espectros do sorbitol com o do sorbitol-*b*-PLA, tendo o polioliol como iniciador por abertura de anel, ficou elucidado que o composto apresentou absorção semelhante, indicando que o sorbitol tenha sido introduzido na copolimerização. A caracterização dos sinais é apresentada na Tabela 8.



**Figura 22: Espectro de FT-IR do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 8: Sinais do espectro FT-IR do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>**

(continua)

Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
3384,6	Deformação axial da hidroxila	$\nu(\text{OH})$
2928,7	Deformação axial assimétrica (CH <sub>2</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2855,3	Deformação axial assimétrica (CH)	$\nu_{\text{as}}(\text{CH})$
1725,7	Deformação axial da carbonila (C=O)	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1488,8	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1428,2	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1367,6	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1294,2	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1247,2	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1166,9	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1099,6	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1039,8	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
958,7	Deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila	$\omega(\text{OH})$
731,7	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$

<b>(continuação)</b>		
Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
590,9	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_s(\text{CH}_2)$
523,5	Deformação angular de cadeia (CH <sub>2</sub> )	$\delta_s(\text{CH}_2)$

Fonte: Resultado da pesquisa.

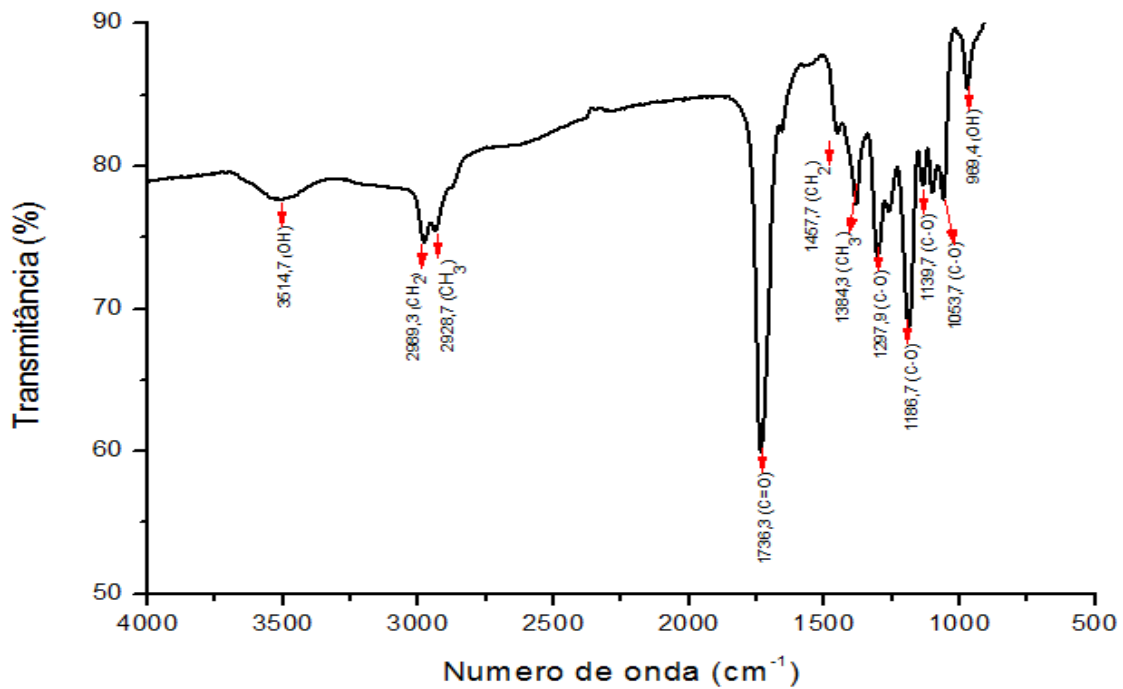
#### **4.1.3.5 Análise de FT-IR do copolímero estrela sorbitol-b-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>**

Em 3514,7 cm<sup>-1</sup> o sinal representa a deformação axial das hidroxilas terminais presentes na estrutura do (±)-P(3-HB), pertencente a cadeia copoliméricas. Em 969,4 cm<sup>-1</sup> o sinal fraco é o deslocamento angular simétrica fora do plano da hidroxila. Os sinais em 2989,3 e 2928,7 cm<sup>-1</sup> são indicativos da deformação axial alifática CH, em que o primeiro sinal indica o CH<sub>2</sub>, referente ao (±)-P(3-HB) e ao sorbitol e segunda indica o CH<sub>3</sub> identificado no (±)-P(3-HB).

O sinal em 1736,3 cm<sup>-1</sup> corresponde a deformação axial da carbonila, proveniente do grupamento éster do (±)-P(3-HB), esse sinal determina uma organização estrutural menos cristalina, pois, segundo Liao e colaboradores (2013), sinais próximos a 1738 cm<sup>-1</sup> indica uma estrutura amorfa, enquanto que próximo a 1722 cm<sup>-1</sup> a estrutura apresenta-se cristalina. Entretanto, Padermshoke e colaboradores (2004) definiram que a deformação axial da carbonila refere-se a presença em moléculas de estruturas cristalina altamente ordenada.

Foram observados sinais em 1457,7 e 1384,3 cm<sup>-1</sup> que identificam a deformação angular do CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>, respectivamente. Os sinais 1297,9, 1186,7, 1139,7 e 1053,7 cm<sup>-1</sup> referem-se à deformação axial assimétrica do grupo C-O. Os sinais referentes ao (±)-P(3-HB) confirmam e caracterizam os seus grupos constituintes, assim como os grupos referentes ao sorbitol (QUINQUENET et al., 1988; NA, NIANZHI, 2011; SANTOS, 2013). O espectro é representado na Figura 23 e os sinais caracterizados na Tabela 9.

Figura 23: Espectro de FT-IR do copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>



Fonte: Resultado da pesquisa.

Tabela 9: Sinais do espectro FT-IR do copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>

Sinais (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição	Abreviação
3514,7	Deformação axial da hidroxila	$\nu(\text{OH})$
2989,3	Deformação axial assimétrica (CH <sub>2</sub> )	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2928,7	Deformação axial assimétrica (CH)	$\nu_{\text{as}}(\text{CH})$
1736,3	Deformação axial da carbonila (C=O)	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1457,7	Deformação angular (CH <sub>2</sub> )	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1384,3	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1297,9	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1186,7	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1139,7	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
1053,7	Deformação axial assimétrica (C-O)	$\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O})$
969,4	Deformação angular simétrica fora do plano da hidroxila	$\omega(\text{OH})$

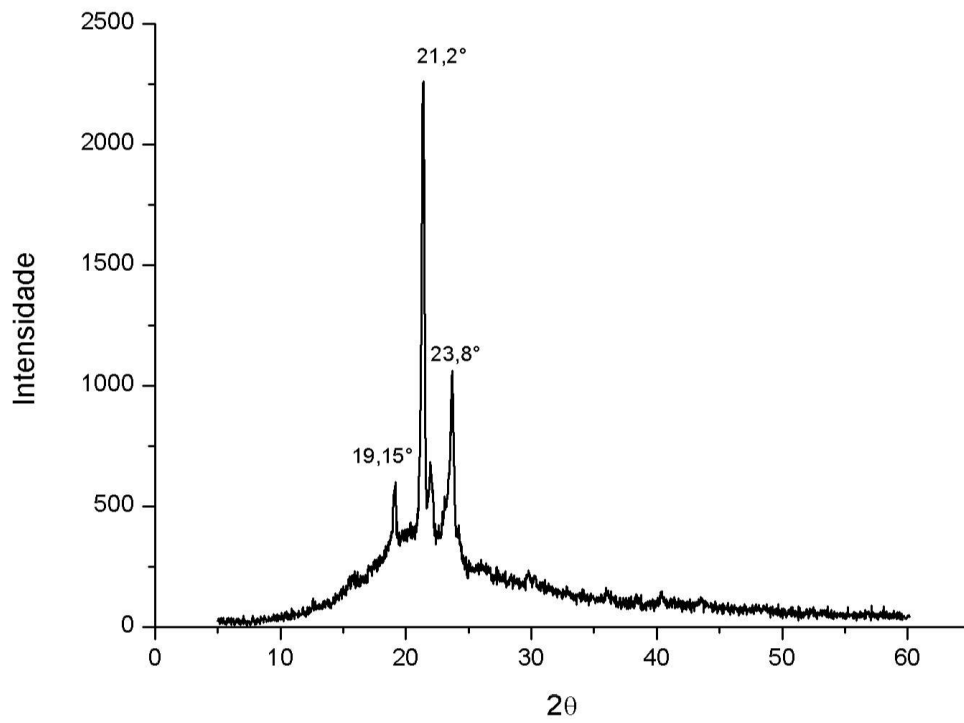
Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.4 Difractometria de raios-X

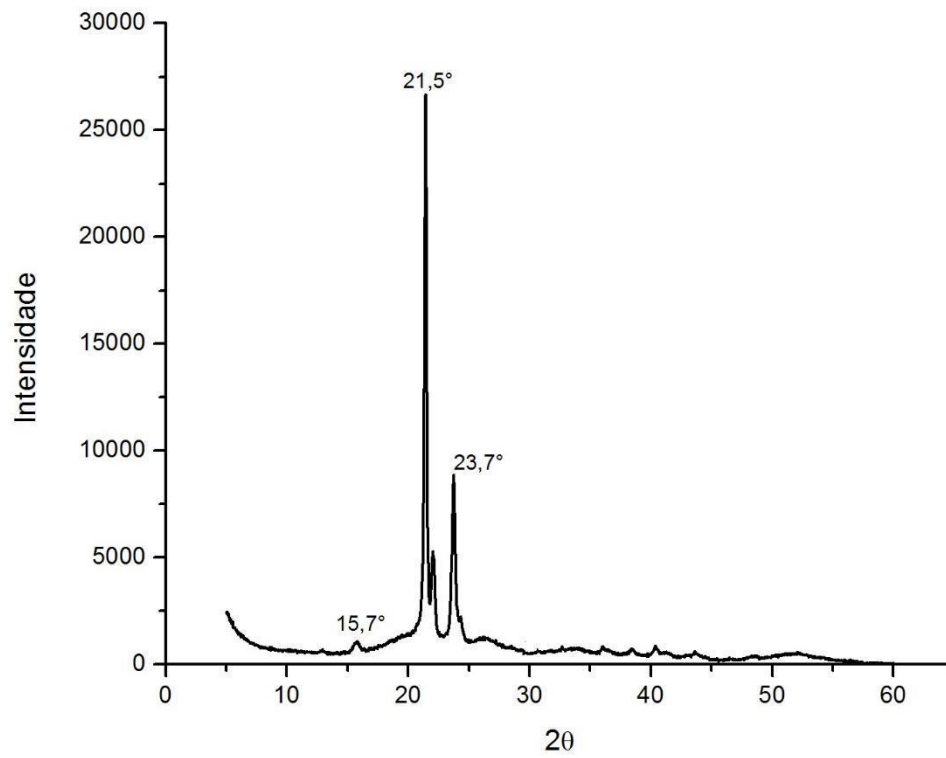
##### 4.1.4.1 Difractometria de raios-X do copolímero tribloco PCL-b-PEG-b-PCL

O copolímero apresentou no difratograma três picos (Figura 24). O primeiro de pouca intensidade em  $2\theta = 19,15^\circ$ , referente ao PEG, que foi caracterizado com um pico de maior intensidade em  $2\theta = 19,1^\circ$  (Figura 26). O segundo pico de elevada intensidade, que foi demonstrado em  $2\theta = 21,2^\circ$ , estando associado a PCL, esse indicado no difratograma da Figura 25 no pico em  $2\theta = 21,5^\circ$ . E o último pico que foi de média intensidade, apresentado em  $2\theta = 23,8^\circ$ , caracterizando ambos os polímeros, os quais o PEG apresentou um pico em  $2\theta = 23,3^\circ$  e a PCL em  $2\theta = 23,7^\circ$ . Essas pequenas diferenças nos deslocamentos em  $2\theta$  são indicativos da ocorrência de microtensão nos cristalitos do copolímero, por causa da copolimerização, o que resulta na alteração da distância interplanares dos cristais presentes nos blocos poliméricos (KAHN, 2012).

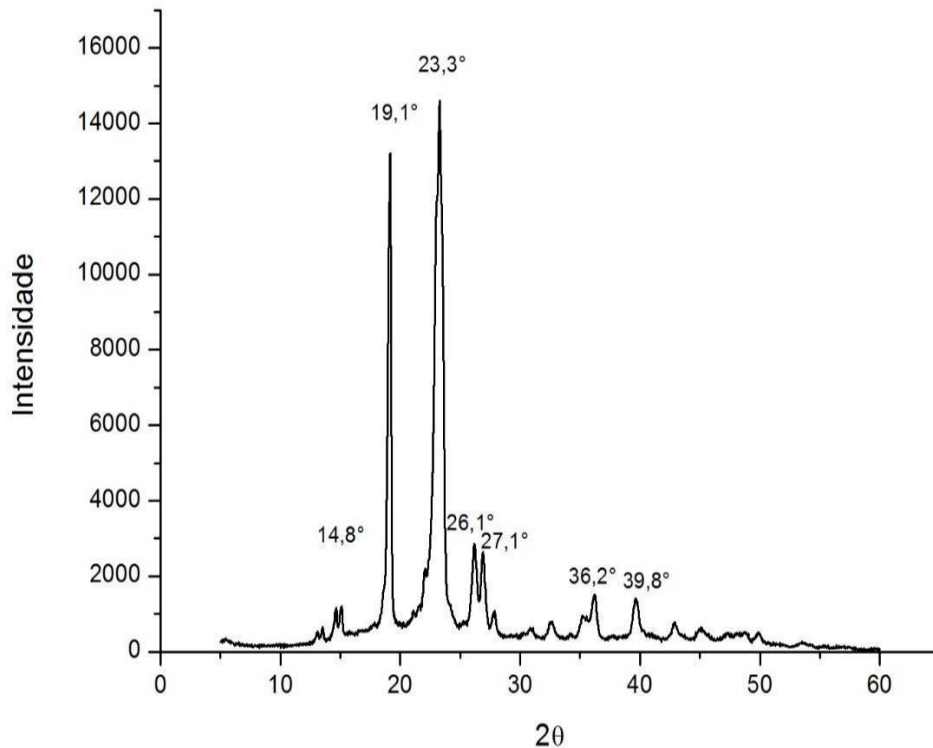
No trabalho de Yu e colaboradores (2014), o copolímero sintetizado demonstrou não mais que dois fortes picos, sendo estes em  $2\theta = 21,2^\circ$  e  $2\theta = 23,8^\circ$ , o que foi semelhante aos resultados encontrados no nosso trabalho. Lima e Andrade (2012) descreveram que o copolímero formado apresentava perfil próximo ao da PCL, embora demonstrasse picos mais largos e menos intensos. Isso, é observado ao comparar as Figuras 24 e 25, em que a intensidade da PCL é maior que a do copolímero.

**Figura 24: Difratoograma de raios-X do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL**

Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 25: Difratoograma de raios-X do PCL**

Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 26: Difratoograma de raios-X do PEG**

Fonte: Resultado da pesquisa.

Lima e Andrade (2012) também explicam que o resultado revela menor cristalinidade e a presença de cristais com menores distâncias interplanares, sendo encontrado 34% de cristalinidade para o copolímero e 67,7% para a PCL. Na Tabela 10, o grau de cristalinidade foi de 62,3% para o copolímero e 68% para a PCL.

**Tabela 10: Grau de cristalinidade do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL**

Polímero	Grau de cristalinidade
PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL	62,3 ± 5,0
PCL	68,0 ± 2,5
PEG	59,0 ± 3,0

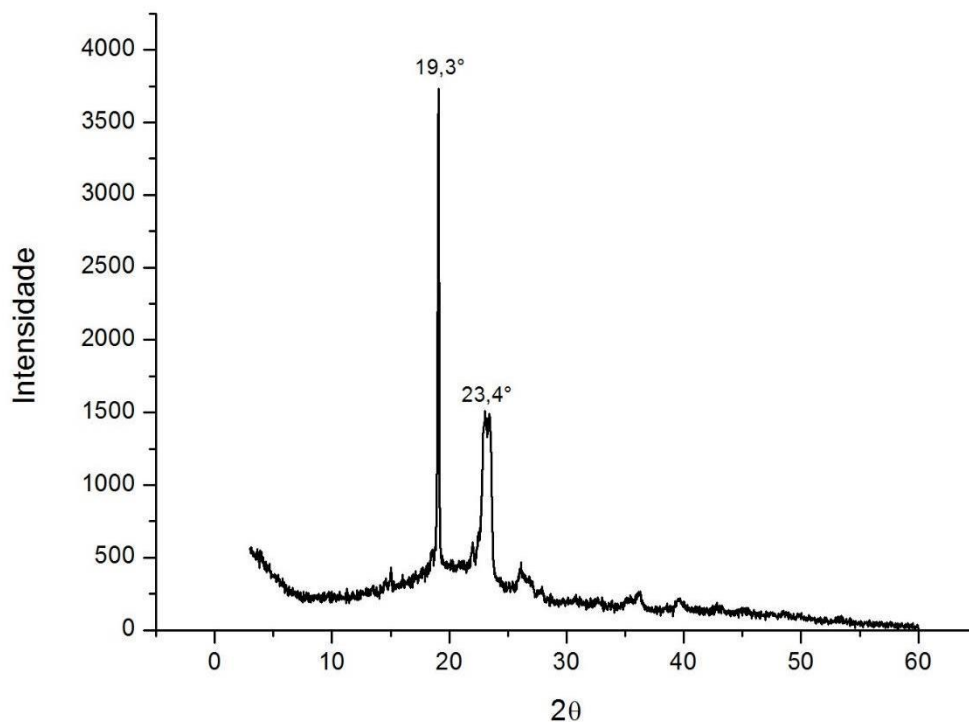
Fonte: Resultado da pesquisa.

Os planos cristalográficos do copolímero são determinados através dos planos cristalográficos dos homopolímeros. Portanto, a PCL é caracterizada como uma célula unitária ortorrômbica, apresentando estrutura cristalina [110] para o pico  $2\theta = 21,5^\circ$  e [200] para  $2\theta = 23,7^\circ$ , enquanto o PEG (célula unitária monoclinica) apresentou planos [120] para o pico  $2\theta = 19,1^\circ$  e [001] para o pico  $2\theta = 23,3^\circ$  (AZUOZ, 2016).

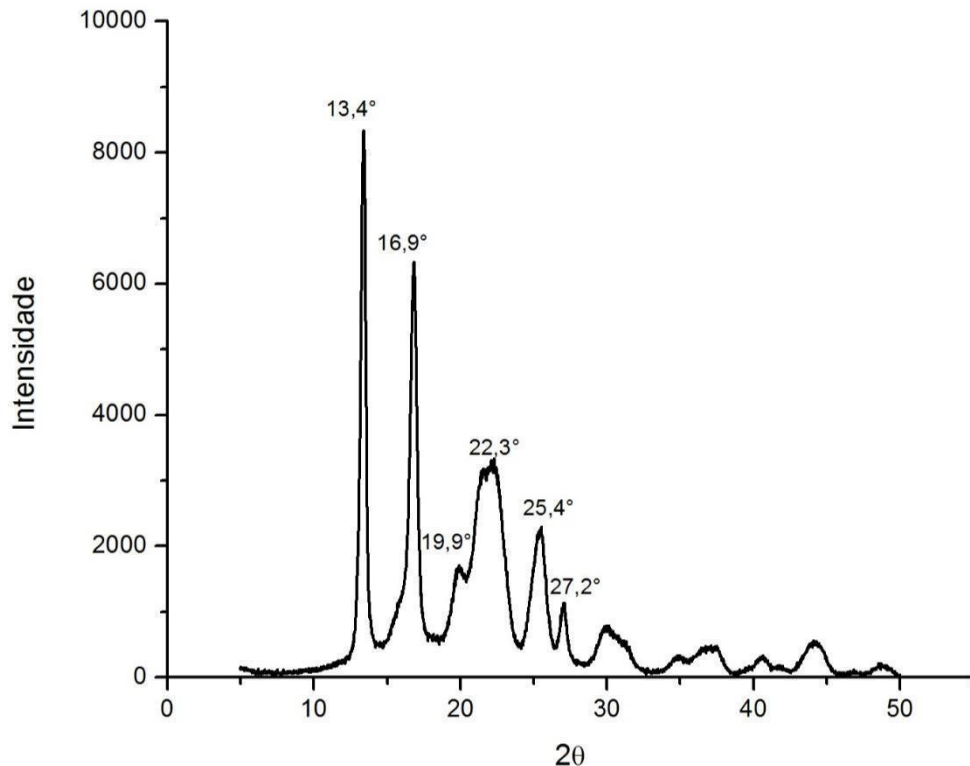
#### 4.1.4.2 Difractometria de raios-X do copolímero tribloco $(\pm)$ -P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-( $\pm$ )-P(3-HB)

O difratograma da Figura 27 apresenta dois picos bem definidos em  $2\theta = 19,3^\circ$  e  $23,4^\circ$ . O primeiro pico é de cristalinidade intensa, podendo vir ser característico do PEG, embora ao comparar com o difratograma do polímero na Figura 26, observa-se que o pico é identificado em  $19,1^\circ$ , e que o do (R)-P(3-HB) (Figura 28) em  $19,9^\circ$ , ou seja, essa pequena diferença pode ser devido à distância interplanares ocasionadas pela microtensão nos cristalitos dos blocos poliméricos. O segundo pico evidencia-se diminuição da cristalinidade e alargamento, sendo também demonstrado diferença em relação ao deslocamento quando comparado com o difratograma do PEG, visto que  $2\theta = 23,3^\circ$  (RAMKUMAR et al. 2002).

**Figura 27: Difractograma de raios-X do  $(\pm)$ -P(3-HB)-*b*-PEG-*b*-( $\pm$ )-P(3-HB)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 28: Difratoograma de raios-X do (R)-P(3-HB)**

Fonte: Resultado da pesquisa.

No trabalho de Liu e colaboradores (2008), os picos em  $2\theta = 19,3^\circ$  e  $23,5^\circ$  eram de intensidades semelhantes, indicando a presença da fase cristalina do PEG no copolímero sem a evidência de picos padrões do bloco  $(\pm)$ -P(3-HB), que são esperados em  $2\theta = 19,9^\circ$  (Figura 28), sugerindo que este último estaria em estado amorfo no copolímero. Sendo, isto justificado porque o  $(\pm)$ -P(3-HB) quando sintetizado apresenta baixa cristalinidade. Chen e colaboradores (2006) relataram em suas sínteses do copolímero que não havia também presença dos picos do  $(\pm)$ -P(3-HB) e que os picos característicos do PEG eram mais enfraquecidos, implicando em cristalinidade reduzida de 41%, e que quando sintetizavam apenas o homopolímero PEG a cristalinidade apresentava-se acima de 80%.

Cristalinidade do copolímero inferior a 50% também foi observada no trabalho de Almeida (2012). O autor justificou que tal diminuição era devido a flexibilidade do PEG, e a não influência dos cristais  $(\pm)$ -P(3HB) na copolimerização. Conforme dados da Tabela 11, o grau de cristalinidade do copolímero sintetizado não apresentou diferença significativa em relação a cristalinidade dos homopolímeros, embora o homopolímero (R)-P(3-HB), tende-se a ter a cristalinidade maior que o copolímero, pois este de origem industrial pode ter a cristalinidade entre 60 a 80%.



**Tabela 11: Grau de cristalinidade do copolímero tribloco ( $\pm$ )-P(3HB)-*b*-PEG-*b*-( $\pm$ )-P(3HB)**

Polímero	Grau de cristalinidade
( $\pm$ )-P(3HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -( $\pm$ )-P(3HB)	63,0 $\pm$ 7,0
(R)-P(3HB)	57,3 $\pm$ 2,0
PEG	59,0 $\pm$ 3,0

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.4.3 Difractometria de raios-X do copolímero tribloco (P(CL-co-( $\pm$ )-(3HB)-*b*-PEG-*b*-(P(CL-co-( $\pm$ )-(3HB))))

No difratograma da Figura 29, foram identificados quatro picos. Dois de elevada intensidade, encontrados em  $2\theta = 19,11^\circ$  e  $2\theta = 23,3^\circ$ , e dois de moderada intensidade em  $2\theta = 21,3^\circ$  e  $2\theta = 22^\circ$ . O primeiro pico indica o poli (etileno glicol), que na Figura 26 o pico é demonstrado também em  $2\theta = 19,1^\circ$ . O próximo pico em  $2\theta = 21,3^\circ$  de média intensidade, sugere que ocorreu na copolimerização alteração na distância interplanares entre os cristais da PCL e do ( $\pm$ )-P(3HB), pois o pico da PCL é apresentado em  $2\theta = 21,5^\circ$  (Figura 25) e o pico do (R)-P(3HB) em  $2\theta = 19,9^\circ$  (Figura 28), o que confirma o surgimento de um novo polímero (LILI, 2007).

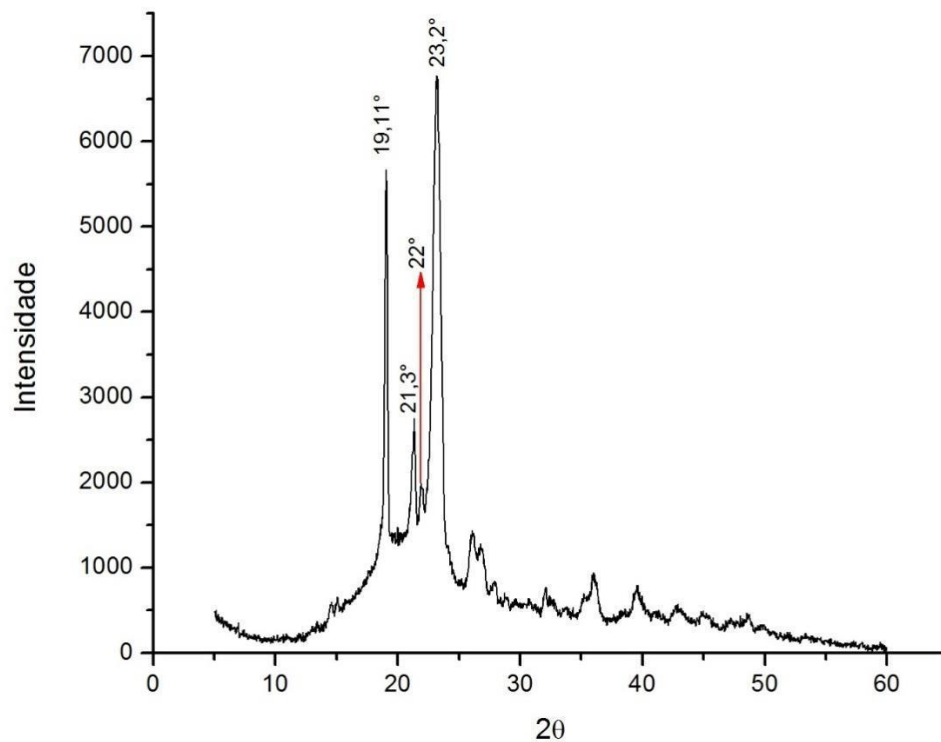
De acordo com Tamboli e colaboradores (2013) que sintetizaram o poli(l-lactídeo) (PLLA) em lugar do ( $\pm$ )-P(3HB), relataram que o copolímero tinha o pico menor, quando comparado com o homopolímero puro. Os autores também relataram que o pico referente à PCL, teve a cristalinidade bastante reduzida. O mesmo evento é observado no trabalho quando relacionou o tamanho do pico do (R)-P(3HB) em  $2\theta = 22,3^\circ$  do homopolímero, com o do pico referente ao do ( $\pm$ )-P(3HB) no meio da cadeia do copolímero em  $2\theta = 22^\circ$ .

O quarto pico do copolímero foi apresentado em  $2\theta = 23,2^\circ$ , provando que houve deslocamento quando comparou-se com os picos do PEG em  $2\theta = 23,3^\circ$  e o da PCL em  $2\theta = 23,7^\circ$ . Isto, pode ser justificado pelo processo de formação do copolímero, que interfere nos espaços interplanares dos cristais presentes no bloco polimérico (KAHN, 2012).

No trabalho de Lili (2007) o copolímero (PLLA-co-PCL)-*b*-PEG-*b*-(PLLA-co-PCL) apresentou dois picos de maior intensidade característico da estrutura do PEG  $20\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$  e com aumento do halo amorfo, o difratograma foi semelhante ao da Figura 29 com relação ao picos referentes ao PEG. O autor ainda relatou que os

planos cristalinos não foram alterados quando comparado com os homopolímeros puros e encontrou um grau de cristalinidade bem menor para o copolímero em relação ao grau de cristalinidade do PEG. Na Tabela 12 o grau de cristalinidade encontrado para o copolímero foi de 68,6%, próximo do grau de cristalinidade da PCL que foi de 68% e superior ao do PEG (59%) e ao do ( $\pm$ )-P(3-HB).

**Figura 29: Difratoograma de raios-X do copolímero tribloco (P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB)-b-PEG-b(P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB))))**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 12: Grau de cristalinidade do copolímero tribloco (P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB)-b-PEG-b(P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB))))**

Polímero	Grau de cristalinidade ( $X_c\%$ )
(P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB)-b-PEG-b(P(CL-co( $\pm$ )-(3-HB))))	68,6 $\pm$ 1,8
PCL	68,0 $\pm$ 2,5
(R)-P(3-HB)	57,3 $\pm$ 2,0
PEG	59,0 $\pm$ 3,0

Fonte: Resultado da pesquisa.

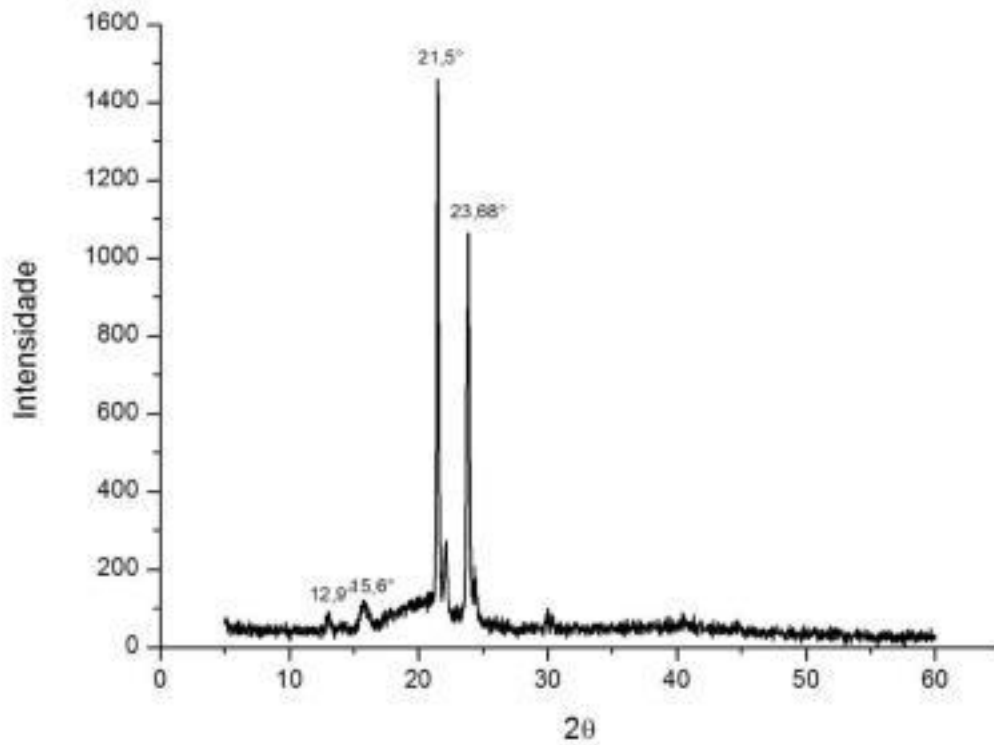
#### **4.1.4.4 Difractometria de raios-X do copolímero estrela sorbitol-b-(PCL)<sub>6</sub>**

O copolímero estrela sorbitol-b-(PCL)<sub>6</sub> apresentou no difratograma da Figura 30 quatro picos, sendo os dois primeiros picos de menor intensidade e os outros dois de intensidades consideradas. O primeiro pico foi determinado em  $2\theta = 12,9^\circ$  podendo ser referido a estrutura do sorbitol, visto que foi identificado um pico de intensidade média em  $2\theta = 11,7^\circ$  (Figura 31) no sorbitol e não foi identificado no difratograma da PCL picos com intensidade inferior a  $2\theta = 15,6^\circ$  (Figura 25).

O segundo e terceiro picos são determinados nos mesmos ângulos em que são representados na PCL, sendo os picos em  $2\theta = 15,6^\circ$  e  $21,5^\circ$ . O último pico é identificado em  $2\theta = 23,68^\circ$ , o qual apresenta-se com intensidade maior que os picos determinados em  $2\theta = 23,4^\circ$  do sorbitol e  $2\theta = 23,7^\circ$  da PCL, isto demonstrou que houve indício de interação entre a cristalinidade de ambos. Não foi encontrado resultados na literatura para o copolímero, porém Luo e colaboradores (2012) sintetizaram o copolímero estrela sorbitol-b-(PLA) e relataram que os principais picos foram semelhantes ao pico do PLA puro. Teng e colaboradores (2015) descreveram os planos cristalográficos, conforme os planos cristalográficos do PLLA e do sorbitol, pois afirmaram ser os mesmos.

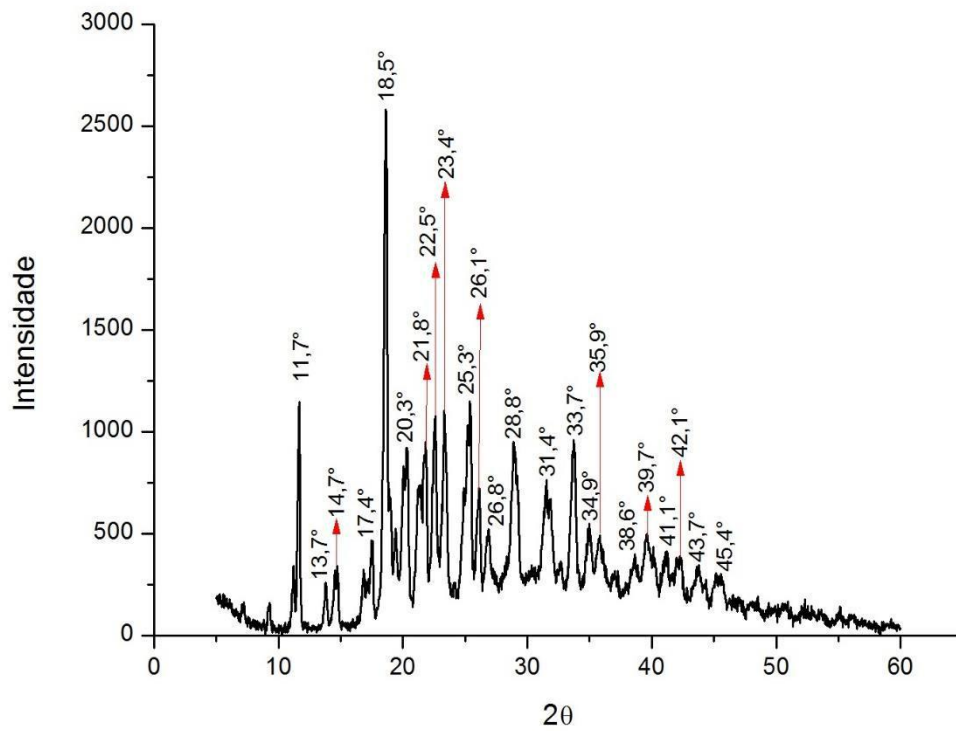
Os autores também encontraram grau de cristalinidade variando entre 8 a 21% conforme aumentavam a proporção em mols do PLLA. Nesse trabalho, conforme a tabela 13 o grau de cristalinidade determinado foi de 77,3 %, superior ao grau de cristalinidade da PCL que foi de 68% e o sorbitol que foi de 70,8%.

Figura 30: Difratoograma de raios-X do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>



Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 31: Difratoograma de raios-X do sorbitol



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 13: Grau de cristalinidade do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>**

Polímero	Grau de cristalinidade
sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub>	77,3 ± 2,0
PCL	68,0 ± 2,0
Sorbitol	70,8 ± 1,0

Fonte: Resultado da pesquisa.

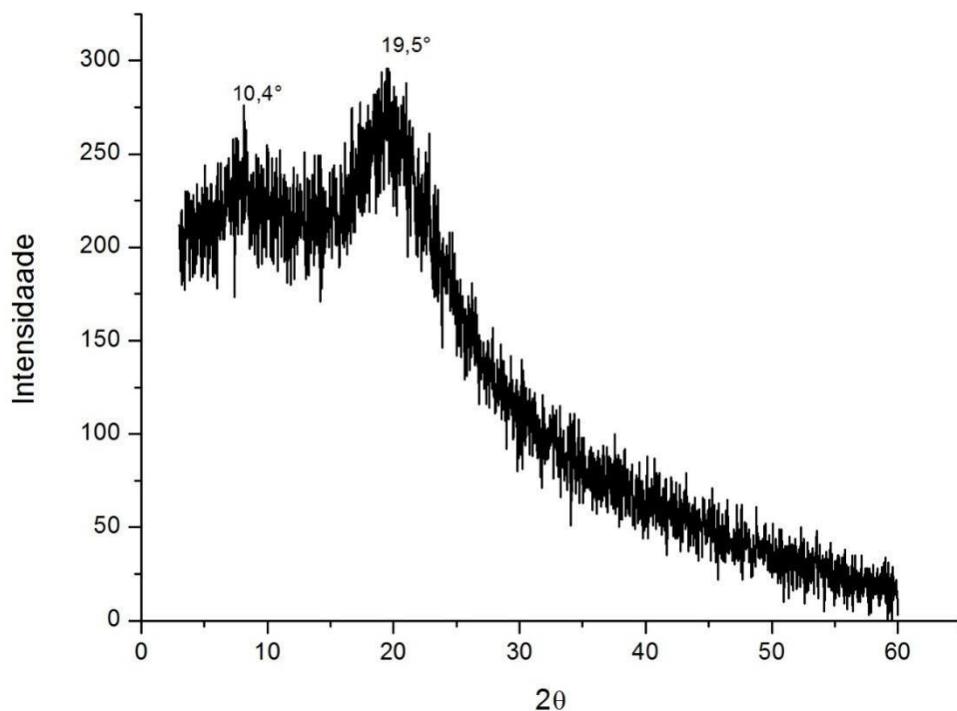
#### **4.1.4.5 Difratomia de raios-X do copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>**

No difratograma da Figura 32, observam-se dois picos poucos definidos encontrados em  $2\theta = 10,4^\circ$  e  $19,5^\circ$ . O primeiro pico identifica o sorbitol, em que de acordo com a Figura 33 tem um pico em  $2\theta = 11,7^\circ$ , resultado semelhante ao de Luo e colaboradores (2012). O segundo pico é característico do (R)-P(3-HB) identificado em  $2\theta = 19,9^\circ$  conforme o difratograma da Figura 28. Essas diferenças nos deslocamentos são resultados da copolimerização, em que por causa da reação ocorre diferenças nas distâncias interplanares dos blocos poliméricos presentes.

Na tabela 14 foi determinado o grau de cristalinidade, sendo encontrado grau de 10% o que estabeleceu uma estrutura bastante amorfa. Essa reduzida cristalinidade segundo Mei e colaboradores (2004) que estudara a biocompatibilidade do sorbitol com poliésteres, seria porque o sorbitol inibi a formação de cristais, pois devido a incapacidade dessas unidades se encaixar com o poliéster cristalino. De acordo com os autores isto justifica a diminuição do grau de cristalinidade do copolímero, principalmente quando promoveram aumento do teor de sorbitol. Luo e colaboradores (2012) também afirmaram que a introdução do sorbitol no núcleo do copolímero reduzia o grau de cristalinidade, o que era contrário à dimensão cristalina do PLA.

A reduzida cristalinidade desse copolímero torna-o em relação aos outros sintetizados melhor para uso médico, pois de acordo com Neves (2002) baixa taxa de cristalinidades dos polímeros melhoram absorção do dispositivo pelo organismo.

**Figura 32: Difratoograma de raios-X do copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 14: Grau de cristalinidade do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>**

Polímero	Grau de cristalinidade
sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub>	10,0 ± 5,0
(R)-P(3-HB)	57,3 ± 2,0
Sorbitol	70,8 ± 1,0

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.5 Espectroscopia de RMN

##### 4.1.5.1 Espectroscopia de RMN do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL

No espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 33) o primeiro pico, um pico duplo (d+e+f), com deslocamento entre 1,2 e 1,7 ppm e área 132, refere-se aos grupos metilênicos característicos do bloco da PCL. O segundo pico de área 44, representado em 2,3 (c) ppm identifica o CH<sub>2</sub> próximo a carbonila da PCL. O terceiro (a+g'+h) com área 554, encontra-se em 3,5 ppm, indicando o CH<sub>2</sub> do PEG, CH<sub>2</sub> da PCL próximo a hidroxila e o hidrogênio da hidroxila, respectivamente. O último pico (b+g) de área

44, o deslocamento foi determinado em 4,1 ppm, identificando o CH<sub>2</sub> adjacente ao oxigênio da carboxila, característico da estrutura do PEG e da PCL.

No trabalho de Barghi e colaboradores (2015), os autores caracterizaram os picos 2,3 e 4,1 ppm, como tripletos e os picos encontrados entre 1,2 e 1,7 ppm como multipletos, confirmando o espectro determinado na Figura 34. O pico em 4,1 ppm, segundo Lima e Andrade (2012), é a confirmação da formação do copolímero, pois o sinal é característico dos hidrogênios do grupo metileno do PEG, na ligação entre PEG e PCL, juntamente com os hidrogênios das unidades finais hidroxiladas do segmento caproíla.

Os picos típicos do PEG em 3,5 ppm e da PCL em 4,1 ppm relaciona com a quantidade de meros formados no copolímero. Com isso, foi determinado através da razão entre a área do pico da PCL ( $I_{(\text{CH}_2\text{-PCL})}$ ) e área do pico do PEG ( $I_{(\text{CH}_2\text{-PEG})}$ ), 22 meros  $\epsilon$ -CL e uma massa molar de 8508 g.mol<sup>-1</sup>. A quantidade de meros foi encontrada usando as equações a seguir, conforme Guerrouani (2008) e Nguyen (2010):

$$\text{Mn copolímero} = \text{Mn PEG} + \text{Mn PCL} \quad (4)$$

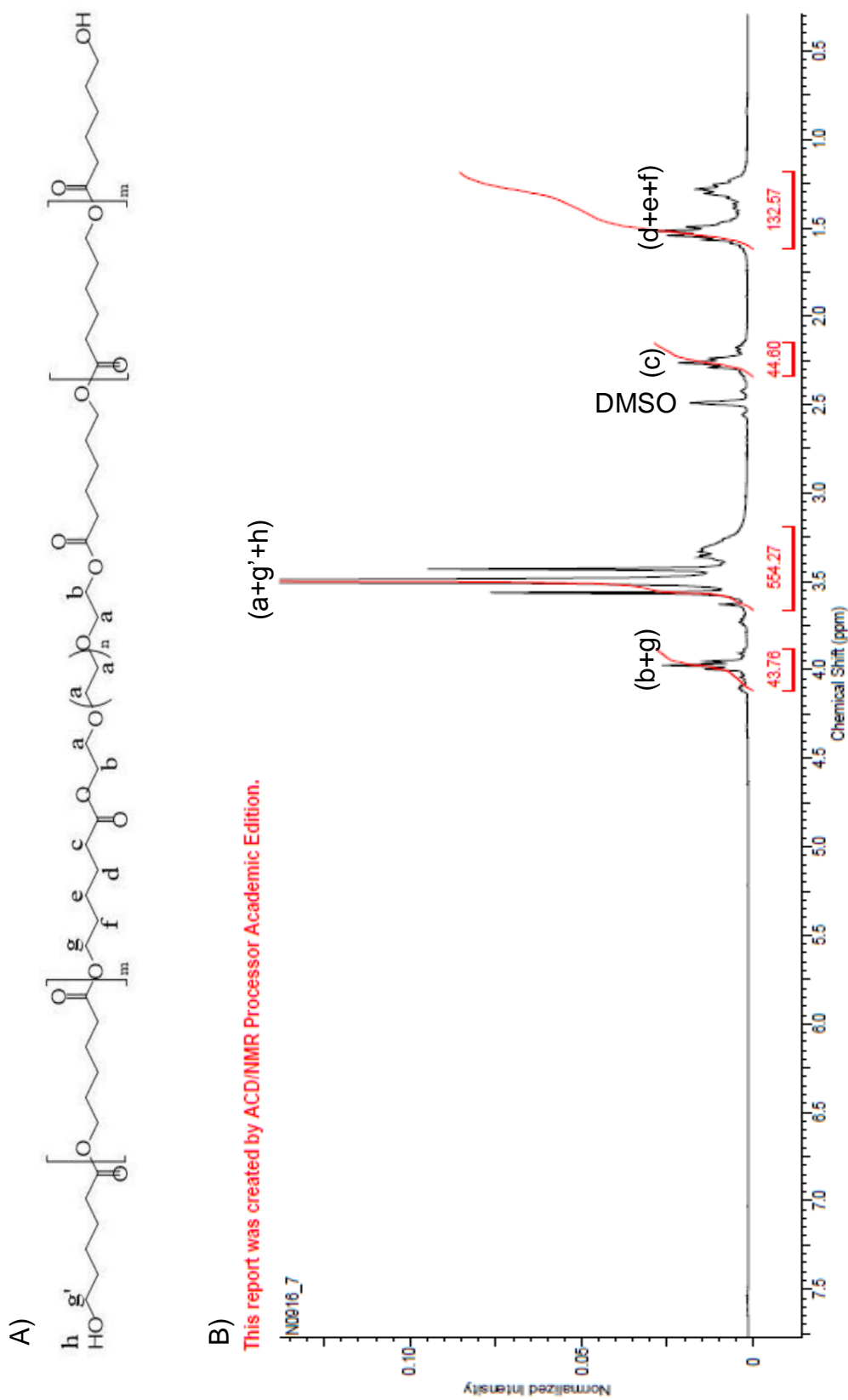
$$\text{Mn Copolímero} = \text{Mn PEG} + (\text{Mn PEG}/44 \times 114/2 \times 114/2 \times I_{(\text{CH}_2\text{-PCL})}/I_{(\text{CH}_2\text{-PEG})}) \quad (5)$$

$$\text{Mn PCL}/114 = \text{Quantidade de meros} \quad (6)$$

Essa quantidade de meros na cadeia do copolímero pode ser variada de acordo com o controle da razão molar da  $\epsilon$ -caprolactona e o PEG ( $\epsilon$ -CL/PEG) (DANAFAR, 2016).

No espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 34) o pico em 173,2 (a) ppm identifica a carbonila da PCL, enquanto os picos 64,2 (c), 61,3 (d), 33,9 (e), 25,5 (f) e 24,5 (g+h+i) ppm determinam os carbonos dos grupos metilênicos do bloco da PCL. O carbono do metileno do bloco do PEG é deslocado em 70,4 (b) ppm. São também observados no espectro picos de pouca intensidade em 69,5 (j) e 32,2 (k) ppm que, de acordo com Guerrouani (2010), são atribuídos à ligação dos blocos do copolímero, em que 69,5 ppm indica o deslocamento do carbono do metileno do PEG ligado diretamente ao bloco da PCL, e em 32,2 ppm o deslocamento faz referência ao átomo de carbono da PCL adjacente ao bloco do PEG.

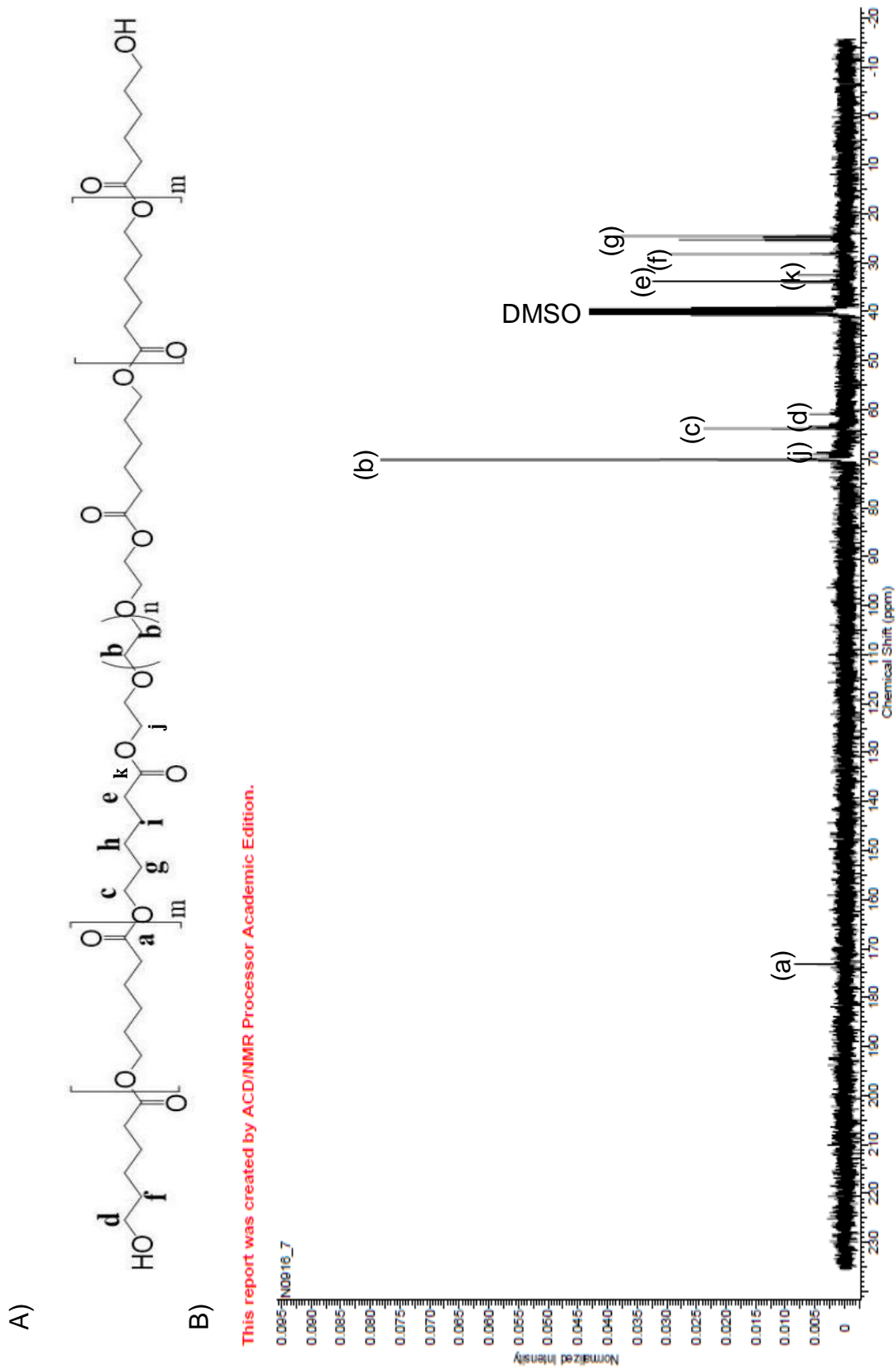
Figura 33: Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL.  
A) Estrutura, B) Gráfico.



Fonte: Resultado da pesquisa.



Figura 34: Espectro de RMN-<sup>13</sup>C do copolímero tribloco PCL-*b*-PEG-*b*-PCL  
A) Estrutura, B) Gráfico.



#### 4.1.5.2 Espectroscopia de RMN do copolímero tribloco ( $\pm$ )-P(3-HB)-b-PEG-b-( $\pm$ )-P(3-HB)

O pico no deslocamento 5,17(a) ppm, com área 32, é característico do grupo metino do ( $\pm$ )-P(3-HB). Entretanto o deslocamento 3,75 (pico “b+e”) ppm de área 556 identificam o grupo metino ligado as hidroxilas terminais do ( $\pm$ )-P(3-HB), além dos hidrogênios das hidroxilas terminais e o grupo metileno referente ao bloco do PEG. No trabalho de Liu e colaboradores (2008) os autores descreveram que o deslocamento maior que 3,7 ppm confirma a presença do copolímero, pois o sinal dos metilenos da cadeia do homopolímero PEG são indicados entre 3,46 ppm e 3,7 ppm, visto, então, que o sinal é relativo ao CH<sub>2</sub> adjacentes a carboxila.

Em 2,55 (pico “c”) ppm e área 68, o deslocamento determina o CH<sub>2</sub> e em 1,27 (pico “d”) ppm e área 102, identifica o CH<sub>3</sub>, ambos característicos do bloco do ( $\pm$ )-P(3-HB). O espectro da Figura 35 assemelha-se ao de Liu e colaboradores (2010). Na copolimerização realizada por Chen e colaboradores (2006) a proporção de 3: 1: 2 entre os grupos metila (CH<sub>3</sub>, metino (CH) e metileno (CH<sub>2</sub>) demonstrou que houve a formação do ( $\pm$ )-P(3-HB) por abertura do anel. Essa relação entre as áreas dos picos ( $I_{\text{CH}_2-(\pm)\text{-P(3-HB)}}/I_{\text{CH}_2\text{-PEG}}$ ) comprovou a ocorrência da síntese do tribloco mostrada no espectro estudado. Também foi determinada a massa molar dos copolímeros através da razão entre área do pico dos grupos metilenos correspondentes ao PEG e os metilenos do ( $\pm$ )-P(3-HB), o qual, de acordo com as equações 7, 8 e 9, baseadas em Guerrouani (2008), teve como peso molar 8924 g.mol<sup>-1</sup> e 34 meros encontrados da  $\beta$ -BL.

$$\text{Mn copolímero} = \text{Mn PEG} + \text{Mn P(3 - HB)} \quad (7)$$

$$\text{Mn Copolímero} = \text{Mn PEG} + (\text{Mn PEG}/44 \times 86/2 \times I_{\text{CH}_2 - \text{P(3 - HB)}}/I_{\text{CH}_2 - \text{PEG}}) \quad (8)$$

$$\text{Mn P(3 - HB)}/86 = \text{Quantidade de meros} \quad (9)$$

No espectro do RMN-<sup>13</sup>C (Figura 36) foram determinados picos correspondentes ao ( $\pm$ )-P(3-HB) em 169,2 (a), 67,9 (c), 44,8 (d) e 21,1 (e) ppm. O primeiro deslocamento indicou o carbono da carboxila, o segundo o grupo metino, o

terceiro o metileno e o quarto a metila. Os deslocamentos químicos apresentados assemelham-se com os indicados no (R)-P(3-HB) microbiano (CHEN et al., 2002). Picos de poucas intensidades são identificados em 63,4 (f), 43,3 (g) e 22,7 (h) ppm, sendo estes carbonos dos grupos terminais de acordo com Liu e colaboradores (2008), confirmando dessa forma copolimerização.

O pico de intensidade alta com deslocamento em 69,9 (b) ppm conferido ao bloco do PEG, conforme Chen e colaboradores (2006) determina a ligação proveniente entre o grupo metileno do PEG e o grupo éster da  $\beta$ -BL, visto que os carbonos encontrados apenas no bloco do homopolímero PEG se deslocam em 70,3 a 70,9 ppm, comprovando também que ocorreu a formação do copolímero.

Figura 35: Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*- (±)-P(3-HB). A) Estrutura, B) Gráfico.

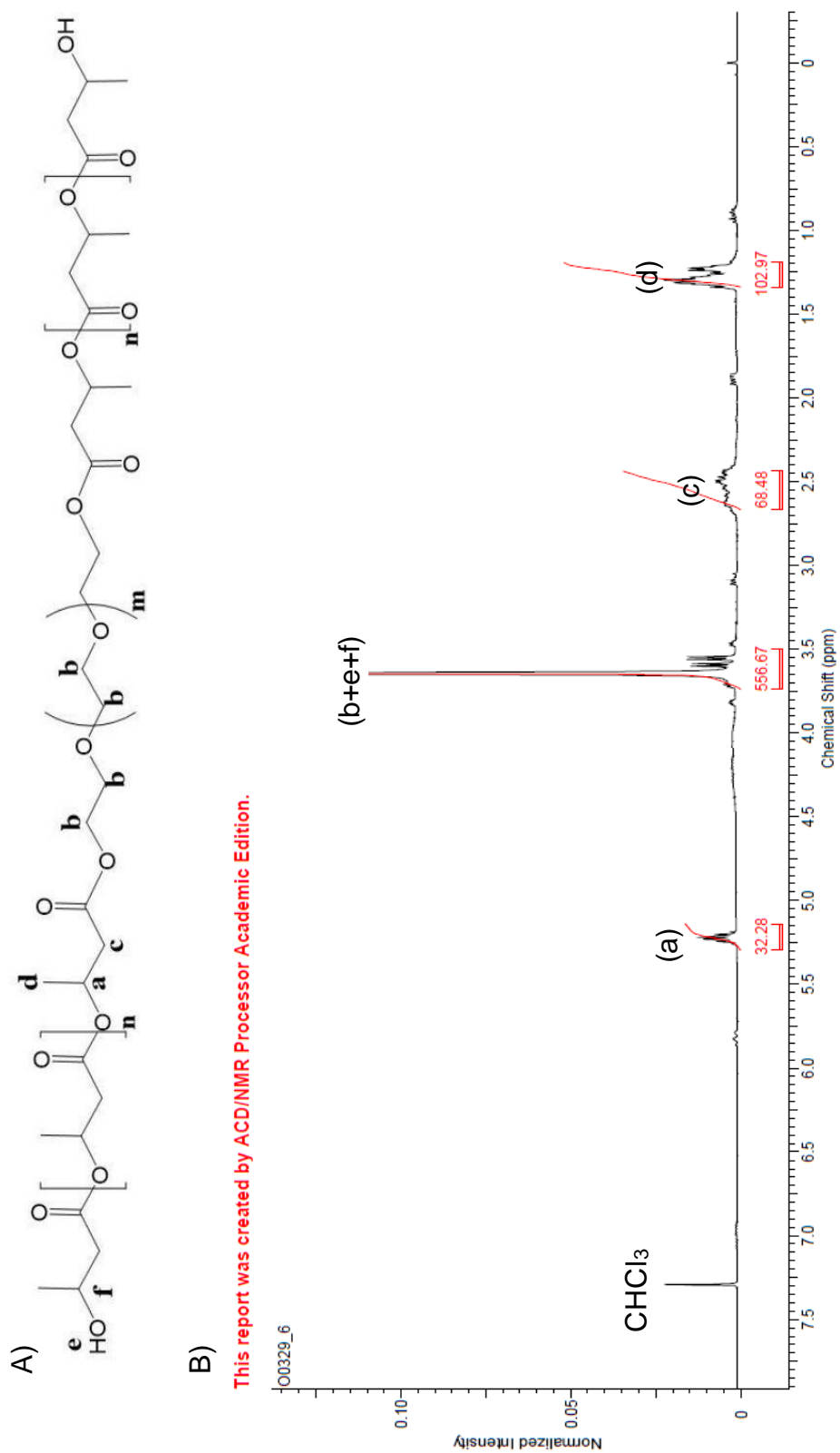
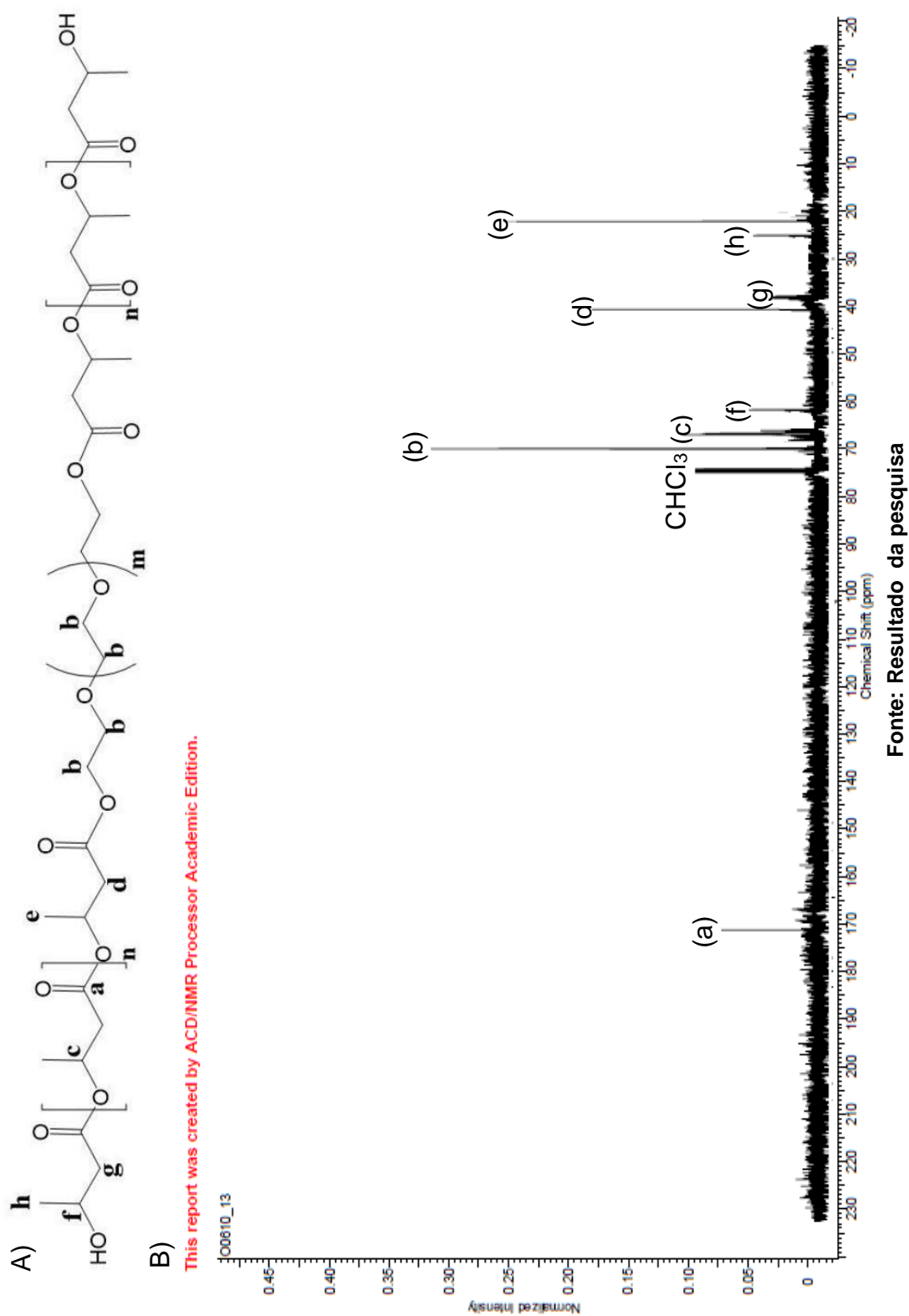


Figura 36: Espectro de RMN-<sup>13</sup>C do copolímero tribloco (±)-P(3-HB)-*b*-PEG-*b*- (±)-P(3-HB). A) Estrutura, B) Gráfico.



#### 4.1.5.3 Espectroscopia de RMN do copolímero tribloco (*P(CL-co-(±)-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-3-HB)*)

Os deslocamentos 5,25 (pico “a”) e 2,52 (pico “f”) ppm identificam respectivamente os grupos metino e metileno pertencentes ao bloco do (±)-P(3-HB). Os deslocamentos em 4,11 (b) 2,25 (g) e 1,57 (h+i) correspondente aos grupos metilênicos, característico da PCL. A identificação dos deslocamentos (pico “a”) e (pico “b”), determinando os hidrogênios adjacentes ao oxigênio da carboxila, provam que ocorreu a copolimerização, visto que indicam a abertura das lactonas (LIU et al., 2008; LIMA, ANDRADE; 2012).

No pico 3,79 (c+d+e) ppm o deslocamento determina os CH<sub>2</sub> referentes a cadeia do PEG, CH<sub>2</sub> ligados as hidroxilas terminais da PCL e os hidrogênios terminais. De acordo com Lili (2007), esse deslocamento é característico da ligação do metileno do PEG com o poliéster e que a intensidade do pico demonstra o grande bloco da cadeia, conforme a quantidade de PEG introduzida na alimentação. O deslocamento do pico dos CH<sub>2</sub> em relação ao homopolímero PEG que é em torno de 3,5 ppm, mostra que as hidroxilas do PEG foram consumidas na copolimerização (CHEN et al., 2006).

O último pico no deslocamento 1,29 (j+k) ppm determina o grupo metileno central do bloco da PCL e o grupo metino do (±)-P(3-HB) (BONARTSEV et al., 2013; TAMBOLI et al., 2013; CHU et al, 2016). Todos os picos são observados na Figura 37.

A massa molar foi calculada através da relação entre as áreas dos picos dos grupos metilênicos dos blocos poliméricos, conforme as equações das seções 4.1.5.1 e 4.1.5.2. As áreas dos picos dos CH<sub>2</sub> foram 248 para a PCL, 132 para o (±)-P(3-HB) e 554 para o PEG, com esses valores foi encontrado uma massa molar igual 25412 g.mol<sup>-1</sup>. Portanto, sendo determinados 122 meros referentes a PCL e 64 meros a (±)-P(3-HB).

No espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 38) os picos referentes a PCL são determinados em 62,2 (f), 32,5 (h), 28,0 (i) e 24,7 (j+k+l) ppm correspondendo aos grupos metilênicos (MONSALVE et al, 2010). Os picos (f) e (h) são indicações de CH<sub>2</sub> ligados as hidroxilas terminais (PIAO et al, 2003). Os deslocamentos identificando ao (±)-P(3-HB) são apresentados em 33,9 (g) e 19,1 (m) ppm, em que o primeiro se refere ao CH<sub>2</sub> e o segundo ao CH<sub>3</sub> (CHEN et al., 2006).

Em relação ao PEG o deslocamento característico do CH<sub>2</sub> da cadeia é determinado em 70,1 (b) ppm, enquanto os CH<sub>2</sub> terminais são identificados no deslocamento em 63,8 (c+d+e) ppm, assim como os carbonos do grupo metino do (±)-P(3-HB) e dos metilenos da PCL, todos adjacentes ao oxigênio da carboxila. De acordo com Piao e colaboradores (2003), o metileno (d) de menor deslocamento referente ao PEG, apresenta-se desta forma por ser o grupo ligado ao bloco do poliéster, confirmando a copolimerização.

Os carbonos dos grupos ésteres alifáticos possuem seus deslocamentos em 173,2 (a) ppm. No trabalho de Lili (2007) os copolímeros sintetizados com dois poliésteres (PLA-co-PCL)-*b*-PEG-*b*-(PCL-co-PLA) apresentavam os picos correspondente ao carbono da carboxila nas regiões entre 169 e 174 ppm, próximo ao encontrado no espectro da Figura 38.

Figura 37: Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-(3-HB)-b-PEG-b-(P(CL-co-(±)-(3-HB))). A) Estrutura, B) Gráfico.

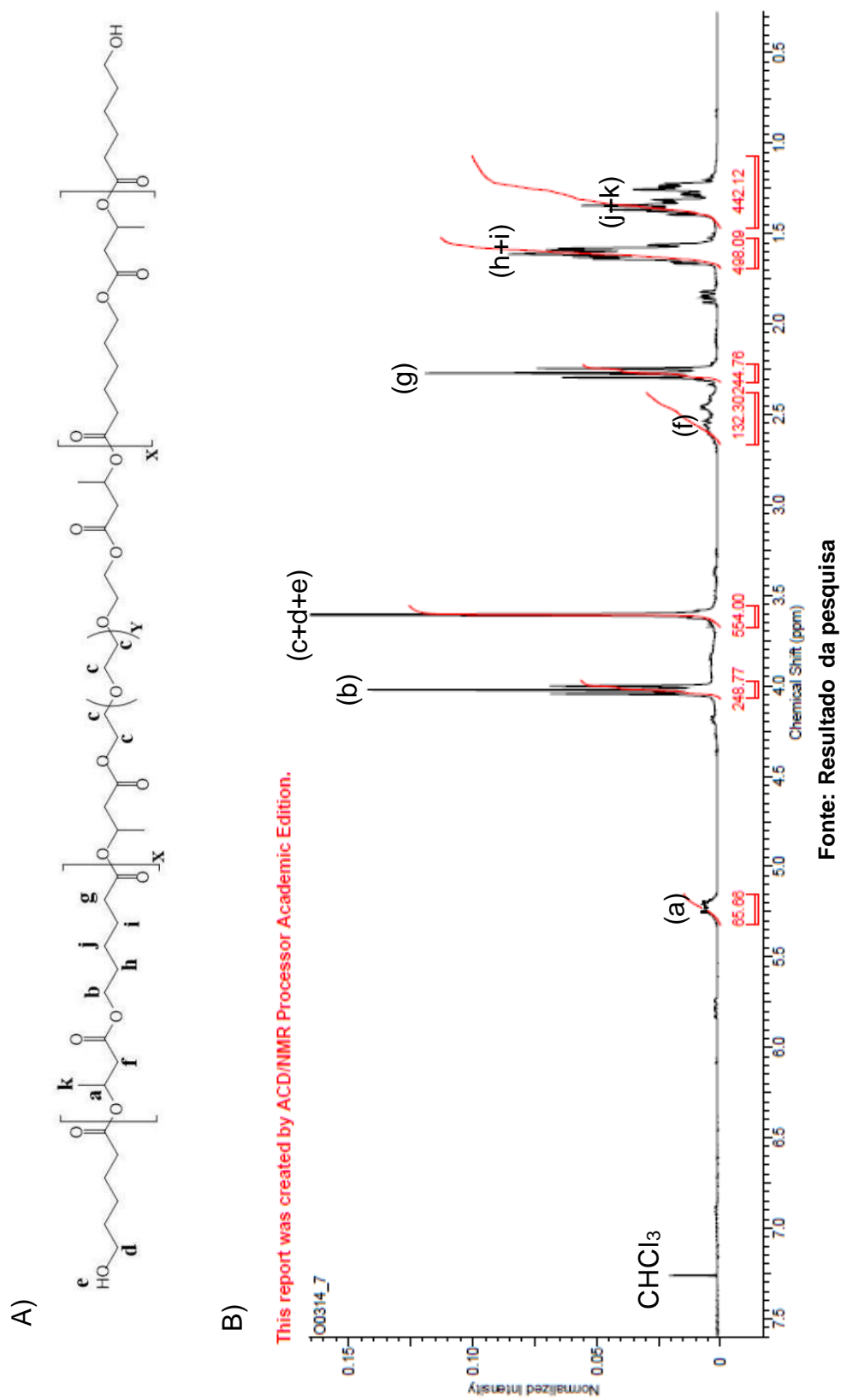
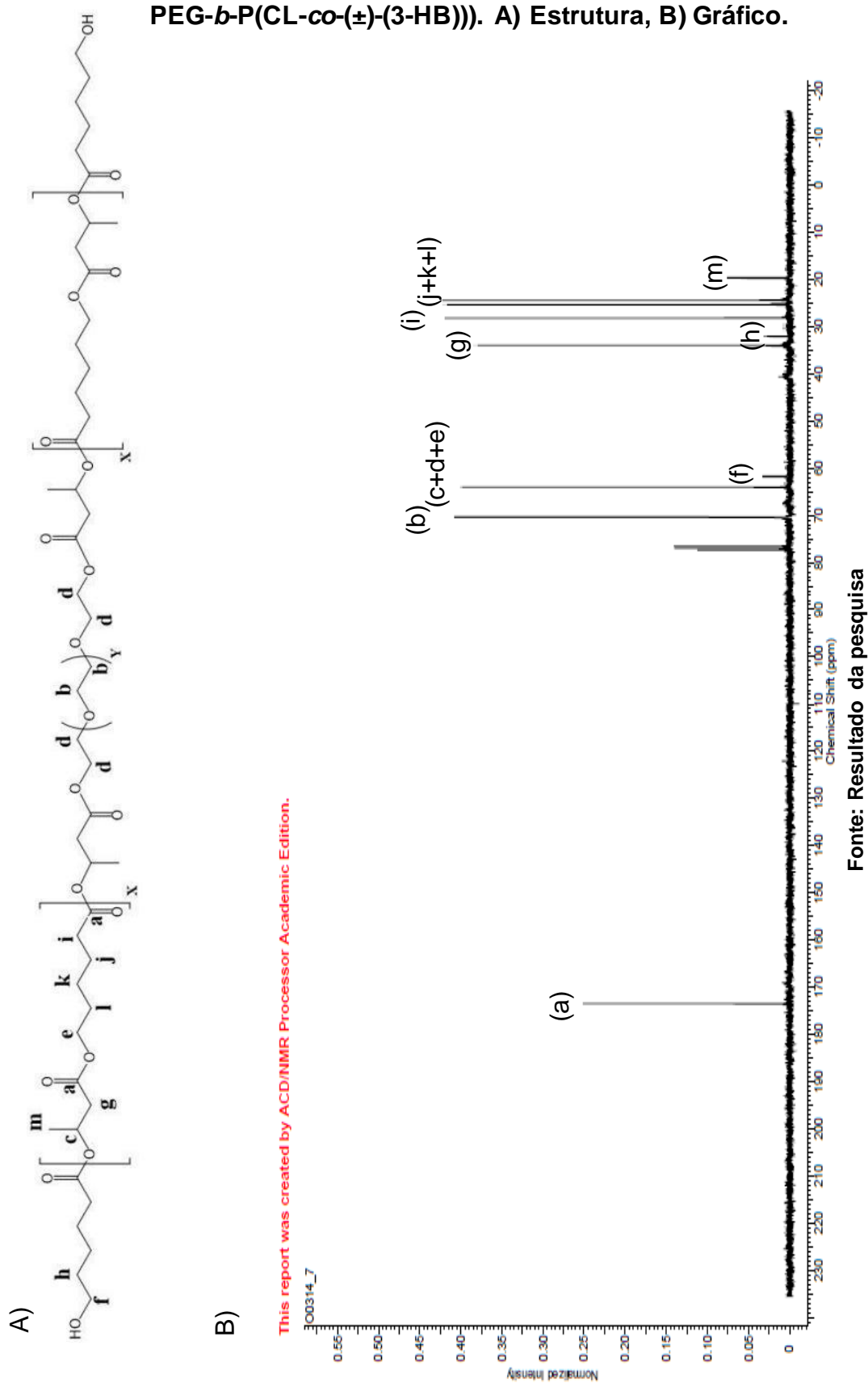




Figura 38: Espectro de RMN-<sup>13</sup>C do copolímero tribloco (P(CL-co-(±)-3-HB)-b-PEG-b-P(CL-co-(±)-(3-HB))). A) Estrutura, B) Gráfico.



#### 4.1.5.4 Espectroscopia de RMN do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>

No espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 40), de acordo com a estrutura (Figura 39) os deslocamentos referentes ao bloco da PCL são identificados em 3,65 (pico “d+e”), 2,30 (f) e entre 1,66 e 1,38 (pico “g+h+i”) ppm. No pico (d+e) determinam-se os hidrogênios dos metilenos terminais e as hidroxilas, os outros picos da PCL são os grupos metilênicos centrais. Em 4,15 (pico “a+b+c”) ppm o deslocamento indica os CH e os CH<sub>2</sub> do sorbitol, além de identificar os CH<sub>2</sub> próximos ao oxigênio da carboxila, encontrados na PCL e na parte terminal da estrutura do sorbitol, o que comprova copolimerização através da ligação entre dois (CRISTOBAL et al., 2012).

No trabalho de Gou e colaboradores (2008), os autores identificaram o deslocamento em 4,5 ppm no espectro do copolímero estrela formado por PCL e um derivado de resorcinareno. Os autores relataram que o pico nesse deslocamento é indicação da ligação direta entre os braços da PCL com o núcleo octafuncional. Teng e colaboradores (2016) na copolimerização estrela da PLLA com eritrol observaram que não havia um sinal singlete referente as hidroxilas, confirmando o consumo das hidroxilas do eritrol na síntese. No espectro da Figura 39 não existe presença de pico singlete identificando as hidroxilas do sorbitol.

A quantidade de meros da PCL sintetizados foi de 8 por braço, calculados através da razão entre área dos picos 2,3 e 3,65 ppm, sendo essas áreas 144 e 18 respectivamente (CRISTOBAL et al., 2012). A massa molar encontrada foi de 5650 g.mol<sup>-1</sup>.

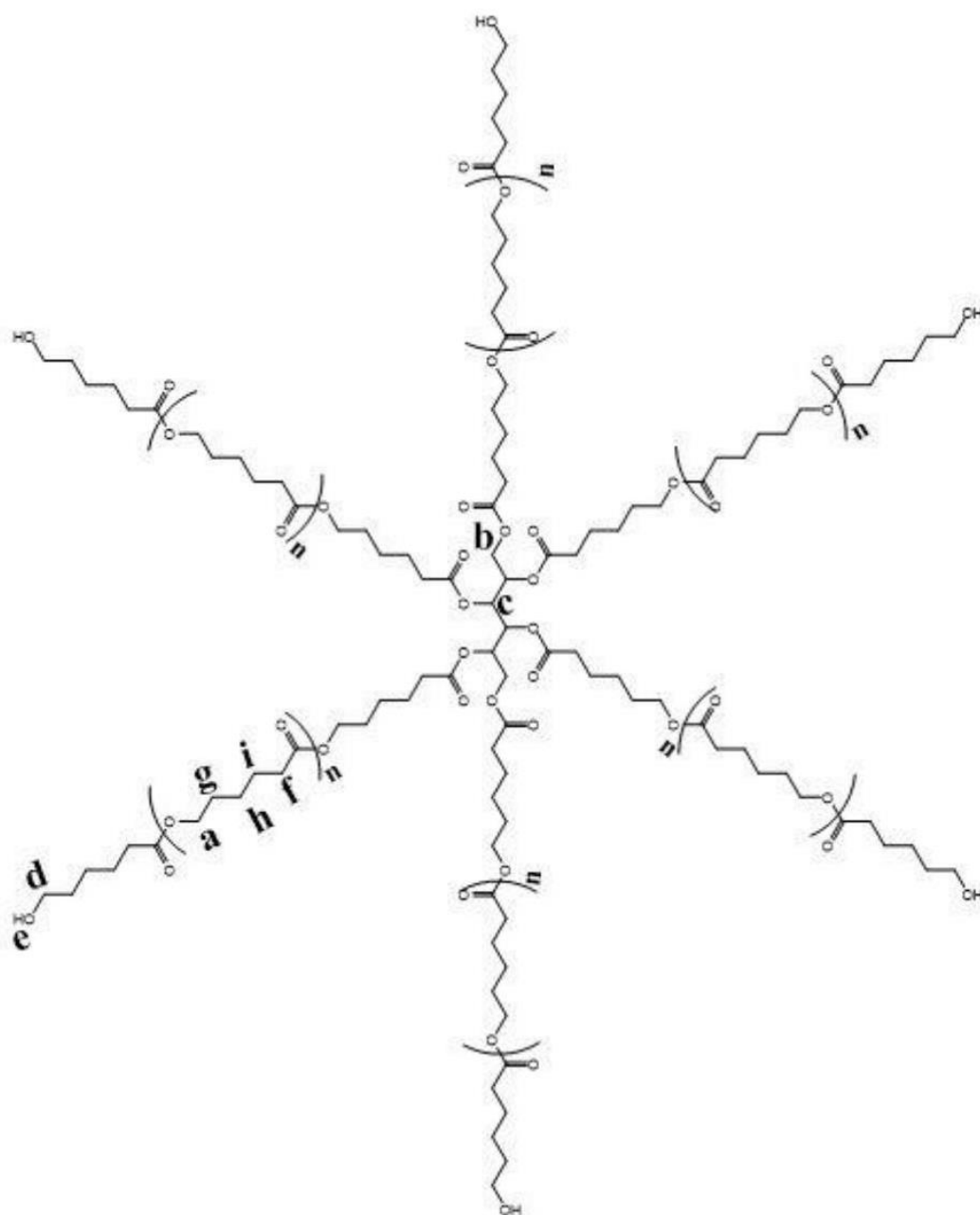
O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 42), conforme a estrutura (Figura 41) apresentou picos referente ao sorbitol em 62,4 (d) e 29,8(e) ppm. Estes picos de pouca intensidade, representam os carbonos dos grupos metino e metileno. Os picos determinando a PCL são identificados em 172,6 (a), 63,7 (b+c), 33,9 (e), 28,7 (g), 25,5 (h), e 24,8 (i) ppm, em que o pico (a) determina o carbono da carboxila e os demais aos grupos metilênicos do bloco (LEMMOUCHI et al., 2008; ROA et al., 2010).

No trabalho de Teng e colaboradores (2015), os autores copolimerizaram sorbitol-*b*-(PLLA)<sub>6</sub> e relataram que os desvio químicos ocorridos, por exemplo, nos carbonos do sorbitol, em que o CH variou deslocamento foi de 70,2 ppm para 66,6 ppm no copolímero e o CH<sub>2</sub> variando de 64,4 ppm para 20,6 ppm. Essas variações, segundo os autores, confirmaram o copolímero estrela preparado preliminarmente

pelo iniciador multifuncional sorbitol. Dados semelhantes foram observados no trabalho de Tao e colaboradores (2013) que sintetizaram o copolímero estrela manitol-*b*-(poli(lactídeos)<sub>6</sub>).

Na pesquisa de Liu e colaboradores (2011) o espectro de RMN-<sup>13</sup>C do sorbitol puro, verifica-se que os carbonos da molécula apresentam deslocamentos entre 74,8 a 63,59 ppm. Estes valores apresentados quando comparados com os valores determinados no espectro da Figura 40, ratificam a copolimerização, devido os desvios ocorridos nos deslocamentos.

Figura 39: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN-<sup>1</sup>H



Fonte: Resultado da pesquisa.

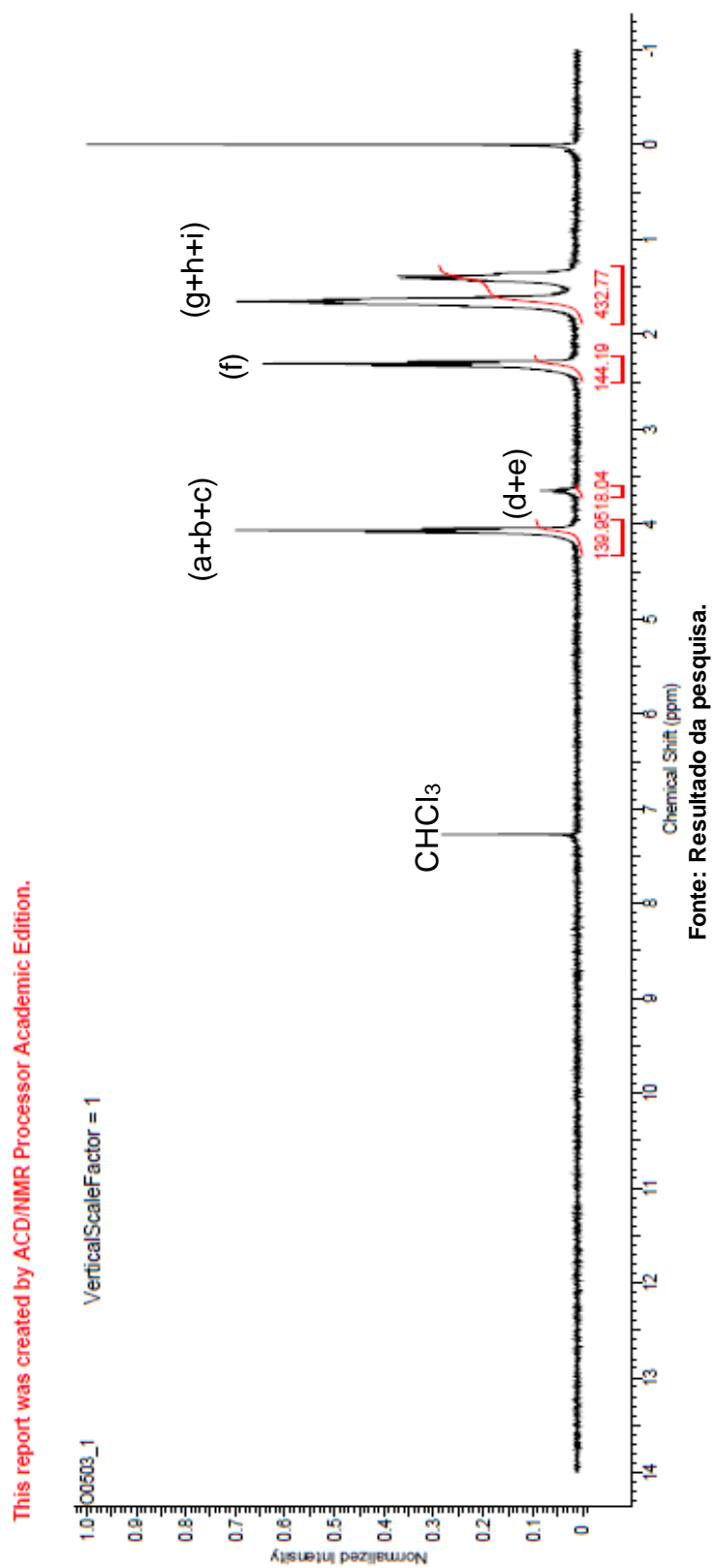
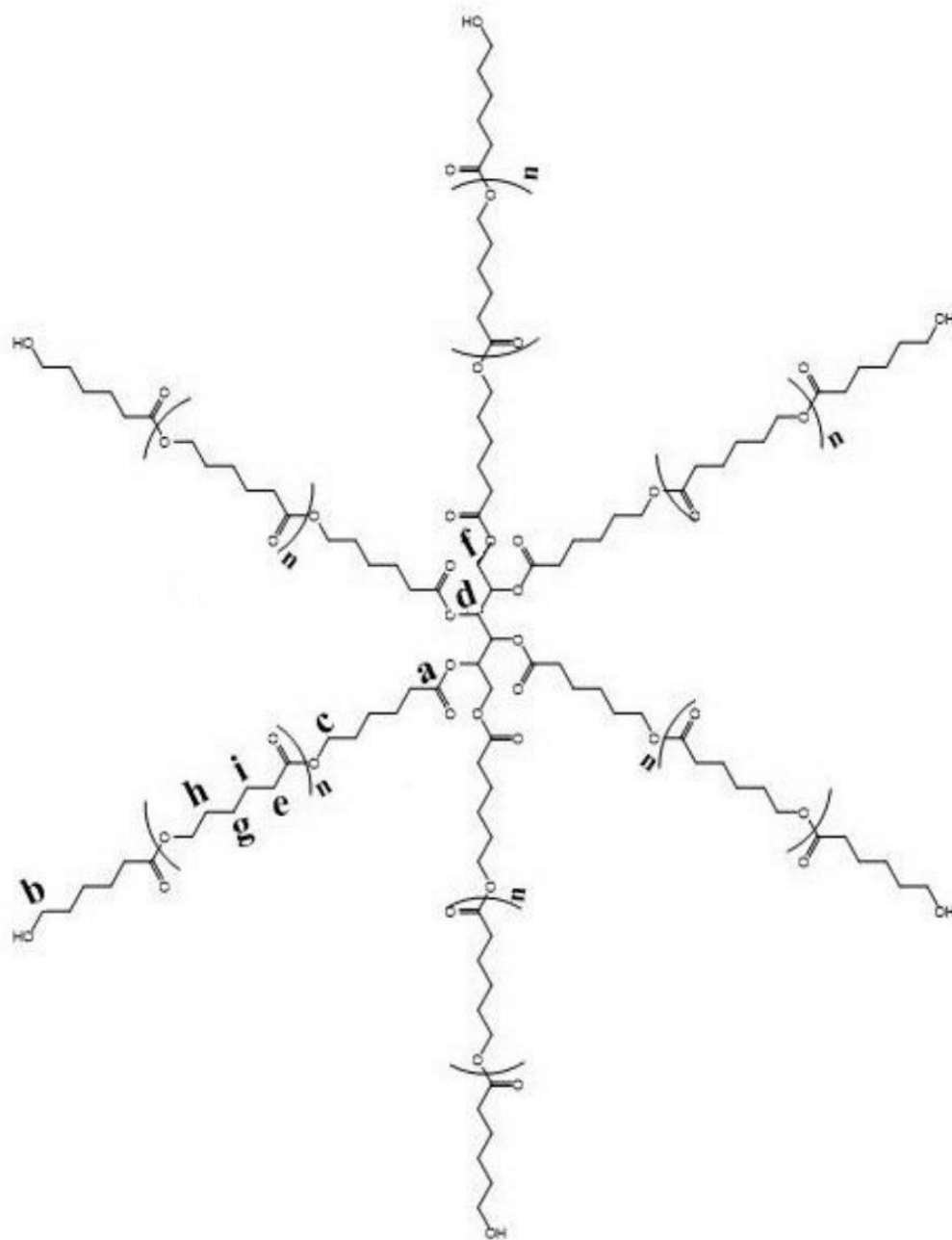
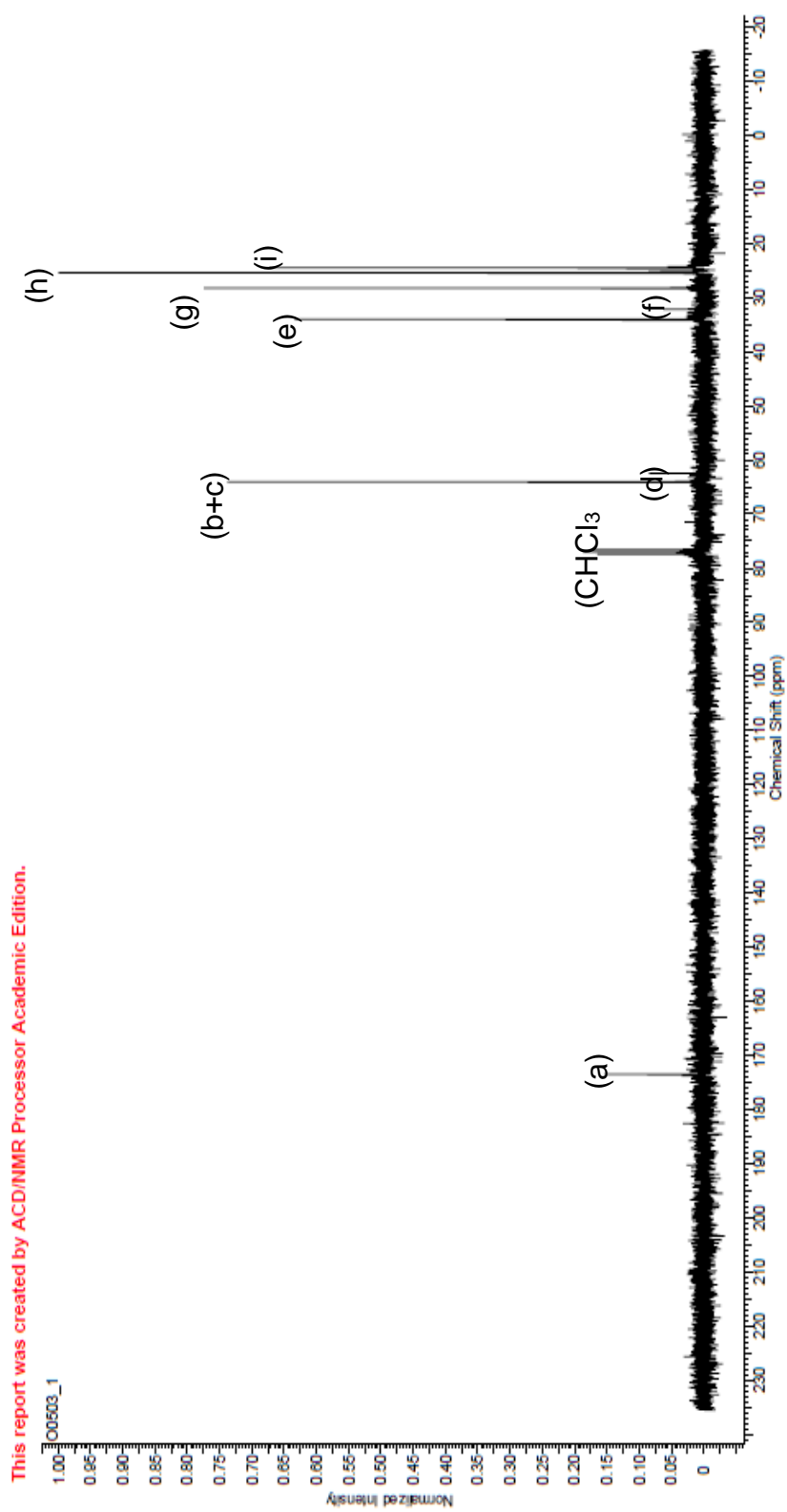
Figura 40: Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>

Figura 41: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN-<sup>13</sup>C



Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 42: Espectro de RMN-<sup>13</sup>C do copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.5.5 Espectroscopia de RMN do copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>

O deslocamento em 5,81 (pico “a”) ppm identificou o grupo metino do sorbitol, enquanto o grupo metino do (±)-P(3-HB), dos meros repetitivos, foi caracterizado em 5,24 (pico “b”) ppm. Os CH terminais do bloco do (±)-P(3-HB) foram determinados em um deslocamento único entre 4,2 e 3,65 (pico “c+d+e”) ppm, o qual foram identificados também os hidrogênios das hidroxilas terminais e o grupo metileno do sorbitol. Nos picos 2,5 (f), 2,1 (g), 1,63 (i) e 1,25 (h) ppm os deslocamentos caracterizaram-se os CH<sub>2</sub> e o CH<sub>3</sub> da cadeia do (±)-P(3-HB), visto na Figura 44 de acordo com a estrutura (Figura 43).

Na literatura esse copolímero é inédito, mas trabalho semelhantes atribuíram o deslocamento entre 4,0 e 4,2 ppm ao grupo CH<sub>2</sub> do manitol, um poliol semelhante ao sorbitol que foi utilizado como macroiniciador para copolimerização estrela do PLLA, esse deslocamento ratificou a síntese (TAO et al., 2013). No trabalho de Teng e colaboradores um deslocamento encontrado em torno de 4,2 ppm, determinou o CH e CH<sub>2</sub> do eritrol, indicando que o poliol era participante da reação com L-lactídeo.

Em relação a presença do (±)-P(3-HB), de acordo com Santos (2007), picos característicos são identificados em 5,3 ppm, referente ao grupo metino, em 2,6 ppm, um multiplete referente ao metileno e em 1,3 ppm indicando o metil. Ao compara com o espectro de RMN-<sup>1</sup>H da Figura 42, observa-se picos equivalentes.

A massa molar determinada no copolímero foi de 1725,79 g.mol<sup>-1</sup> calculada através da soma das massas molares dos meros do (±)-P(3-HB) e do sorbitol. A quantidade de meros foi calculada pela razão entre área do pico (f) que foi de 36,8 e a área do pico (d), que foi de 16, determinado aproximadamente 3 meros por braço formando o bloco do (±)-P(3-HB) estrela (CRITOBAL et al, 2012).

O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 46), segundo a estrutura (Figura 45) apresentou deslocamentos em 169,4 (a) ppm indicativo dos carbonos das carbonilas. Deslocamentos em 70,6 (b) ppm referiu-se ao CH<sub>2</sub> do sorbitol. Em 67,7 (c+d) ppm o pico determinou os metinos do sorbitol e os metinos terminais do (±)-P(3-HB), enquanto em 64,15 (e) ppm, o pico determinou os metinos dos meros repetitivos da cadeia do (±)-P(3-HB). Os picos característicos do (±)-P(3-HB) foram determinados em 43,1 (f) e 40,2 (g) ppm identificando os CH<sub>2</sub> e em 24,4 (h) e 19,7 (i) ppm os CH<sub>3</sub>.

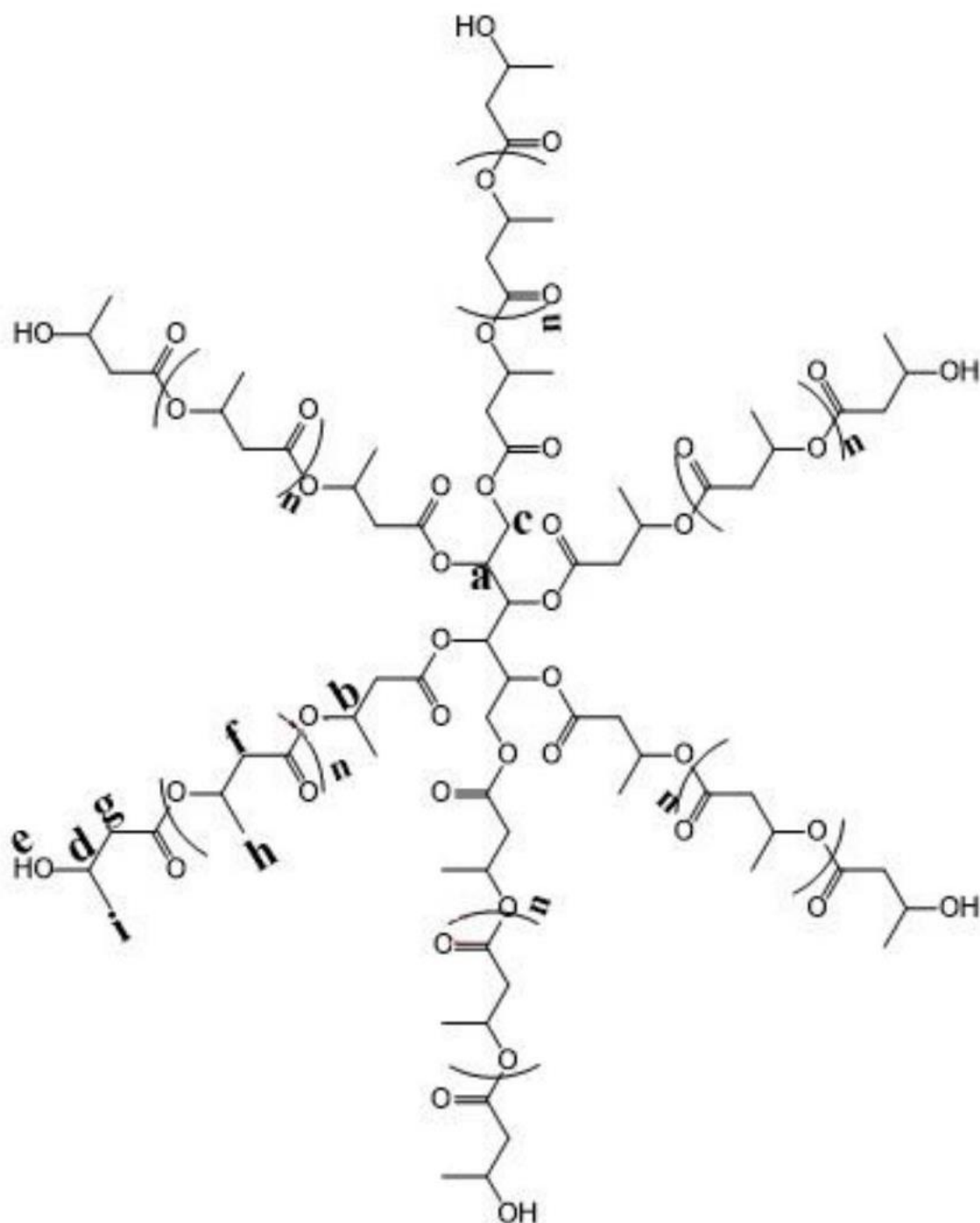


No trabalho de Teng e colaboradores (2015) o copolímero estrela sorbitol com PLLA sintetizado, apresentou carbonos dos grupos metil em deslocamentos próximos a 20 ppm, os metinos em torno de 68 ppm e as carbonila entre 169,4 e 169,8 ppm. Os resultados aproximam-se do encontrados no espectro da Figura 42, visto que não há dados na literatura.

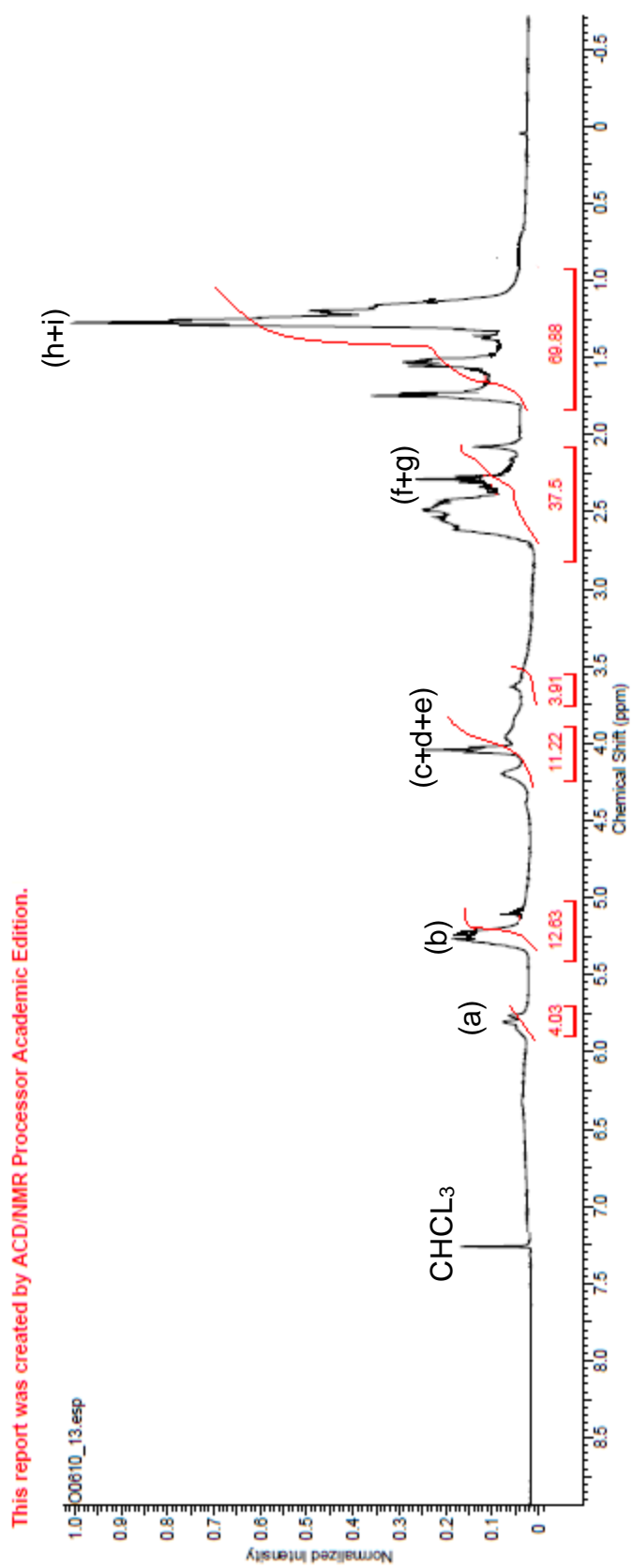
Analisando o RMN-<sup>13</sup>C do sorbitol no trabalho de AKOH e SWANSON (1989), foram observados deslocamentos dos carbonos em 61,3-61,8 ppm e em 75,2-78,8 ppm. A diferença no deslocamento quando comparado com da Figura 42, pode ser uma evidência da copolimerização, pois conforme o trabalho de Liu e colaboradores (2011) o espectro do sorbitol individualmente, apresentava carbonos com picos entre 74,8 e 63,6 ppm, sendo esses valores indicativos dos carbonos ligados as hidroxilas.

No espectro observa-se também que o  $\beta$ -BL foi consumido ocorrendo a polimerização, pois no trabalho de Mendes (2009) picos característicos do ( $\pm$ )-P(3-HB) foram identificados em 19 (CH<sub>3</sub>), 41 (CH<sub>2</sub>), 67 (CH) e 169 (C=O) ppm, sendo semelhantes aos encontrados no trabalho de Saito e colaboradores (2001).

Figura 43: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-*b*(±)-P(3-HB)<sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN-<sup>1</sup>H

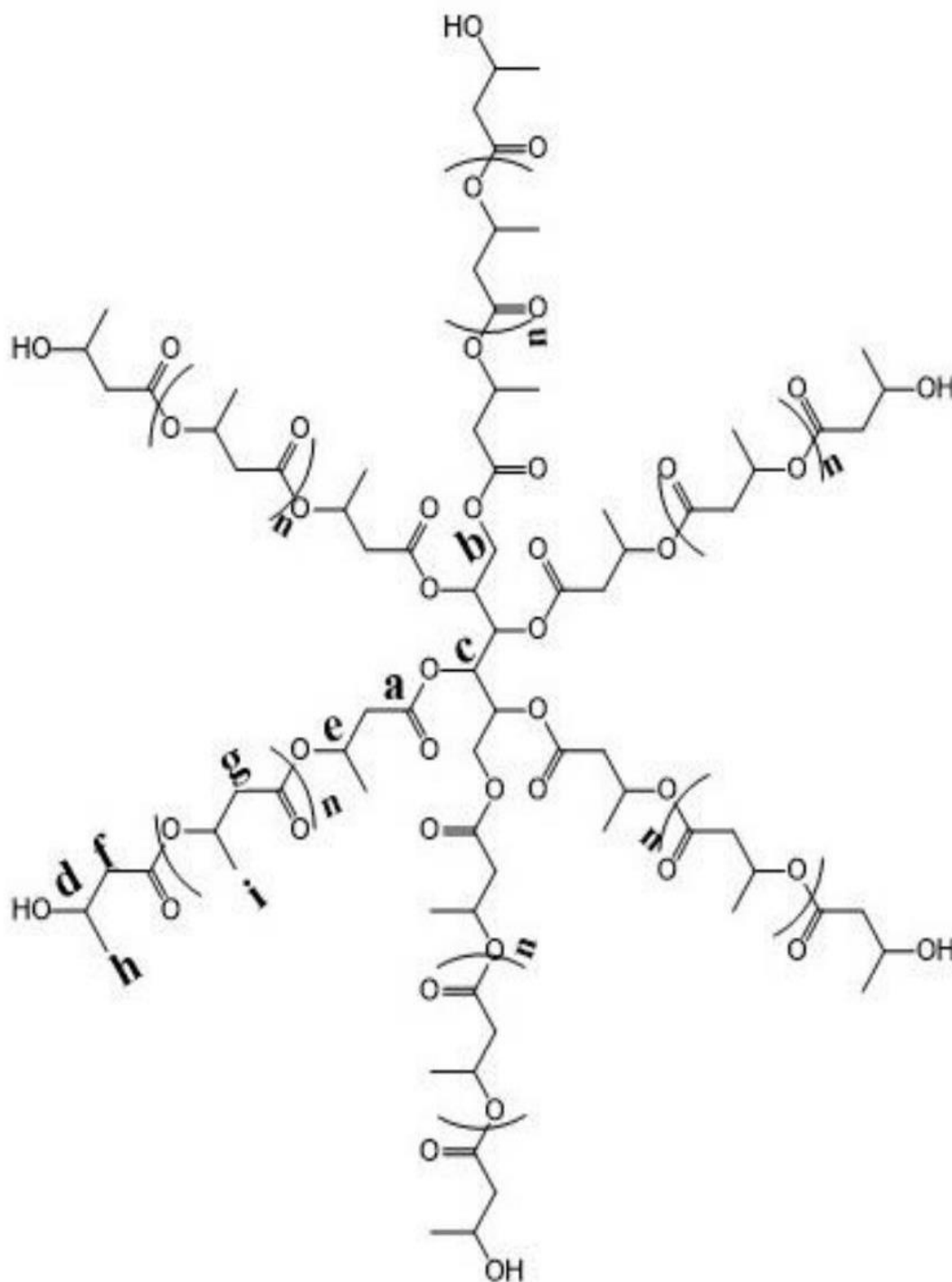


Fonte: Resultado da pesquisa.

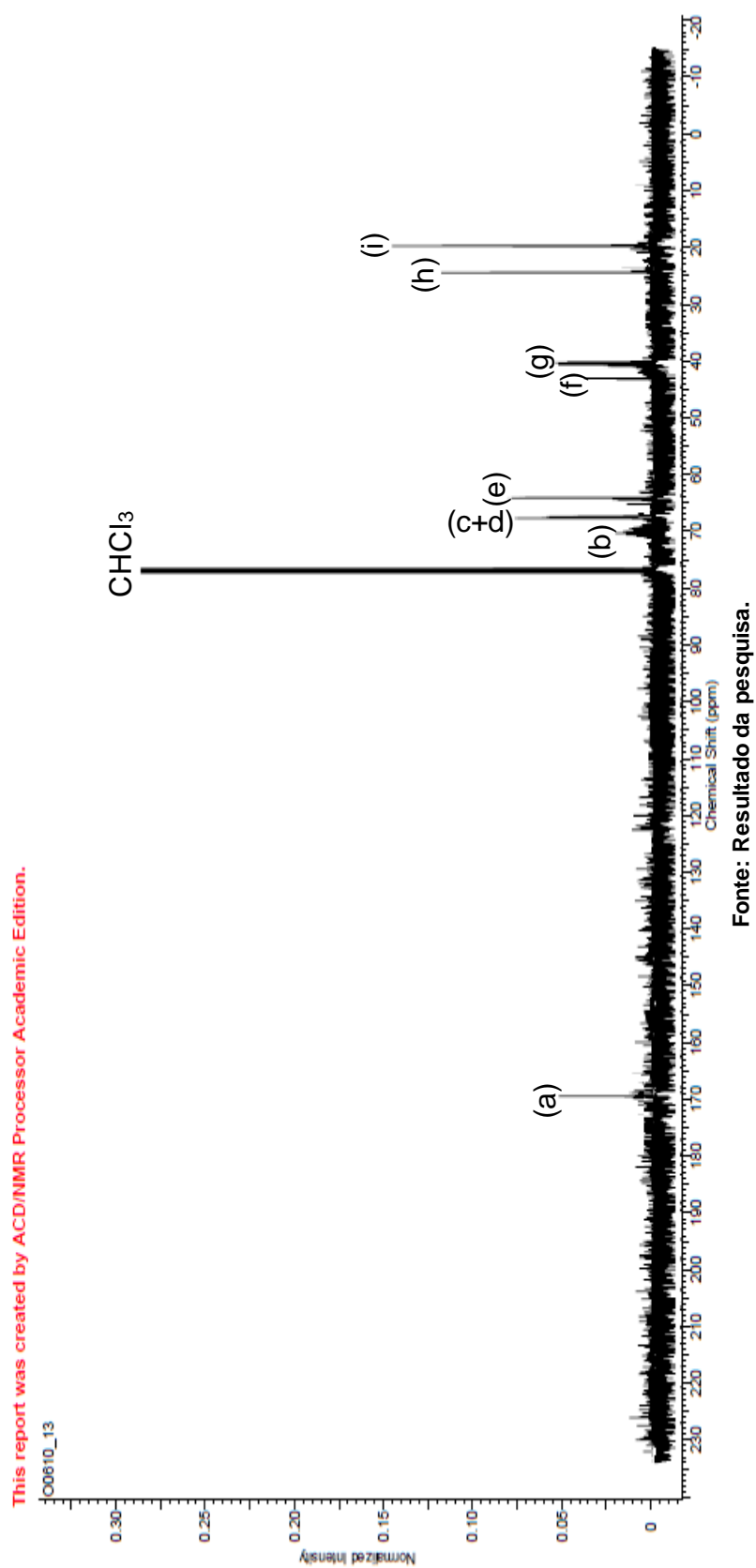
Figura 44: Espectro de RMN-<sup>1</sup>H do copolímero estrela sorbitol-*b*(±)-P(3-HB)<sub>6</sub>

Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 45: Estrutura do copolímero estrela sorbitol-*b*(±)-P(-3-HB)<sub>6</sub> obtida pelo espectro de RMN-<sup>13</sup>C



Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 46: Espectro de RMN-<sup>13</sup>C do copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub>

## 4.2 Caracterização das Micelas copoliméricas

### 4.2.1 Tamanho

#### 4.2.1.1 Tamanho das micelas copoliméricas não carregadas

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 15, tanto as micelas copoliméricas sem tensoativos como as contendo apresentaram tamanhos de diâmetros inferiores a 1000 nm. Resultados satisfatório para uso administração parenteral, visto que, segundo a Associação Nacional do Farmacêuticos Magistrais, o tamanho deve ser estabelecido entre 0,1 a 1000 nm (BETINA et al., 2011). A presença de partículas submétricas aumenta o risco de embolia, como também interfere na estabilidade do sistema e na degradação do fármaco (CONSTANTINIDES, 2004).

Na Tabela 15 as micelas copoliméricas propriamente ditas foram identificadas na amostra sem tensoativo (1), as amostras (5) e (8) com Tween 80 e as (3) e (9) com SDS, pois, de acordo com Bawarski e colaboradores (2008), a definição do tamanho das micelas poliméricas deve variar entre 10 a 200 nm. Portanto, as outras amostras que apresentaram tamanho superiores são classificadas como nanopartículas podendo ser aglomerados de micelas, que mesmo com os valores acima de 200 nm permanecem dentro dos limites para administração parenteral.

No trabalho de Chen e colaboradores (2006), a preparação das micelas copoliméricas (PCL-*b*-PEG-*b*-PCL) sem a presença de tensoativos demonstrou tamanhos de diâmetros variando entre 20 a 140 nm, enquanto, no trabalho de Chaturvedi e colaboradores (2013), a preparação das micelas copoliméricas (( $\pm$ )-P(3-HB)-PEG com a adição do tensoativo Tween 80 (tensoativo não-iônico) demonstrou diminuição no tamanho das partículas, sendo relatadas tamanhos inferiores a 50 nm.

Do mesmo modo sucedeu com micelas copoliméricas tribloco contendo os blocos ( $\pm$ )-P(3-HB) e PEG, essas mostraram que 99% das partículas apresentavam tamanhos de diâmetros inferiores a 200 nm. A diminuição pode ser justificada porque Tween 80 interfere nas cargas das micelas, já que o ( $\pm$ )-P(3-HB) juntamente com o PEG, tornam as micelas mais polares (CARLOTA, et al., 2005). O que ao analisar as amostras (4) e (7) com os mesmos blocos poliméricos e sem o tensoativo, os resultados foram micelas com tamanhos superiores a 200 nm, o mesmo verificado

para as micelas formadas por copolímeros estrelas (11) e (14), embora, no trabalho de Cristobal e colaboradores (2012), o copolímero estrela PCL com sorbitol apresentou micelas com tamanhos inferiores a 200 nm com o uso do Tween 80. Yong e colaboradores (2004) descrevem que a adição de um agente tensoativos pode ter um efeito significativo na estrutura micelar.

Para as amostras que tiveram a adição do tensoativo iônico SDS houve uma discreta redução no percentual nas amostras (3) e (9) em relação as micelas sem tensoativos, enquanto nas amostras (12) e (15) ocorreram redução mais significativas. No trabalho de Burke e Eisenberg (2001), a adição do tensoativo do SDS promoveu aumento no diâmetro das micelas de poliestireno-*b*-poli (ácido acrílico), que passaram de 50 nm para dimensões superiores. Segundo os autores, a introdução do SDS na preparação induziu alterações morfológica nas micelas copoliméricas, o que ratifica os dados relatados.

**Tabela 15: Tamanho das micelas copoliméricas não carregadas preparada sem e com tensoativos**

Micelas copoliméricas sem e com tensoativos	(%)		
	Tamanho De 10-199 (d.nm)	Tamanho De 200-500 (d.nm)	Tamanho de 501-999 (d.nm)
(1) PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL	100,0	0,0	0,0
(2) PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL/Tween 80	0,0	59,2	24,4
(3) PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL/SDS	96,5	3,5	0,0
(4) (±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB)	0,0	47,4	52,6
(5) (±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB)/Tween 80	99,1	0,9	0,0
(6) (±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB)/SDS	29,3	70,7	0,0
(7) (P(CL-co-(±)-3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -P(CL-co-(±)-(3-HB)))	0,0	65,1	34,9
(8) (P(CL-co-(±)-3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -P(CL-co-(±)-(3-HB)))/Tween80	99,0	1,0	0,0
(9) (P(CL-co-(±)-3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -P(CL-co-(±)-(3-HB)))/SDS	96,9	3,1	0,0
(10) sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub>	57,1	40,5	2,4
(11) sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /Tween 80	0,0	5,1	94,9
(12) sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub> /SDS	7,4	92,6	0,0
(13) sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub>	62,3	35,9	1,8
(14) sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> /Tween 80	0,0	10,8	89,2
(15) sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub> /SDS	10,6	89,0	0,4

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### **4.2.1.2 Tamanho das micelas copolimérica sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> carregadas com fármacos**

Foram analisados os tamanhos das micelas copoliméricas carregadas com fármacos. As análises foram realizadas com micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/sds, pois, de acordo com a estabilidade, na seção 4.2.2.1, foi uma das que apresentaram melhores resultados. Conforme a Tabela 16 as micelas carregadas demonstraram mais de 50% de partículas com diâmetro inferior a 200 nm, com exceção para a que continha propranolol. Entretanto quando foram radioesterilizadas todas apresentaram mais de 50% de micelas inferiores a 200 nm, principalmente em destaque para as amostras contendo os anti-inflamatórios e anti-hipertensivos que tiveram mais de 90%.

No trabalho de Zhang e colaboradores (2012), as micelas copoliméricas (poli (etileno glicol)-*b*-poli (n-butil-metacrilato)) contendo ibuprofeno apresentaram diâmetro de 36 nm. No de Parmar e colaboradores (2013) as micelas (poli (óxido de etileno)-*b*-poli(óxido de propileno)-*b*-poli(óxido de etileno) carregadas com nimesulida os tamanhos detectados foram em torno de 25 nm. Para o paracetamol encapsulado por micelas (poli (2-acriloilamido-2-metilpropanosulfônico ácido)-*b*-estireno)) Luo e colaboradores (2016) evidenciaram partículas com diâmetro médio de 180 nm. Youme colaboradores (2012) em seu trabalho relataram micelas de PCL-*b*-PEG/Poli(ácido lático-co-ácido glicólico) contendo furosemida, com tamanhos entre 115 a 190 nm. Entretanto Ahmed (2016) trabalhando com nanopartículas de polivilpirrolidona carregada por finasterida descreveu que o tamanho foi superior a 200 nm. Não foi relatado dados para nanopartículas contendo propranolol.

Essa introdução do fármaco nas micelas influenciou no tamanho, visto que ao comparar com as micelas não carregada (Tabela 15) da mesma matriz polimérica, observou-se que apenas 7% das partículas tinham diâmetros abaixo de 200 nm. Segundo Schaffazick e colaboradores (2003), a presença do fármaco no meio pode alterar ou não o diâmetro médio das partículas, uma vez que esse, assim como o tipo de tensoativo empregado, podem interferir ou não na deposição das cadeias poliméricas. No trabalho Youm e Youan (2013), os autores relataram que a medida que aumentavam a concentração do fármaco furosemida, aumenta consecutivamente o diâmetro das micelas (PCL-*b*-PEG/Poli(ácido lático-co-ácido glicólico)), o que confirma a influência do fármaco.



Em relação as micelas que foram radioesterilizadas (Tabela 16) por radiação gama foi observado que houve um aumento no percentual de partículas inferiores a 200 nm, sobretudo para as micelas com propranolol. Podendo ser justificado para as que contem propranolol, que essa diferença de percentual estaria ligada a modificação da estrutura, sendo evidente a formação de subprodutos, conforme o cromatograma (Figura 49). No trabalho de Abuhanoglu e Özer (2014), os autores descreveram que as microesferas de PLGA contendo naproxeno e diclofenaco de sódio (anti-inflamatórios) apresentaram diferença significativas de tamanhos nas partículas pré e pós radiação, sendo atribuída as propriedades dos fármacos e do polímero.

Os autores também relataram que no estudo em que polímeros biodegradáveis e de origem natural encapsulavam levonorgestrel (contraceptivo) a influência da radiação gama, dose 25 kGy era importante para otimizar o tamanho das partículas.

**Tabela 16: Tamanho das micelas copolimérica sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos, não e radioesterilizadas a 25kGy**

Fármacos	(%)					
	Tamanho de 10-199 (d.nm)		Tamanho de 200-500 (d.nm)		Tamanho de 501-999 (d.nm)	
	0 kGy	25 kGy	0 kGy	25 kGy	0 kGy	25 kGy
Finasterida	69,2	77,7	30,3	22,2	0,5	0,1
Paracetamol	76,2	67,9	23,6	32,1	0,2	0,0
Nimesulida	68,0	99,8	32,1	0,1	01	0,1
Ibuprofeno	67,9	97,4	32,0	2,5	0,1	0,1
Furosemida	97,7	96,0	1,7	4,0	0,6	0,0
Propranolol	0,0	93,2	68,1	6,7	31,9	0,1

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.2.2 Estabilidade

##### 4.2.2.1 Estabilidade das micelas copoliméricas não carregadas

As micelas copoliméricas apresentaram maior estabilidade quando o tensoativo SDS estava presente no meio micelar, contudo a presença do Tween 80

diminuiu a estabilidade ao comparar com as amostras sem tensoativos (Tabela 17). Legrand e colaboradores (1999) relatam que os poloxamers (tensoativos não-iônicos), como Tween 80, tendem a reduzir o valor absoluto deste parâmetro.

De acordo com a Tabela, os copolímeros estrela foram que demonstraram maior estabilidade, pois os potenciais foram os maiores em módulo. Schaffazick e colaboradores (2003) citam que em módulo o valor do potencial zeta relativamente alto é importante para uma boa estabilidade físico-química da suspensão coloidal, pois grandes forças repulsivas tendem a evitar a agregação em função das colisões ocasionais de nanopartículas adjacentes. Yang e colaboradores (2013) relatam também que o carácter altamente carregado das micelas impede sua agregação, prolongar o tempo de circulação sanguínea e aumenta a interação entre micelas e membranas celulares, o que facilitar a rápida penetração através da membrana celular. Danafar (2016) considerou estáveis as micelas copoliméricas (PCL-*b*-PEG-*b*-PCL), cujos potenciais foram em torno de -5 mV.

Os valores negativos atribuídos aos potenciais são devido à presença dos poliésteres nos copolímeros. Legrand e colaboradores (1999) descrevem que especialmente os poliésteres, como o PLA, fornecem um potencial negativo à interface micelar. Zhang e colaboradores (2012) que prepararam micelas copoliméricas (PCL-*b*-PEG-*b*-PCL) detectaram potenciais zeta negativo e menor que 15 mV.

Quaglia e colaboradores (2008) trabalhando com micelas copoliméricas estrelas (PCL-*b*-PEG) relataram potenciais também negativos e com valores entre 15 e 25 mV. No trabalho de Tamboli e colaboradores (2012), as nanopartículas formadas por PLA-*b*-PCL-*b*-PEG-*b*-PCL-*b*-PLA apresentaram potenciais zeta em torno de -30 mV. Esses trabalhos confirmam os resultados de potenciais zeta negativos nas micelas.

**Tabela 17: Potencial zeta das micelas copoliméricas não carregadas preparada sem e com tensoativos**

Micelas copoliméricas	Potencial zeta (– mV)		
	Sem tensoativos	SDS	Tween 80
PCL- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -PCL	13,3 ± 0,2 <sup>a</sup>	16,7 ± 0,4 <sup>f</sup>	11,2 ± 0,1 <sup>a,c,i,j,k</sup>
(±)-P(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -(±)-P(3-HB)	24,2 ± 0,3 <sup>b</sup>	22,3 ± 0,8 <sup>b,g</sup>	5,3 ± 0,2 <sup>j,k,l</sup>
(P(CL- <i>co</i> -(±)-(3-HB)- <i>b</i> -PEG- <i>b</i> -P(CL- <i>co</i> -(±)-(3-HB))))	12,1 ± 0,4 <sup>a,c</sup>	20,2 ± 0,9 <sup>d,g,h</sup>	8,9 ± 0,4 <sup>i,j,k,l,m</sup>
sorbitol- <i>b</i> -(PCL) <sub>6</sub>	19,0 ± 0,7 <sup>d</sup>	26,5 ± 0,9 <sup>b,i</sup>	12,7 ± 0,8 <sup>c,j,k,l,m</sup>
sorbitol- <i>b</i> -((±)-P(3-HB)) <sub>6</sub>	23,1 ± 0,8 <sup>e</sup>	40,9 ± 1,6 <sup>e,j</sup>	16,7 ± 0,6 <sup>d,f,i,j,k,l,m,n</sup>

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,l,m,n São referentes a significância.

Estatisticamente foram realizados testes. Na ANOVA os dados, são apresentados na Tabela 18, em que os números de tratamento, de repetições e de unidades foram iguais a 15, 3 e 45, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi igual a 99,16% e o valor do coeficiente de variação (CV) foi de 5,221%

**Tabela 18: Resultados da ANOVA para o potencial zeta das micelas copoliméricas não carregadas preparada sem e com tensoativos**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	4	3197,3	228,4	252,6
Resíduos	30	27,1	0,9	
Total	44	3224,4		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado médio.

O valor  $F_{calculado}$  (252,6) foi maior do que o valor do  $F_{crítico}$  para o nível de significância de 5% (2,037). O valor da diferença mínima significativa ( $\Delta$ ) foi de 2,86%. Em seguida, o teste de Tukey foi empregado para avaliar quais pares de médias diferiram estatisticamente entre si. O teste revelou que houve diferença significativa entre os valores da estabilidade das micelas copoliméricas não carregadas, conforme significância, visto na Tabela 17.

#### **4.2.2.2 Estabilidade das micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos**

As micelas carregadas com os fármacos apresentaram potencial zeta maior que as micelas de mesma matriz não carregadas, com exceção das micelas contendo o ibuprofeno e o propranolol (Tabela 19). De acordo com Alonso e colaboradores (1991), quando o fármaco era adicionado às nanopartículas, havia alteração no potencial zeta. Os autores sugeriram, então, que acontecia era uma interação eletrostática entre o fármaco e o polímero.

No trabalho de Selmin e colaboradores (2015), o potencial zeta das microesferas de PLGA era reduzido em módulo quando carregadas com a ovoalbumina (proteína). Contudo, no trabalho de Yang e colaboradores (2013), micelas copoliméricas (poli( $\epsilon$ -caprolactona)-*b*-poli(2-(dietilamino)etil metacrilato)-*b*-poli(poli(etileno glicol) metil-éter-metacrilato)) carregadas de doxorubicina (quimioterápico) tiveram o potencial zeta aumentado. Portanto, a alteração no potencial zeta é devido à presença do fármaco.

Ao analisar as micelas irradiadas com 25 kGy, observa-se que a radiação gama promoveu alteração no potencial zeta, sendo uma irrelevante alteração nas micelas carregadas por paracetamol, nimesulida e ibuprofeno. Contudo a radiação aumentou a estabilidade das micelas contendo furosemida, e diminuiu as das micelas carregadas com finasterida e propranolol. Destacando-se que as micelas irradiadas carregadas com esses dois últimos fármacos apresentaram subprodutos, conforme os cromatogramas das Figuras 45 e 50, respectivamente.

No trabalho de Mohammed e colaboradores (2006), os autores analisaram o potencial zeta dos lipossomas pré e pós radiação, com dose de 25 kGy, e descreveram que as discretas variações dos valores do potencial zeta não alteravam as propriedades dos lipossomas.

**Tabela 19: Potencial zeta das micelas copolimérica sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos, não e radioesterilizadas a 25kGy**

Fármacos	Potencial zeta (-mV)	
	0 kGy	25 kGy
Finasterida	39,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	31,4 ± 0,4 <sup>g</sup>
Paracetamol	35,7 ± 0,9 <sup>b</sup>	33,9 ± 0,2 <sup>b,g,h</sup>
Nimesulida	26,2 ± 0,5 <sup>c</sup>	22,1 ± 1,1 <sup>d,i</sup>
Ibuprofeno	21,5 ± 1,4 <sup>d</sup>	25,8 ± 1,2 <sup>c,e,j</sup>
Furosemida	27,1 ± 0,4 <sup>c,e</sup>	41,4 ± 1,0 <sup>a,j,k</sup>
Propranolol	17,7 ± 1,3 <sup>f</sup>	8,8 ± 0,3 <sup>i,k</sup>

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: <sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k</sup> São referentes a significância.

Na ANOVA dos dados estatísticos (Tabela 20) teve como valores os números de tratamento, de repetições e de unidades iguais a 12, 3 e 36, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi igual a 98,94% e o valor do coeficiente de variação (CV) de 4,144%.

**Tabela 20: Resultados da ANOVA para potencial zeta das micelas copolimérica sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos, não e radioesterilizadas a 25kGy**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	11	2915,5	265,0	203,1
Resíduos	24	31,3	1,3	
Total	35	2946,8		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado médio.

O resultado de  $F_{\text{calculado}}$  (203,08) foi bem maior do que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  para o nível de significância de 5% (2,216) e o valor da diferença mínima significativa ( $\Delta$ ) foi de 3,36%. Com isso, o teste de Tukey também foi empregado avaliando os pares de médias que diferiram estatisticamente entre si. Segundo o teste, houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores do potencial zeta das micelas copoliméricas carregadas por fármacos. Entretanto, a micela carregada com paracetamol não demonstrou diferença estatisticamente significativa no potencial zeta pré e pós a radioesterilização, de acordo com a significância (Tabela 19).

#### 4.2.3 Taxa de eficiência do encapsulamento (%EE)

As micelas copoliméricas do sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS apresentaram taxas de eficiência do encapsulamento superior a 85%, ou seja, pequenas quantidades do fármaco não são inseridas nas micelas. As taxas de eficiência foram calculadas conforme a equação 1, na seção 3.2.4.6. De acordo com a Tabela 21, as micelas contendo paracetamol, fármaco altamente hidrofílico, foram as que demonstram menor eficiência, enquanto as micelas carregadas por nimesulida, que é uma droga hidrofóbica, mostraram a maior taxa.

No trabalho de Youm e Youan (2013), que prepararam micelas (PCL-*b*-PEG/Poli (ácido lático-co-ácido glicólico)) carregada com furosemida, os autores relataram que a diminuição da quantidade do fármaco aumentava a taxa de eficiência do encapsulamento, assim como o aumento do bloco hidrofóbico polimérico. Descreveram ainda que uma rápida deposição do PCL-*b*-PEG impedia parcialmente a perda de fármacos pouco solúveis.

Zhang e colaboradores (2012) correlacionaram a alta taxa de eficiência das micelas (poli(etileno glicol)-*b*-Poli(n-butil-metacrilato-co-(N,N-dietilamino) e til-metacrilato)) carregada com Ibuprofeno, com as interações hidrofóbicas ocasionadas entre o fármaco e o polímero. Isto, conferem com os percentuais encontrados para as drogas hidrofóbicas. O propranolol, fármaco hidrofílico também apresentou um alto percentual, o que sugere que concentração da droga tenha auxiliado na eficiência das micelas, visto que, no trabalho de Dandagi e colaboradores (2007), as microesferas que recebiam maior concentração de propranolol apresentavam taxa de eficiência de encapsulamento elevada.

**Tabela 21: Taxa de eficiência do encapsulamento das micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos.**

Fármacos	%EE	Significância
Finasterida	96,9 ± 2,0	a
Paracetamol	89,8 ± 10,3	a
Nimesulida	99,5 ± 0,2	a
Ibuprofeno	97,8 ± 1,1	a
Furosemida	98,2 ± 0,6	a
Propranolol	96,7 ± 1,6	a

Fonte: Resultado da pesquisa.

Segundo dados estatístico, na ANOVA os valores apresentados na Tabela 22 foram iguais a 6, 3 e 18, representando os números de tratamento, de repetições e de unidades, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) encontrado foi igual a 30,75% e o do coeficiente de variação (CV) foi de 5,972%.

**Tabela 22: Resultados da ANOVA para taxa de eficiência do encapsulamento das micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS carregadas com fármacos.**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	5	176,92	35,38	1,7
Resíduos	12	398,45	33,2038	
Total	17	575,36		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado médio.

O valor de  $F_{\text{calculado}}$  (1,07) foi menor do que o valor do  $F_{\text{crítico}}$ , para o nível de significância de 5% (3,11), e o valor da diferença mínima significativa ( $\Delta$ ) foi de 15,80%. A partir desses dados, foi empregado o teste de Tukey para avaliar quais pares de médias diferiram estatisticamente entre si. O teste de Tukey não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os valores da taxa de eficiência do encapsulamento das micelas carregadas com fármacos, visto pelo resultado da significância (Tabela 21).

#### 4.2.4 Taxa de liberação *in vitro*

No período de 30 dias a liberação micelar (Figura 47) foi superior a 50% para micelas carregadas com finasterida, paracetamol, nimesulida, ibuprofeno e propranolol. No primeiro dia mais de 25% dessas drogas foram liberadas. Para o fármaco anti-hipertensivo furosemida, a liberação inicial foi lenta. Observou-se que tanto as micelas com furosemida como as com o propranolol, após 30 dias continuaram a ser liberadas com quantidades relevantes.

A liberação de fármaco a partir das nanopartículas é um processo complexo, dependente dos constituintes, arquiteturas dos copolímeros, erosão superficial e difusão. Além da degradação e propriedades físico-químicas das drogas (TAO et al., 2013). Tao e colaboradores (2013) observaram que no período de 15 dias as nanopartículas (Manitol-*b*-(poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo)-*b*-(poli(etileno glicol)-D- $\alpha$ -

tocoferol succinato))<sup>6)</sup> liberava mais rápido o docetaxel (quimioterápico), do que as nanopartículas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico). Indicando que os copolímeros em forma de estrela usado para a nanoformulação tem uma taxa de liberação de fármaco mais rápida, do que os copolímeros lineares com mesmo peso molecular, isto, por causa dos tamanhos dos braços.

Em relação aos copolímeros lineares Youm e Youan (2013) atribuíram a liberação da furosemida das nanopartículas a proporção dos blocos poliméricos (PCL-*b*-PEG), pois níveis baixos do poliéster aceleravam a liberação da droga. O perfil foi caracterizado por uma pequena aceleração, seguida por período de liberação lenta. O que fez concluir que a primeira etapa de liberação estava também relacionada a carga elevada do fármaco na micela. No trabalho de Santos e colaboradores (2013), a liberação da finasterida não foi alterada por outros fatores, mas foi influenciada pela carga da droga, que nos primeiros 60 minutos a liberação foi lenta.

Para os fármacos que alteram sua forma, como ibuprofeno e a nimesulida, conforme o meio em que estão inseridos, a liberação também é influenciada. De acordo com Zhang e colaboradores (2012), a liberação elevada do ibuprofeno das micelas ocorria porque em pH neutros (7,4 a 6,7) o ibuprofeno foi desprotonado assumiu a forma aniônica carboxilato, o que elevou a solubilidade. Parmar e colaboradores (2013) também observaram que em pH acima de 6 a nimesulida estava na forma iônica, e esta ionização aumenta conforme elevava-se o pH, o que tornava a nimesulida hidrofílica principalmente na região PEO da micela. Portanto, a forma ionizável dos fármacos facilita a liberação das micelas. O mesmo ocorrendo com fármacos hidrofílicos, como o paracetamol e propranolol.

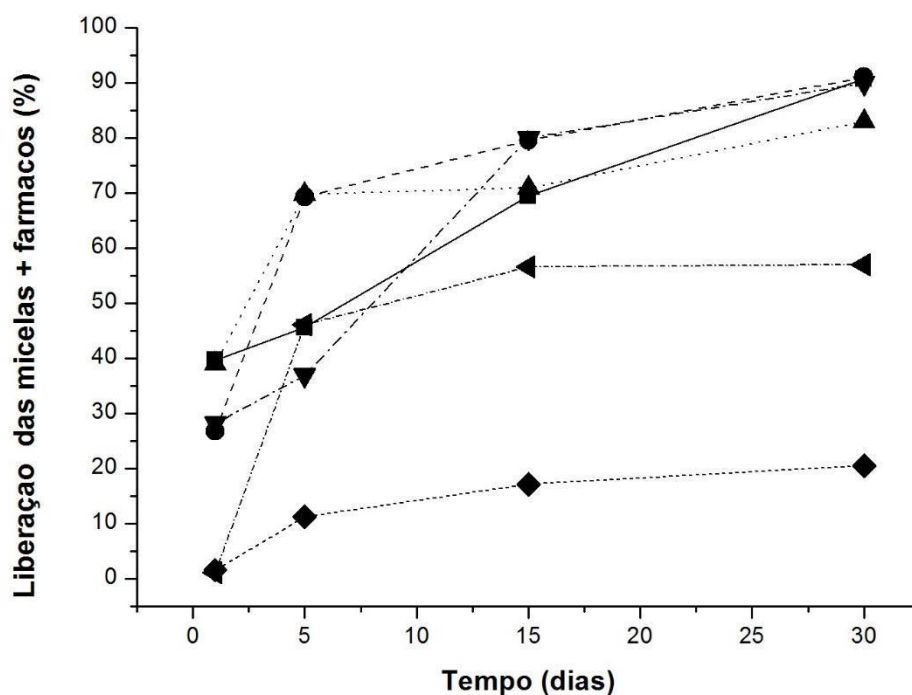
Conseqüentemente ao perfil de liberação *in vitro* dos fármacos, doses diárias foram estabelecidas. De acordo com a Tabela 23, as doses diárias nos cinco primeiros dias foram mais elevadas, tendo o decaimento após o sexto dia. Entretanto, no perfil da taxa de dose da nimesulida, foi observado uma queda entre o sexto e o décimo dia, sendo posteriormente aumentada.

As taxas de dose diária dos fármacos nas micelas, foram inferiores aos das formas convencionais, sendo determinado para os pacientes dose de 1 a 5 mg/dia de finasterida, 500 a 2000 mg/dia de paracetamol, 50 a 200 mg/dia de nimesulida, 200 a 800 mg/dia de ibuprofeno, 20 a 40 mg/dia de furosemida e 80 a 320 mg/dia de propranolol. Contudo, as doses apresentadas na Tabela 23, foram utilizadas a nível



de pesquisa, e tem perspectivas futuras para uso *in vivo* do dispositivo micelar, logo com doses que serão ajustadas para que não sejam classificadas como subdoses, vindo a não produzir efeitos esperados nos pacientes (RANG, DALE, 2004).

**Figura 47: Taxa de liberação *in vitro* das micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/sds carregadas com fármacos (finasterida ■, paracetamol ●, nimesulida ▲, ibuprofeno ▼, furosemida ◆, propranolol ◄).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 23: Dose diária estabelecidas das micelas carregadas com fármacos.**

Fármacos	Dose diária (mg/dia)		
	1 - 5 dias	5 - 15 dias	15 - 30 dias
Finasterida	0,46	0,12	0,07
Paracetamol	0,70	0,05	0,04
Nimesulida	0,30	0,005	0,04
Ibuprofeno	0,37	0,22	0,03
Furosemida	0,11	0,03	0,01
Propranolol	0,46	0,05	0,001

Fonte: Resultado da pesquisa.

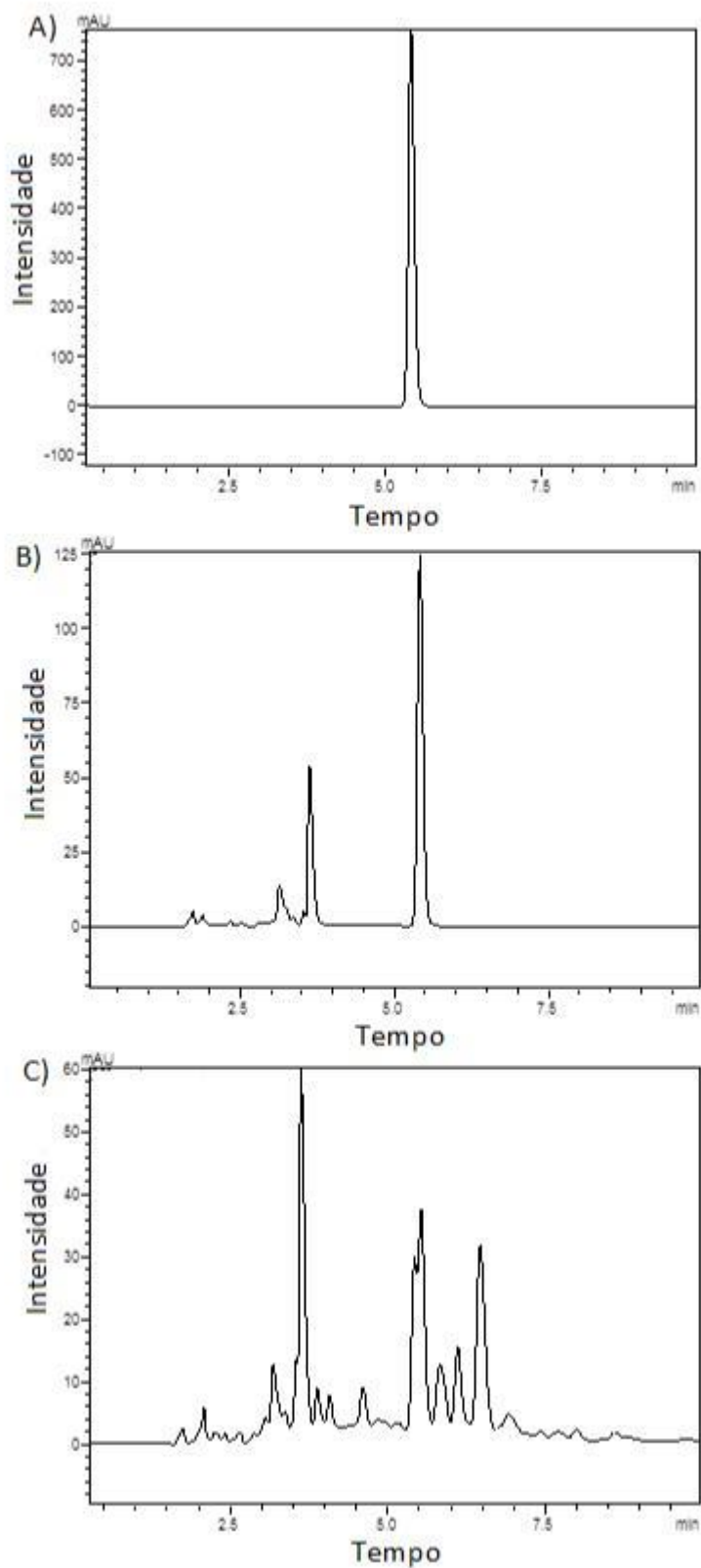
#### *4.2.5 Efeito da irradiação gama na radioesterilização, detectado por CLAE nas micelas copoliméricas carregadas com fármacos*

A radioesterilização por radiação gama com dose de 25 kGy foi aplicada para reduzir a possível carga microbiana nas micelas, entretanto a dose utilizada promoveu a presença de subprodutos em determinadas micelas carregadas. Nos cromatogramas das micelas copoliméricas carregadas com paracetamol, ibuprofeno, nimesulida e furosemida, não houve evidência de subprodutos após a radioesterilização (Figuras 48 a 53). Katugin-Razem e colaboradores (2005) observaram após a radioesterilização do cetoprofeno (anti-inflamatório), que a dose de 25 kGy não provoca mudança na estrutura da droga, todavia dose mais elevadas promovia formação de produtos radiolíticos.

Entre a micelas que apresentaram subprodutos, observou-se no cromatograma das micelas irradiadas contendo a finasterida (Figura 48) quatro picos com intensidades menores, quando comparada com as micelas não irradiadas. Já em relação ao cromatograma da micela irradiada com o propranolol (Figura 53) foram identificados outros dois picos diferentes do encontrado no padrão. Além disso, o pico referente ao propranolol foi apresentado com a intensidade menor. Engalytcheff e colaboradores (2004) relataram que a radioesterilização com doses de 30 kGy em oitos  $\beta$ -bloqueadores, incluindo o propranolol, resultou na presença de produtos radiolíticos e picos de intensidade reduzidas.

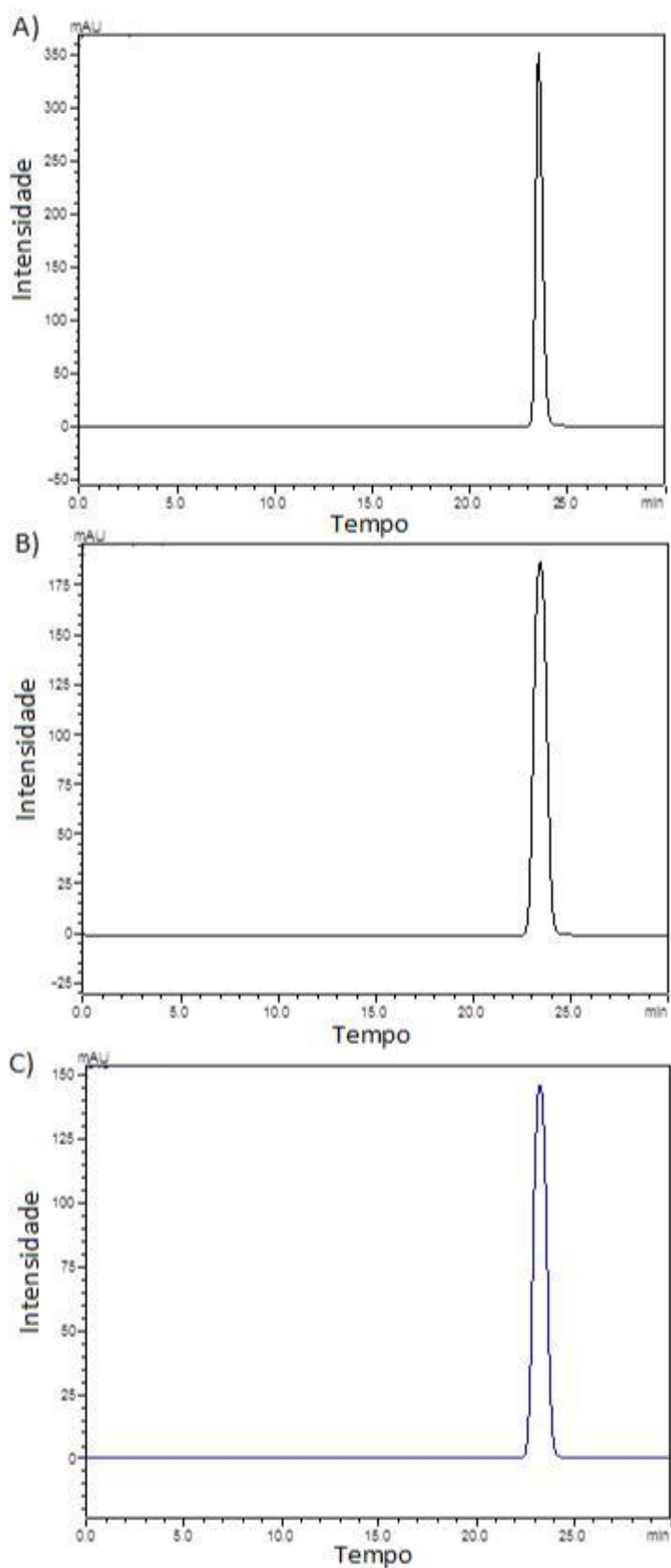
Portanto, os picos não determinados ou de diferentes intensidades em amostras radioesterilizadas, quando comparados com os cromatogramas padrões, são considerados produtos radiolíticos provenientes das quebras das ligações químicas dos fármacos, via radiação gama (RAZEM, KATUSIN-RAZEM, 2008).

Figura 48: Cromatograma por CLAE da finasterida. A) fármaco padrão, B) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ finasterida não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ finasterida irradiada 25 kGy.



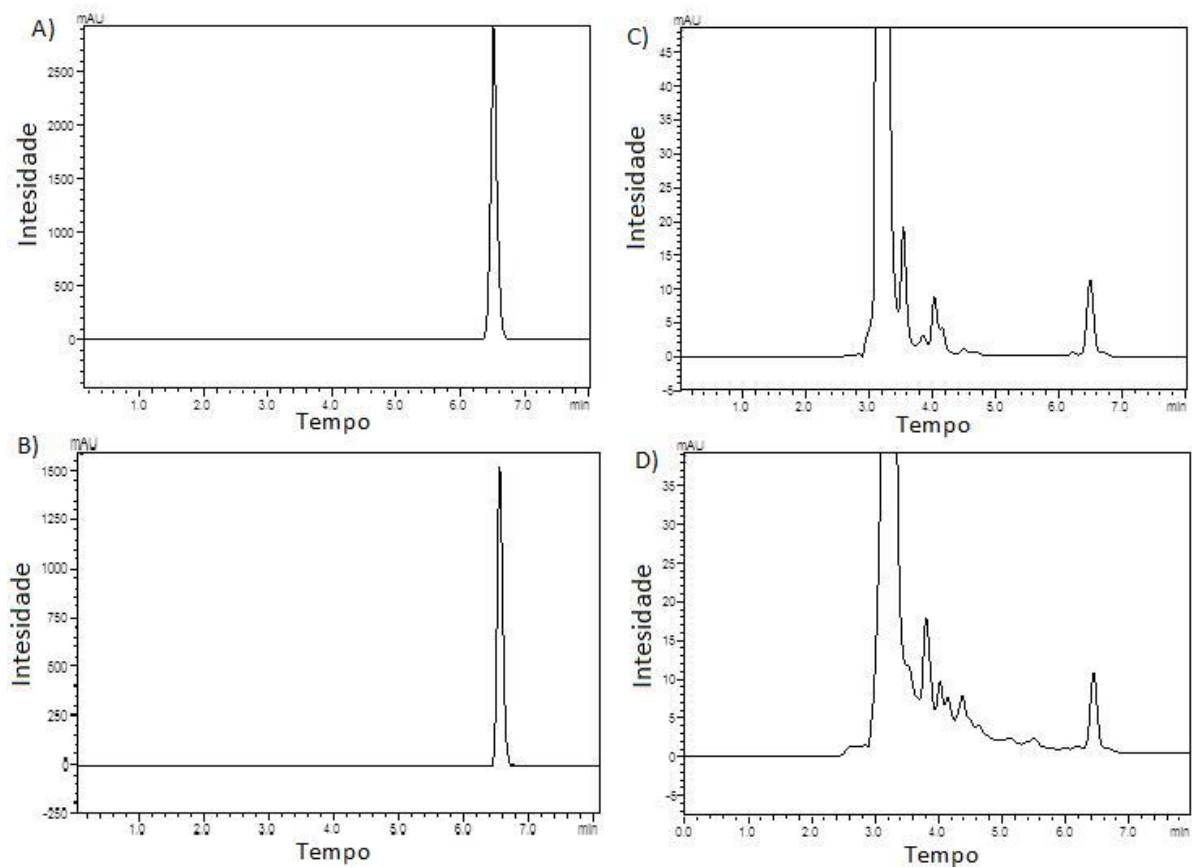
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 49: Cromatograma por CLAE do paracetamol. A) fármaco padrão, B) micelas copolímeras sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ paracetamol não irradiada, C) micelas copolímeras sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ paracetamol irradiada 25 kGy.



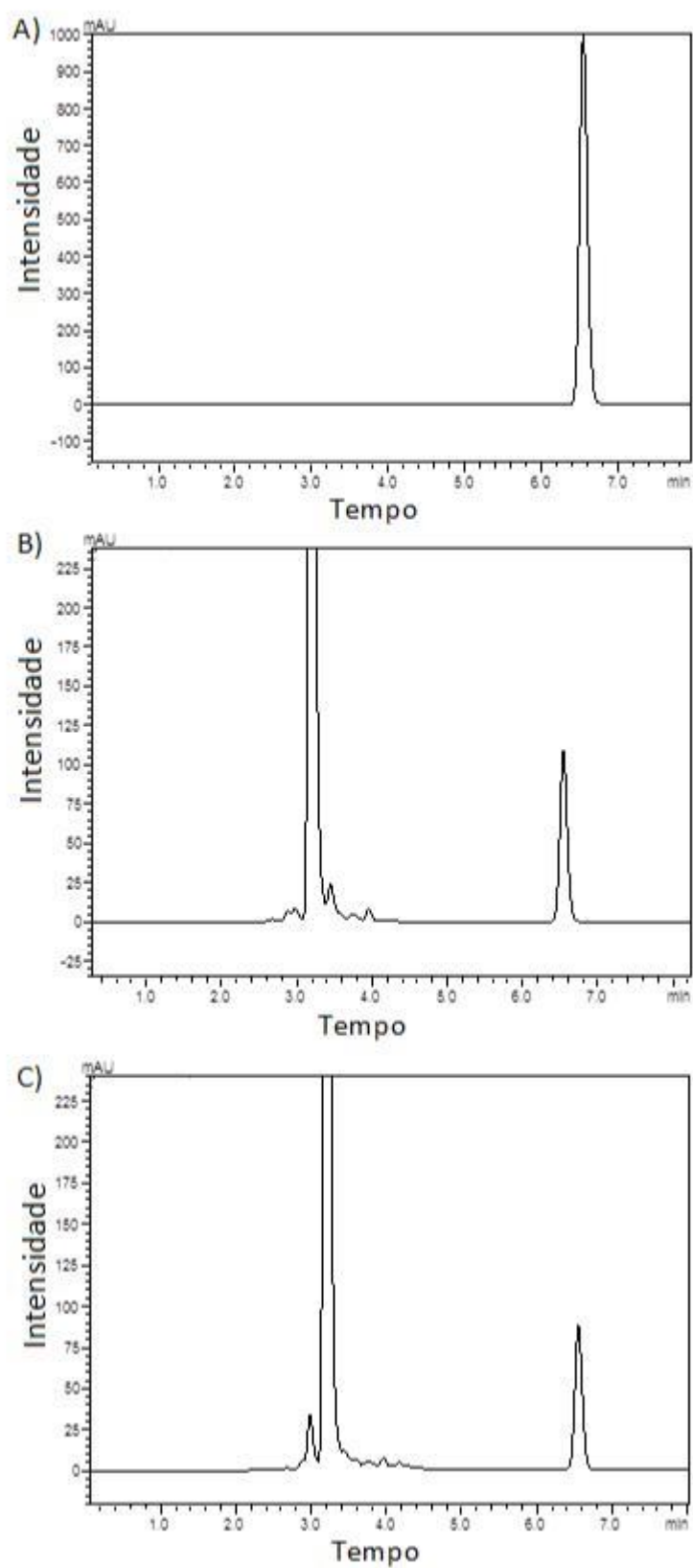
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 50: Cromatograma por CLAE da nimesulida. A) fármaco padrão, B) fármaco irradiado a 25 kGy, C) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ nimesulida não irradiada, D) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ nimesulida irradiada 25 kGy.**



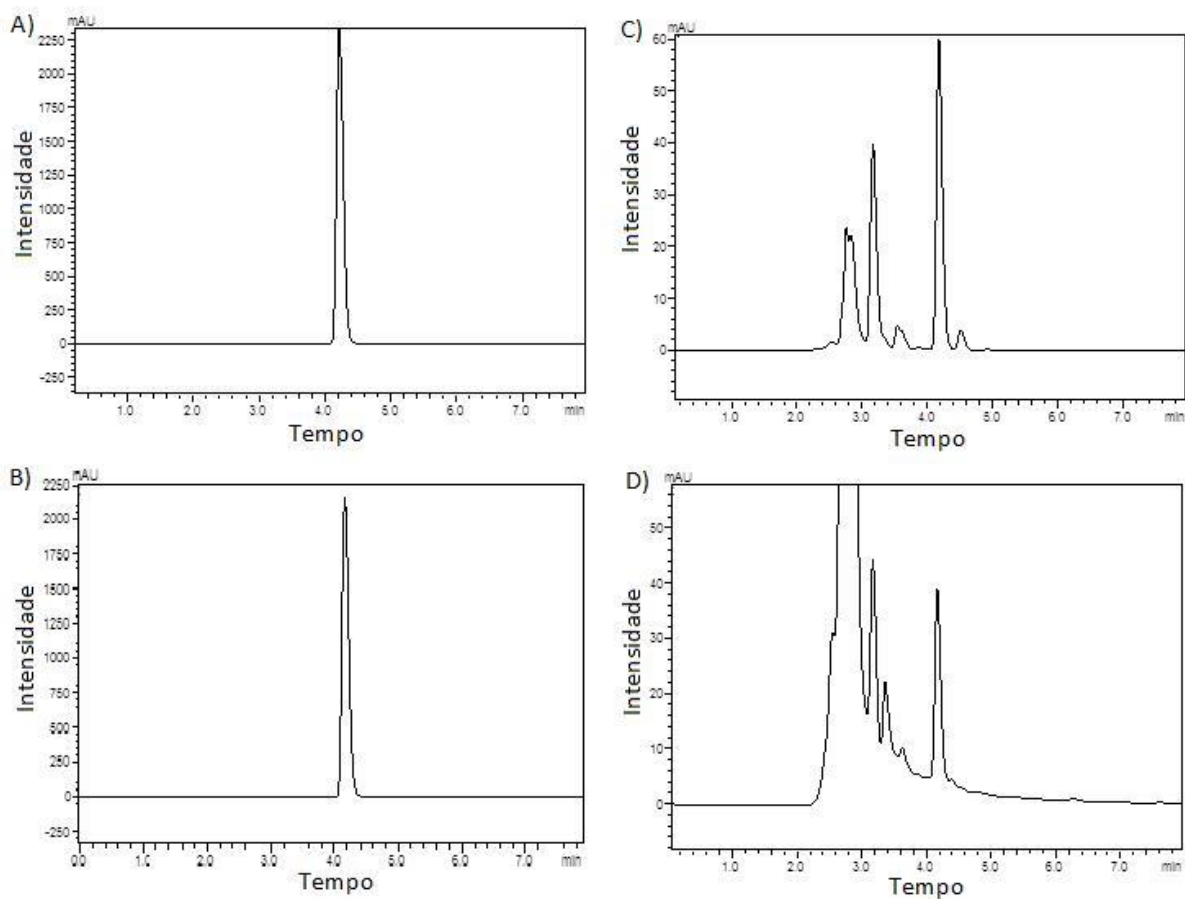
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 51: Cromatograma por CLAE do ibuprofeno. A) fármaco padrão, B) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ ibuprofeno não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ ibuprofeno irradiada 25 kGy.



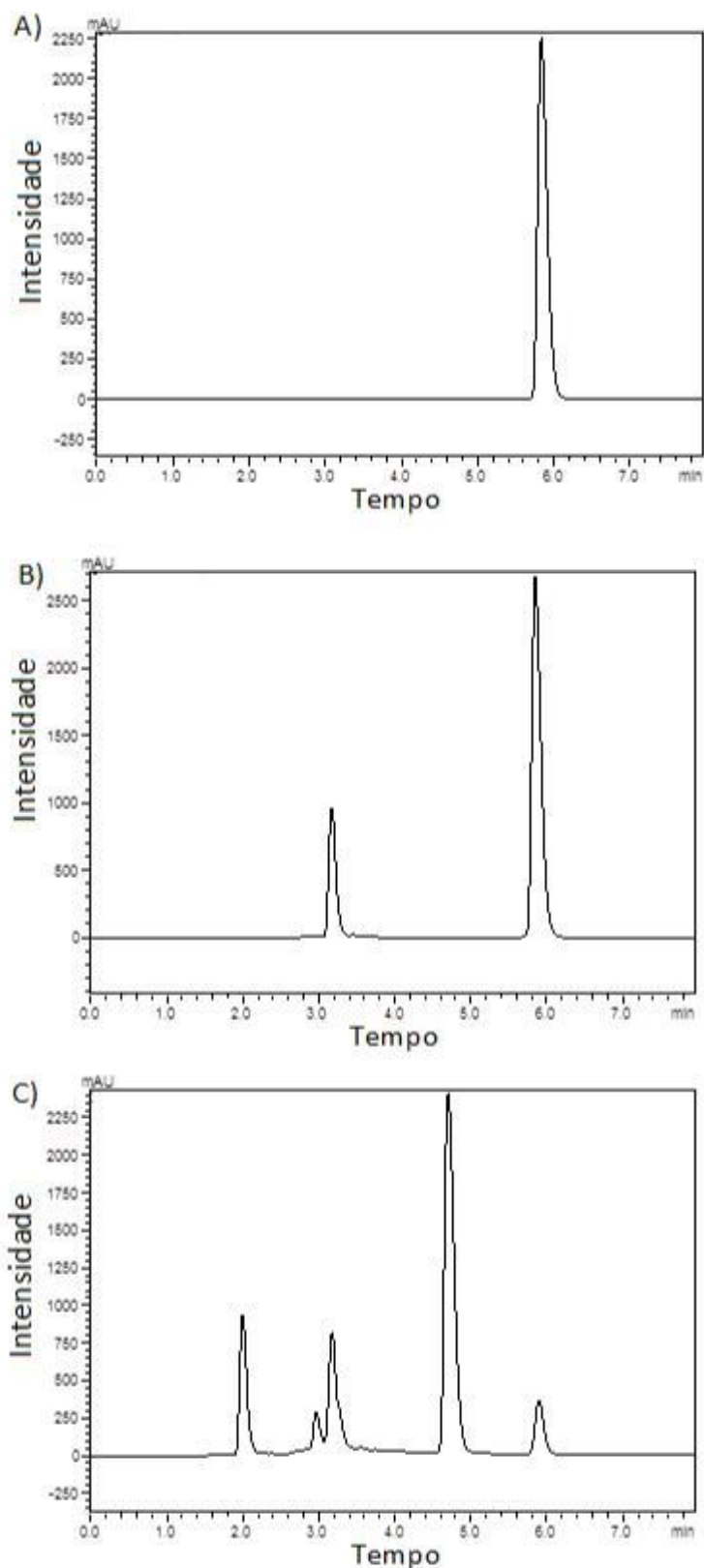
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 52: Cromatograma por CLAE da furosemida. A) fármaco padrão, B) fármaco irradiado a 25 kGy, C) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ furosemida não irradiada, D) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ furosemida irradiada 25 kGy.**



Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 53: Cromatograma por CLAE do propranolol. A) fármaco padrão, B) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ propranolol não irradiada, C) micelas copoliméricas sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>/SDS+ propranolol irradiada 25 kGy.



Fonte: Resultado da pesquisa.



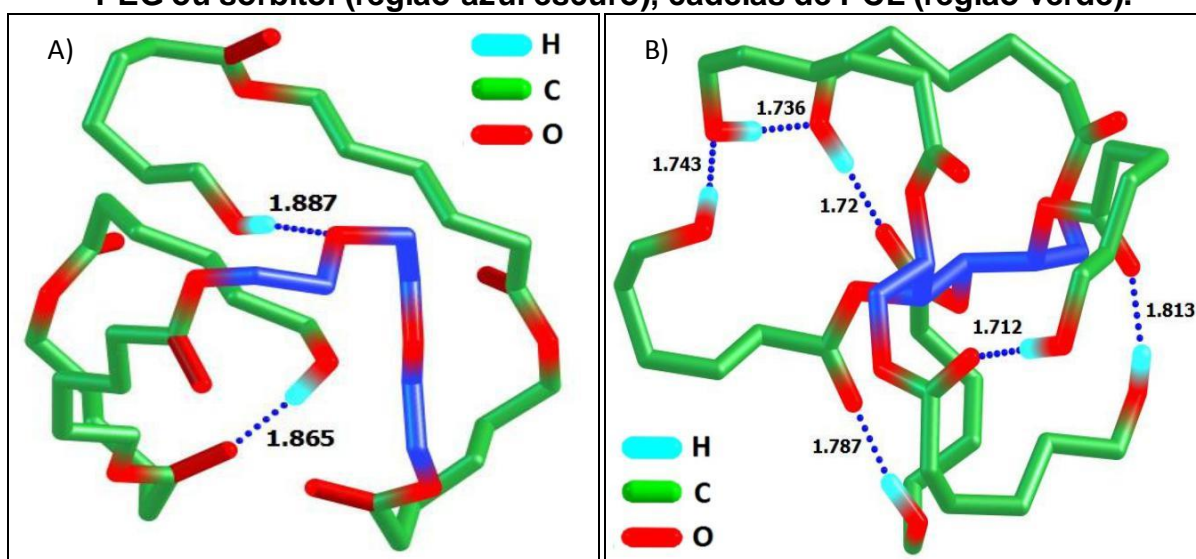
## 4.2.6 Modelagem computacional

### 4.2.6.1 Modelagem computacional dos copolímeros

Conforme os dados calculados pelo modelo computacional, a energia fundamental das conformações mais estáveis dos copolímeros, representados na Figura 54, foi menor para o copolímero estrela sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>, com energia de – 202.9080 kJ.mol<sup>-1</sup>. O copolímero linear apresentou a energia fundamental igual a – 70,7192 kJ.mol<sup>-1</sup>. O comprimento da ligação de hidrogênio (distâncias em Å) foi menor para o sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>, indicando que a interação da ligação de hidrogênio desse copolímero, mais forte, corrobora para maior estabilidade (SILVA, 2006).

As seis ligações de hidrogênio intramoleculares encontradas no sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>, em comparação com duas ligações de hidrogênio do PCL-*b*-PEG-*b*-PCL, também indicam a estabilidade do copolímero estrela. Estas ligações de hidrogênio para PCL-*b*-PEG-*b*-PCL foram formadas entre os átomos de hidrogênio do grupo hidroxila terminal da cadeia PCL e os átomos de oxigênio da molécula de PEG e do grupo carbonila da cadeia PCL. Enquanto para o copolímero sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> a estabilização pelas ligações de hidrogênio foi formada entre os átomos do hidrogênio e oxigênio dos grupos hidroxilo terminais e átomos de oxigênio do grupo carbonila da cadeia PCL.

**Figura 54: Conformações mais estáveis dos copolímeros. A) copolímero linear PCL-*b*-PEG-*b*-PCL, B) copolímero estrela Sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>. PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.2.6.2 Modelagem computacional dos complexos fármaco-copolímero

Em relação aos complexos fármaco-copolímero, observou-se que a introdução dos fármacos aumentou a energia de estado fundamental dos copolímeros. No entanto, quando as moléculas dos fármacos foram colocadas dentro das proximidades do copolímero, a energia de ligação diminuiu à medida que o fármaco e o copolímero interagiam através de ligações de hidrogênio para formar o complexo estável.

Essa diminuição da energia de ligação refletiu a intensidade das interações droga-copolímero. A intensidade das interações globais entre o fármaco e os copolímeros depende do tipo de átomos doadores e aceitadores, e do número de ligações de hidrogênio formadas. No trabalho de Karavas e colaboradores (2014), a droga fluvastatina (*hipocolesterolêmico*) interagiu com carreadores, atuando como doadora, enquanto a matriz polimérica foi a receptora de hidrogênio.

Na Tabela 24 são descritas as energias de estado fundamental dos complexos, a energia de ligação e o número de ligações de hidrogênio.

**Tabela 24: Energias fundamental ( $E_{fund.}$ ) e a de ligação ( $E_{ligação}$ ) em kJ/mol de diferentes complexos fármaco-polímero e número de ligações de hidrogênio.**

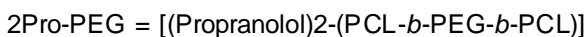
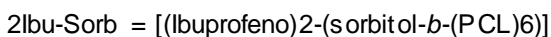
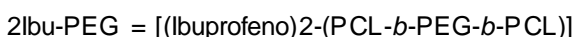
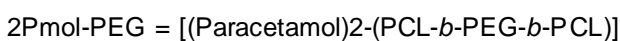
Complexos Droga-copolímero <sup>a</sup>	Ligação de Hidrogênio (a+b+c) <sup>b</sup>	$E_{fund.}$ (complexo) (kJ/mol)	$E_{ligação}$ (kJ/mol)
2Pmol-PEG	3+1+2	-354.05	176.43 (*165.31)
2Pmol-Sorb	5+0+4	-439.11	129.29 (*130.29)
4Pmol-Sorb	8+1+2	-722.95	306.23
2Nim-PEG	1+2+1	-52.83	161.08
1Nim-Sorb	2+0+5	-168.08	54.65
2Nim-Sorb	3+1+4	-170.63	146.68
2Ibu-PEG	1+1+2	-16.78	145.17
2Ibu-Sorb	2+0+6	-144.11	140.32
2Fur-PEG	4+2+2	-745.26	192.74
2Fur-Sorb	5+0+(4+2)	-823.91	139.19
2Pro-PEG	2+0+2	416.14	123.53
2Pro-Sorb	2+0+5	313.11	94.39

Fonte: Resultado da pesquisa.

<sup>b</sup> indica: a = número de ligações de hidrogênio entre a droga e o copolímero, b = número de ligações de hidrogênio entre as moléculas da droga, c = número de ligações de hidrogênio intramolecular.

\* indica a energias de ligação calculados por QQ.

<sup>a</sup> onde:



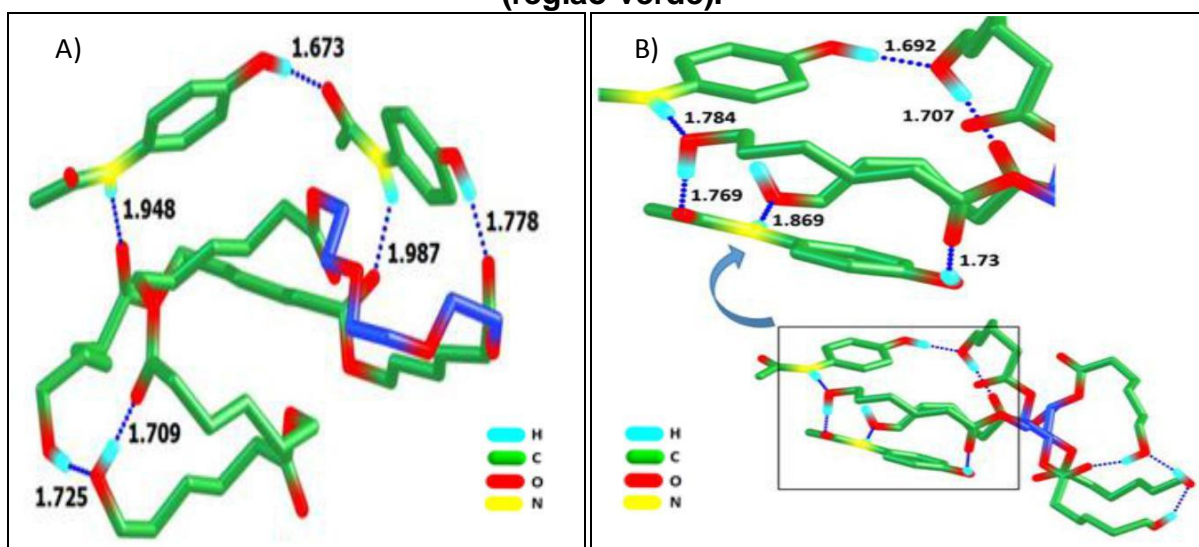
O complexo paracetamol-copolímero foi analisado em três complexos de copolímeros com o paracetamol foram modelados (2Pmol-PEG = 2Pmol-PEG = [(Paracetamol)<sub>2</sub>-(PCL-*b*-PEG-*b*-PCL)], 2Pmol-Sorb = [(Paracetamol)<sub>2</sub>-(sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>)] e 4Pmol-Sorb = [(Paracetamol)<sub>4</sub>-(sorbitol-(PCL)<sub>6</sub>)]. As estruturas conformacionais mais estáveis dos três complexos são apresentadas nas Figuras 55 e 56.

As energias de ligação para os três sistemas, 2Pmol-PEG, 2Pmol-Sorb e 4Pmol-Sorb, foram calculadas como sendo 176,43, 129,29 e 306,23 kJ.mol<sup>-1</sup>, respectivamente. O complexo 2Pmol-PEG é estabilizado por 3 ligações de hidrogênio intermoleculares formadas entre fármaco e o copolímero, uma ligação de hidrogênio entre as moléculas de fármaco e 2 ligações de hidrogênio intramoleculares. Por outro lado, o complexo 2Pmol-Sorb é estabilizado por 5 ligações de hidrogênio formadas entre o fármaco e o polímero e 3 ligações intermoleculares de hidrogênio. É de notar que as ligações de hidrogênio formadas entre o fármaco e o copolímero estabilizam mais os complexos, então as ligações de hidrogênio entre as moléculas do fármaco e as ligações de hidrogênio intramoleculares que contribuem menos.

O complexo 2Pmol-PEG foi estabilizado por três ligações de hidrogênio fortes formadas entre os hidrogênios dos grupos hidroxilas e a aminas do paracetamol e o átomo de oxigênio dos grupos carbonilas (C= O) das cadeias PCL (Figura 55A). De

acordo com Maniruzzaman e colaboradores (2013), moléculas com grupos amins formam ligações de hidrogênios bastante forte, sendo mínimo a probabilidade de ser quebrada. Os autores ainda confirmam que a ligação entre os fármacos e cadeia polimérica acontece entre os oxigênios do grupo carboxila do poliéster.

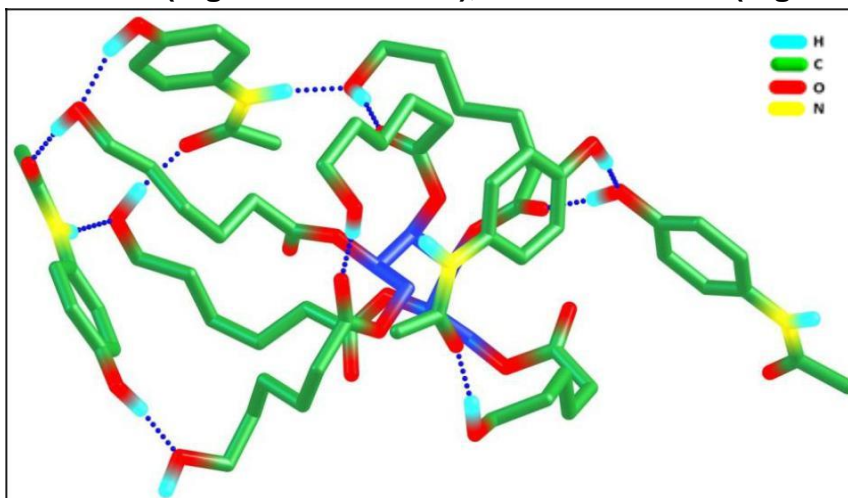
**Figura 55: Conformações mais estáveis do complexo paracetamol. A) 2Pmol-PEG, B) 2Pmol-sorb.O PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

Os complexos 2Pmol-Sorb e 4Pmol-Sorb, com duas e quatro moléculas de paracetamol, são altamente estabilizados pelas cinco e oito ligações de hidrogênios formadas, respectivamente, entre os hidrogênios dos grupos OH e NH do paracetamol e o átomo de oxigênio do grupo (OH<sup>-</sup>) e carbonila (C = O) das cadeias PCL (Figuras 55B e 56). Pode-se inferir que maiores quantidades de ligações de hidrogênio entre o fármaco e o polímero estabilizam o complexo.

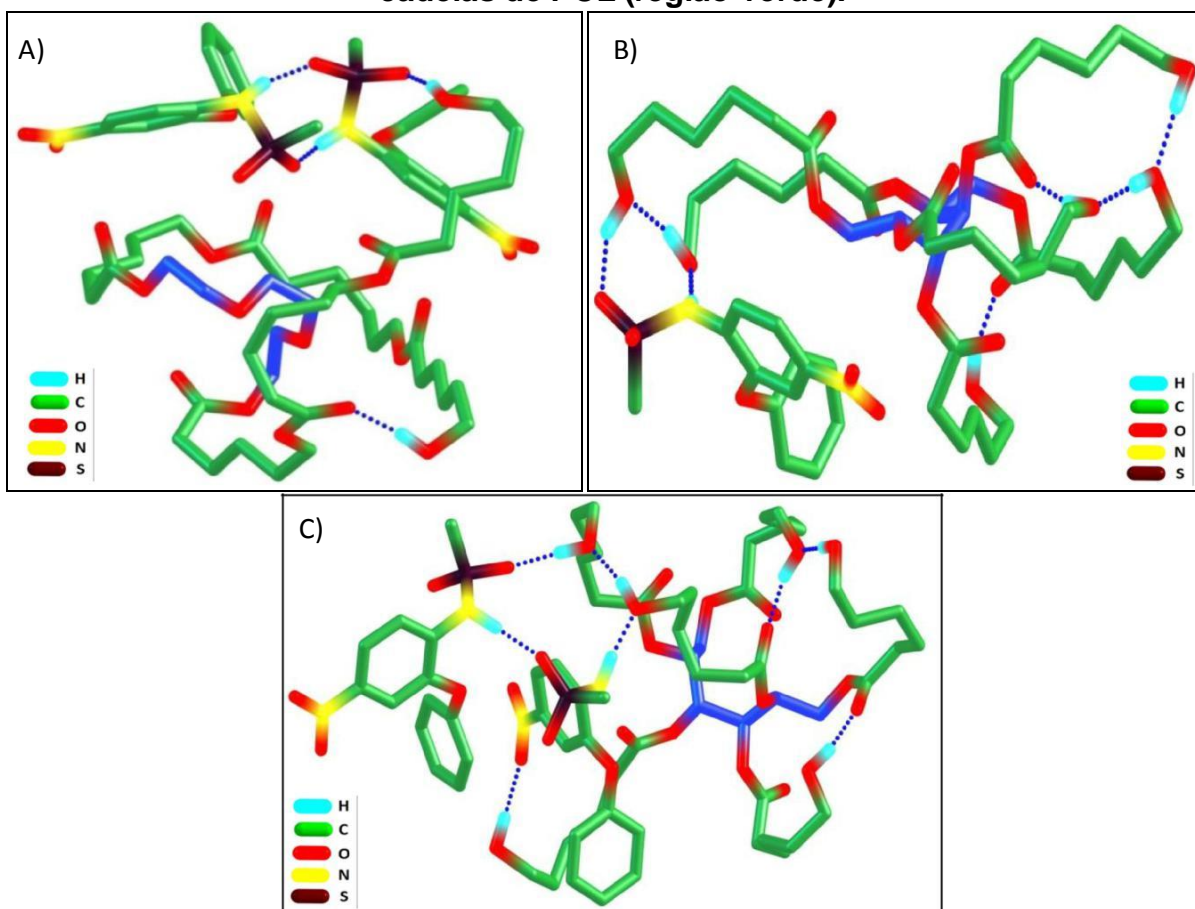
**Figura 56: Conformação mais estável do complexo paracetamol 4Pmol-Sorb. O PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

Para nimesulida estudou-se um complexo com PEG e dois complexos com o sorbitol com número diferente de moléculas nimesulida. Os três complexos estudados foram 2Nim-PEG 2Nim-PEG = [(Nimesulida)<sub>2</sub>-(PCL-*b*-PEG-*b*-PCL)], 1Nim-Sorb = 1Nim-Sorb = [(Nimesulida)<sub>1</sub>-(sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>)] e 2Nim-Sorb = [(Nimesulida)<sub>2</sub>-(sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>)]. As estruturas de melhores conformidades dos complexos são apresentadas na Figura 57. A partir da Tabela 24 observou-se que à medida que o número de moléculas de nimesulida no complexo de Nim-Sorb aumentava, a energia de ligação elevasse. Esse aumento no número de ligações de hidrogênio formadas entre o fármaco e o polímero provocou um aumento de ~ 67 kJ.mol<sup>-1</sup> na energia de ligação.

**Figura 57: Conformações mais estáveis dos complexos nimesulida. A) 2Nim-PEG, B) 1Nim-Sorb, C) 2Nim-Sorb. PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**

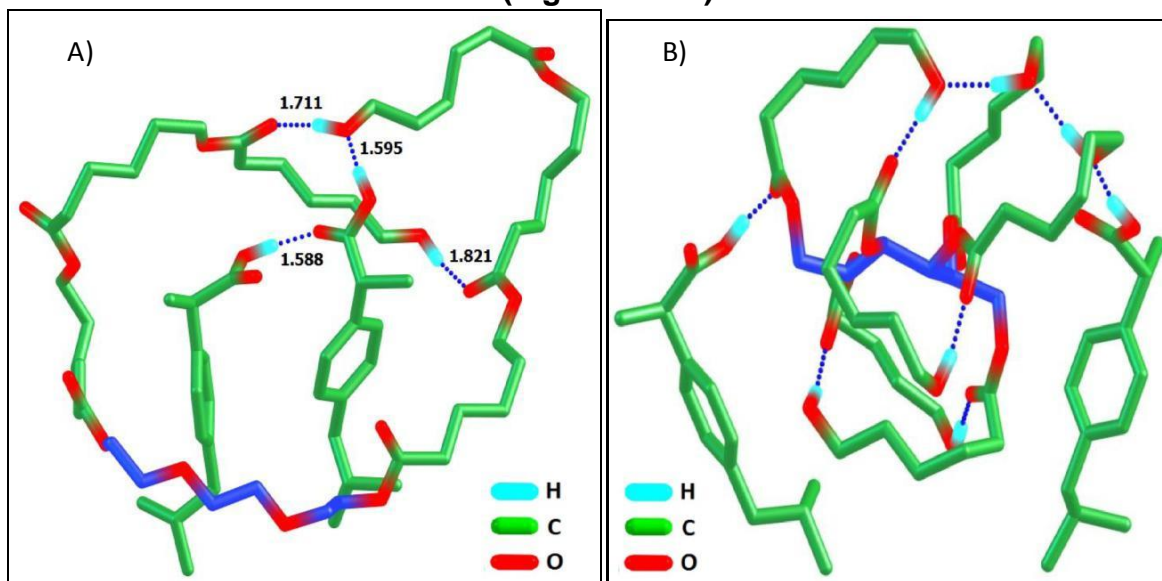


Fonte: Resultado da pesquisa.

Dois complexos do fármaco ibuprofeno com os copolímeros, 2Ibu-PEG = [(Ibuprofeno)<sub>2</sub>-(PCL-*b*-PEG-*b*-PCL)] e 2Ibu-Sorb = [(Ibuprofeno)<sub>2</sub>-(sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>)], foram estudados, o qual duas moléculas do fármaco foram adicionadas a cada um dos copolímeros. As estruturas conformacionais mais estáveis são apresentadas na Figura 58. No complexo 2Ibu-PEG a estabilização ocorreu por uma ligação de hidrogênio intermolecular entre a molécula de ibuprofeno e o copolímero, outra ligação intermolecular de hidrogênio (COO-H...O=C-OH) entre as duas moléculas de ibuprofeno, e duas ligações intramoleculares de hidrogênio dentro das cadeias PCL. O complexo 2Ibu-Sorb apresentou duas ligações intermoleculares de hidrogênio entre as moléculas de ibuprofeno e o copolímero e seis ligações intramoleculares nas cadeias da PCL.



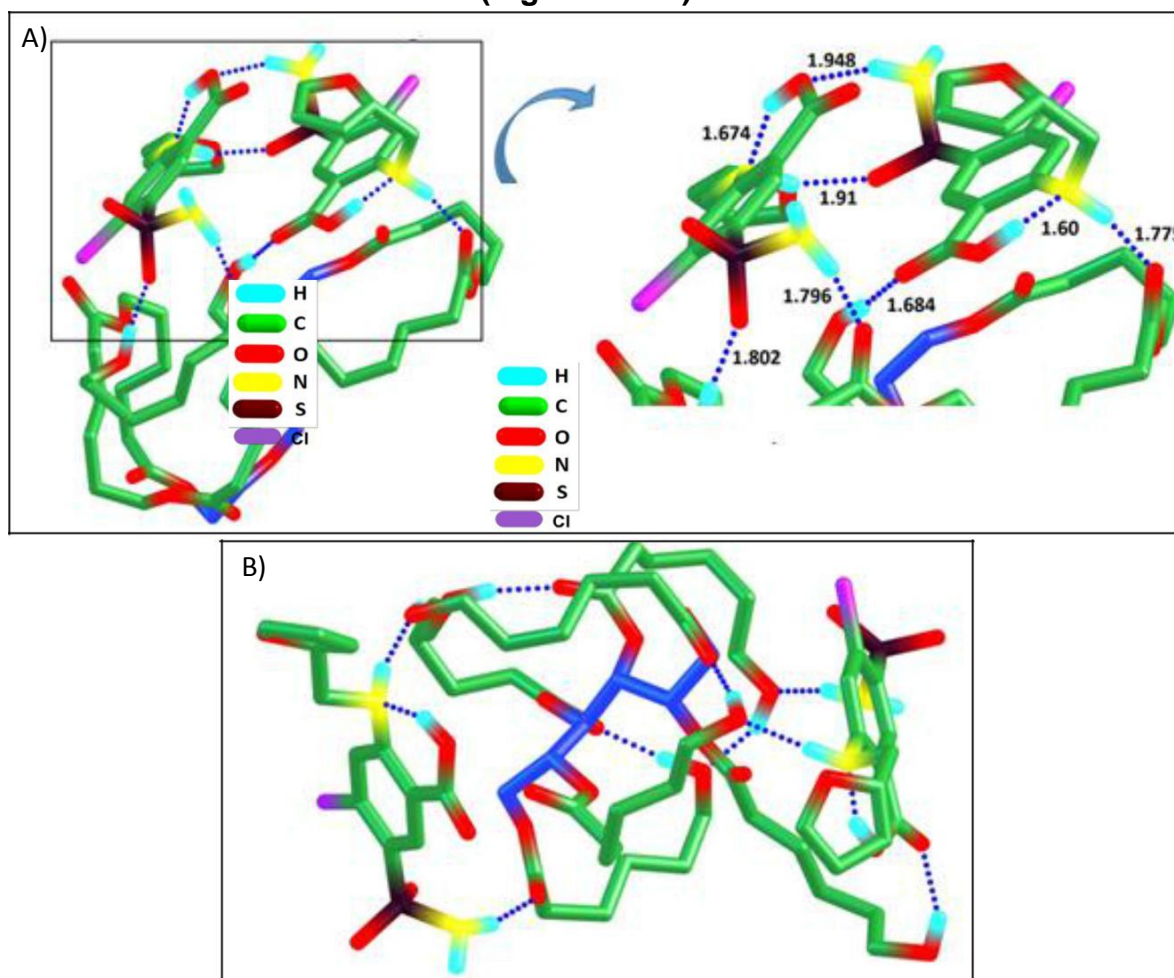
**Figura 58: Conformações mais estáveis dos complexos ibuprofeno. A) 2Ibu-PEG, B) 2Ibu-Sorb.PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

As moléculas de furosemida foram otimizadas para a melhor estrutura e depois inseridas nas proximidades do copolímero para formar os dois complexos, isto é, 2Fur-PEG = 2Fur-PEG = [(Furosemida)<sub>2</sub>-(PCL-*b*-PEG-*b*-PCL)] e 2Fur-Sorb = 2Fur-Sorb = [(Furosemida)<sub>2</sub>-(sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>)] (Figura 59) e otimizados com as conformações mais estáveis. Verificou-se que ambos os complexos eram altamente estáveis e mais estáveis entre todos os sistemas de fármaco-copolímero estudados. O complexo com sorbitol foi mais estável, podendo ser atribuído a estabilidade ao elevado número de ligações de hidrogênio formadas com a furosemida e os copolímeros, sendo quatro e cinco ligações de hidrogênio em 2Fur-PEG e 2Fur-Sorb, respectivamente.

**Figura 59: Conformações mais estáveis dos complexos furosemida. A) 2Fur-PEG, B) 2Fur-Sorb.PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

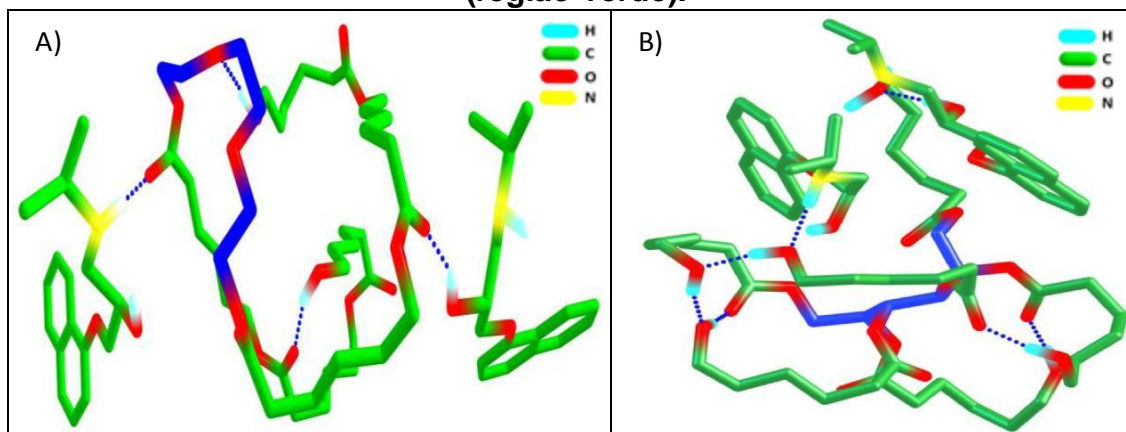
O propranolol foi determinado por dois complexos, o 2Pro-PEG = [(Propranolol)<sub>2</sub>-(PCL-*b*-PEG-*b*-PCL)] e 2Pro-Sorb = [(Propranolol)<sub>2</sub>-(sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>)] (Figura 60). A estabilidade no complexo contendo o PEG ocorreu pela ligação de hidrogênio entre os grupos NH e OH do fármaco com os oxigênios da molécula do PEG e das carboxilas da PCL. Com relação aos complexos a ligação de hidrogênio aconteceu entre os grupamentos amins e hidroxila do propranolol e os oxigênios da PCL.

A energia de estado fundamental de ambos os complexos foram as mais elevadas em relação aos outros complexos fármaco-polímero, o que determina a menor, visto que as energias fundamentais foram 416,14 e 313,11 kJ.mol<sup>-1</sup> para os complexos 2Pro-PEG e 2Pro-Sorb, respectivamente. Albuquerque (2008) descreve que quanto mais negativo a energia fundamental, mais estável será o composto em



consideração. Os valores das energias fundamentais também indicam que o complexo de propranolol com o sorbitol, foi apresentado como o menos instável.

**Figura 60: Conformações mais estáveis dos complexos propranolol. A) 2Pro-PEG, B) 2Pro-Sorb. PEG ou sorbitol (região azul escuro), cadeias de PCL (região verde).**



Fonte: Resultado da pesquisa.

## 5. CONCLUSÃO DAS MICELAS COPOLIMÉRICAS

- Os copolímeros sintetizados tiveram rendimento superior a 50%;
- Não houve presença de reagentes no final das reações;
- Nos espectros de FT-IR dos copolímeros os picos em torno de  $3500\text{ cm}^{-1}$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$ , identificando as hidroxilas terminais e a carbonila dos poliésteres, respectivamente. Confirmaram a copolimerização;
- Os graus de cristalinidade por meio do DR-X determinaram a semicristalinidade dos copolímeros tribloco e do sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub>, enquanto o sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub> caracterizou-se como amorfo, o que o torna mais adequado para administração em meio biológico, pois a estrutura amorfa facilita a absorção;
- As estruturas dos copolímeros foram mostradas por RMN e as massas molares foram determinadas pelas áreas dos picos, sendo a maior massa para (P(CL-co-(±)-3-HB)-*b*-PEG-*b*-P(CL-co-(±)-(3-HB))) ( $25412\text{ g.mol}^{-1}$ ) e a menor para sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB))<sub>6</sub> ( $1725,79\text{ g.mol}^{-1}$ );
- As micelas copoliméricas sem e com cargas bioativas apresentaram tamanhos inferiores a 1000 nm e após a irradiação gama houve diminuição nos tamanhos dos diâmetros;
- Entre as micelas copoliméricas não carregadas, as formadas por copolímeros estrelar e contendo o tensoativo SDS, apresentaram maior estabilidade em módulo.
- As micelas copoliméricas carregadas, apresentaram menor estabilidade para as carregadas com o propranolol, o que diminuiu mais a estabilidade após a irradiação gama.
- A taxa de eficiência de encapsulamento das micelas foi superior a 85%, principalmente para as drogas hidrofóbicas, conferindo a eficiência as interações ocorridas entre os fármacos e a matriz polimérica e a menor concentração. Em relação, aos fármacos hidrofílicos a concentração de 10% (m/m) do propranolol auxiliou na alta eficiência, enquanto a concentração do paracetamol não influenciou.
- Na liberação *in vitro* as micelas carregadas com os fármacos hidrofílicos (paracetamol e propranolol) e os fármacos ionizáveis em pH 7,4 (Ibuprofeno e nimesulida), tiveram mais de 50% de liberação. A exceção da finasterida, droga

hidrofóbica, que foi bastante liberada, pode ser justificada pela quantidade da droga nas micelas.

- Posterior a radioesterilização por radiação gama, não foram observados presença de produtos indesejáveis radiolíticos nas micelas carregadas com paracetamol, nimesulida, ibuprofeno e paracetamol.
- Finalmente a modelagem computacional correspondeu aos resultados práticos, em que as micelas copoliméricas formadas por sorbitol-*b*-(PCL)<sub>6</sub> foram as mais estáveis e o aumento da quantidade de moléculas dos fármacos interagindo com as micelas, aumentavam progressivamente a estabilidade. Isto, confirma a estabilidade encontrada no potencial zeta para as micelas formadas por copolímeros estrelas e a eficiência do encapsulamento em relação à quantidade da droga.

*Capítulo III:*

**TAPETES FIBRILARES,  
COMO SISTEMAS  
NANOMÉTRICOS  
IMPLANTÁVEIS DE  
LIBERAÇÃO CONTROLADA  
DE BIOATIVOS**

## 1. NANOFIBRAS POLIMÉRICAS

Conhecidas por nanoestruturas unidimensionais, as nanofibras pertencem a uma classe de materiais que tem sua aplicação com alto valor agregado quando comparada às formas convencionais. Isto se deve à alta razão entre a área superficial e o peso, à baixa densidade e ao pequeno tamanho dos poros (HSU et al., 2010; UPPAL et al., 2011; KIM, ROTHSCILD, 2011). Além disso, a flexibilidade e a morfologia aprimoram o uso do material em relação a outras nanoestruturas, por exemplo, estas não tendem a aglomerar-se como ocorre com as nanopartículas (ANDRADY, 2008).

Essas fibras são produzidas a partir de uma solução polimérica e, em sua maioria, pelo método de eletrospinning, podendo também ser obtidas por automontagem, modelo de síntese, desenho e separação de fases (SILVA, 2013). As técnicas tendem a produzir fibras com diâmetros da ordem de 10 a 200 nm, originando nanofibras propriamente ditas, ou maiores que 200nm e inferiores a 1 micrometro, designadas como submicrofibras (SCHINDLER et al., 2005; RAMASESHAN et al., 2007).

As organizações estruturais das nanofibras sejam organizadas ou aleatórias, promoverá maior rigidez e alta resistência axial (DEITZEL et al., 2001; ZHANG, 2005). Por causa dessas características, as nanofibras vêm sendo aplicadas em diversas áreas e produtos, incluindo o uso em sistemas de liberação controlada de drogas, biossensores, sistemas de filtração, curativos, vasos sanguíneos artificiais, engenharia de tecidos, dentre outros (FRIDRIKH et al., 2003; YOUNG, 2006; LEE et al., 2009; GARG, BOWLIN, 2011).

### 1.1 Processo de eletrospinning

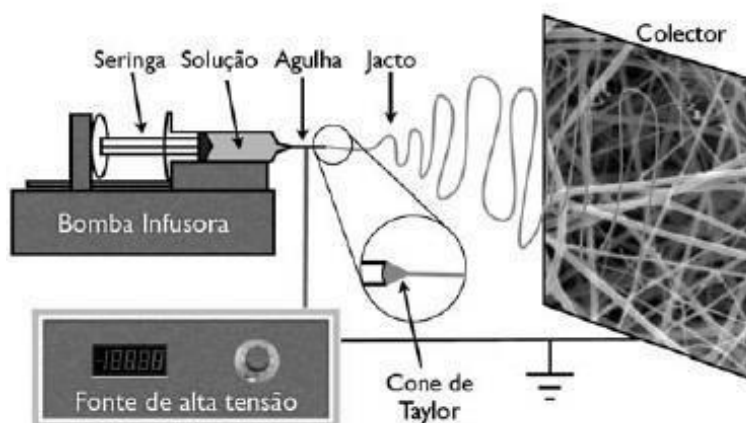
A eletrospinning, ou spinning eletrostático, é o método mais empregado para fabricação de nanofibras. Essa técnica foi patenteada em 1934, por Anton Formhals, que descreveu a montagem experimental para produção de filamentos de polímeros usando uma força eletrostática (FORMHALS, 1934; GARG, BOWLIN, 2011).

A eletrospinning é um processo simples, de fácil manipulação, de produção de grande quantidade de fibras ultrafinas e de baixo custo (ZHOU et al., 2010; COSTA et al.,

2012), que consiste na deposição de fibras poliméricas em uma placa coletora, empregando uma força eletrostática através da introdução de uma solução polimérica em um campo elétrico (TAYLOR, 1964; YOUNG 2006).

O aparato é composto de uma seringa acoplada a uma agulha contendo a solução polimérica, conectada a uma fonte contínua de alta tensão, e uma placa coletora aterrada, visto na Figura 61 (HU et al., 2014). A fonte de alta tensão produz um excesso de carga positiva sobre a ponta da agulha e um excesso de carga negativa sobre a placa coletora. A agulha e a placa carregadas criarão um campo elétrico em direção à placa coletora. Isto exercerá uma força eletrostática sobre qualquer material que esteja carregado no interior da câmara, o que afetará os movimentos das fibras em direção a placa (RAMAKRISHNA et. al., 2005).

**Figura 61: Configuração básica de um equipamento de eletrofição**



Fonte: Franco (2009).

A carga em excesso na ponta da agulha induzirá cargas na solução polimérica que será eletrofiada movimentando-se em direção à placa coletora (SCHUEREN et al, 2010). O aumento de intensidade do campo elétrico e a superfície hemisférica do fluido na ponta da agulha, farão com que haja um alongamento da solução, levando a uma forma cônica conhecida como cone de Taylor; em que o solvente da solução evaporará, gerando uma fibra polimérica sobre o coletor (TAYLOR, 1964; YOUNG, 2006). Para que fibras se formem, alguns parâmetros devem ser ajustados, pois os mesmos exercem influência sobre a qualidade, a morfologia e o tamanho das fibras obtidas (SILL, RECUM, 2008).

### *1.1.1 Parâmetros que influenciam na eletrofição*

O processo de eletrofição depende de muitos parâmetros associados, sendo classificados em parâmetros de solução (massa molar, concentração viscosidade, tensão superficial e condutividade elétrica), parâmetros de processo (tensão aplicada, fluxo e a distância entre a ponta da agulha e a placa coletora) e parâmetros ambientais (umidade e temperatura) (SILL, 2008; SALLES, 2013; GONÇALVES, 2015). Entre os três parâmetros, o de solução são os que se destacam no processo e na morfologia das fibras, podendo também interferir em outras propriedades (HUANG et al, 2003). O pleno domínio destes parâmetros é o primeiro requisito para se conduzir adequadamente este processo.

#### **1.1.1.1 Viscosidade da solução**

Viscosidade é a medida de resistência ou fricção interna de uma substância ao fluir, quando esta está sob tensão tangencial (DIARMID et al, 2001). A viscosidade de soluções poliméricas, em geral, relaciona-se com a extensão da cadeia polimérica e sua capacidade de forma emaranhados.

Cada solução polimérica apresenta uma viscosidade mínima para começar a ser eletrofiada. (RAMAKRISHNA et. al., 2005). Soluções com viscosidade mais baixa produziram fibras com pérolas e diâmetros menores, enquanto a alta pode formar fibras mais regulares, embora uma voltagem bastante elevada tende a inviabilizar o processo (VALIZADEH, FARKHANI 2014).

Segundo Ramakrishna (2005), a viscosidade da solução polimérica é um dos fatores que mais afeta o processo de eletrofição, porquanto tem uma forte correlação com a concentração e o peso molar do polímero e a temperatura, sendo afetada também pelo tipo de solvente. Soluções feitas com bons solventes tendem a ter viscosidades altas, o que promove extensão das cadeias macromoleculares rodeadas por moléculas de solvente, reduzindo assim, o contato entre as moléculas do polímero.

Entretanto, em solventes ruins, a dissolução do polímero é endotérmica, requerendo, portanto, o auxílio de uma fonte de calor externa para dissolução. O conjunto geral então, entre a viscosidade, concentração, massa molar do polímero, temperatura e solvente, indica que existem polímeros mais apropriados e valores

ótimos para o processo de eletrofiação, os quais influenciarão marcadamente a morfologia das fibras (KULKARNI et al., 2010).

### **1.1.1.2 Condutividade elétrica**

A condutividade elétrica é a capacidade de uma solução conduzir eletricidade. É induzida através da voltagem aplicada à solução polimérica, o que gera uma diferença de potencial entre a solução polimérica e a placa coletora (RAMAKRISHNA et al., 2005). Uma condutividade elevada da solução polimérica levará à formação de fibras com menores diâmetros, enquanto que uma baixa condutividade resulta em alongamento insuficiente do jato pela força elétrica, levando a fibras pouco uniformes e com pérolas (JIN et al., 2007; BHARDWAJ, KUNDU, 2010). Conforme Bhardwaj (2010), o aumento da condutividade elétrica da solução ou a densidade de cargas é usado para reduzir e uniformizar o diâmetro das fibras e, ao mesmo tempo, diminuir o número de defeitos, embora possam ser formadas pérolas entre as fibras.

Segundo Zillmer (2007), um dos fatores influenciador na condutividade é o pH da solução, que pode alterar a concentração de íons e com isso aumentar a condutividade. Outro, é a adição de um sal à solução, pois promove uma molhabilidade aos íons, o que faz com aumente a condutividade elétrica (GUERRINI et al., 2006). Muitas vezes a adição de um sal se faz necessária, porque os polímeros são considerados bons isolantes e suas cargas residuais não dissipam facilmente, interferindo assim no processo de eletrofiação (TSAI et al., 2002).

### **1.1.1.3 Distância entre o coletor e a agulha**

A distância entre a ponta da agulha e a placa coletora é a menor distância de trabalho em que o solvente da solução polimérica evapora. Esse valor deve ser o mínimo, para que haja total evaporação do solvente e máximo para que o campo elétrico seja efetivo na estabilização do cone de Taylor e, conseqüentemente, na formação das fibras (GOMES et al., 2007). A variação da distância altera outros dois parâmetros, o campo elétrico e o tempo de estiramento (INGAVLE, 2014).

Valizadeh e Farkhani (2014) observaram que, ao diminuir a distância de trabalho, havia um aumento no campo elétrico, o que levava a diminuição do estiramento do jato, resultando em fibras com diâmetros maiores e com



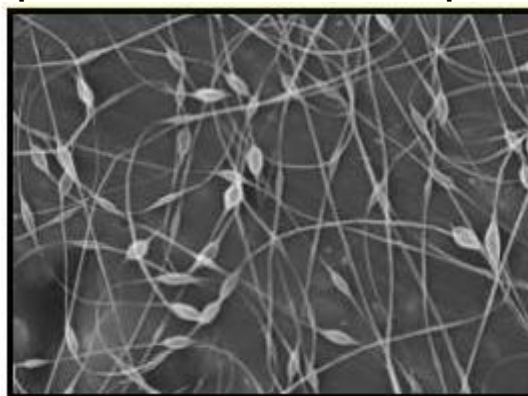
probabilidade de pérolas. Já com aumento da distância, havia um aumento do estiramento e conseqüentemente diminuição do diâmetro das fibras depositadas na placa coletora.

#### **1.1.1.4 Fluxo**

O fluxo de alimentação da solução determina o quanto da solução polimérica será eletrofiada em um determinado tempo (MEGELSKI et al., 2002). As alterações no fluxo, quando o campo elétrico é constante, poderão originar fibras com morfologia diferente, principalmente em relação à porosidade e à geometria. Isso ocorre porque, para cada fluxo de alimentação existe uma determinada voltagem, que levará à formação do cone de Taylor estável (RAMAKRISHNA et al., 2005).

Com o aumento do fluxo há também aumento do diâmetro da fibra, apesar de que existe um limite de diâmetro para o sucessivo aumento do fluxo. Fluxos elevados podem originar fibras com defeitos, devido à elevada quantidade de solvente que deve evaporar antes do jato alcançar placa coletora, ou seja a gota proveniente do jato desprende-se da agulha pela ação da gravidade e não por sofrer orientação elétrica (INGAVLE, 2014). Além disso, a evaporação incompleta conduz à formação de fibras achatadas (Figura 62), em vez de fibras com secção circular (MEGELSKI et al, 2002).

**Figura 62: Tapete fibrilar eletrofiada com pérolas achatadas**



Fonte: Fong (1999).

Do mesmo modo, fluxos de alimentação insuficientes impossibilitam a realização da eletrofiação. Isso, porque o cone de Taylor na extremidade da agulha não se mantém, ou seja, o fluxo se revela insuficiente para substituir a solução

projetada ao coletor, logo deve haver um equilíbrio entre fluxo e os outros parâmetros (BHARDWAJ, KUNDU, 2010).

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo Geral**

Nanofabricação e caracterização das fibras da blenda PCL/PEO sem e com a presença de substâncias bioativas (fármacos, vitaminas e aminoácidos) inseridas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- a) Preparação dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO pela técnica de eletrofiação (electrospinning)
- b) Caracterização dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO
- c) Verificar a resistência radiolítica das vitaminas hidrossolúveis e aminoácidos pesquisadas quando submetidas à dose de esterilização de 25kGy.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

**Quadro 3: Materiais utilizados para confecção dos tapetes fibrilares**

Polímeros	Procedência
Poli(etileno glicol)(PEG) (PM 6 kg.mol <sup>-1</sup> )	REAGEN
Poli(ε-caprolactona)(PCL) (PM 45 kg.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Poli(óxido de etileno)(PEO) (PM 600 kg.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Reagentes e Solventes	
Diclorometano (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ) (PM 84,93 g.mol <sup>-1</sup> )	DINÂMICA®
Dimetilformamida (DMF) (PM 73,09 g.mol <sup>-1</sup> )	VETEC®
Clorofórmio (CHCl <sub>3</sub> ) (PM 119,38 g.mol <sup>-1</sup> )	DINÂMICA®
Tetraidrofurano (THF) (PM 72,11 g.mol <sup>-1</sup> )	ÊXODO CIENTÍFICA
Fármacos	
Finasterida (PM 372,55 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Paracetamol (PM 151,16 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Vitaminas Hidrossolúveis	
Riboflavina (PM 376,40 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Pantotenato de cálcio (PM 219,23 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Ácido fólico (PM 440,41 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Aminoácidos	
L-Fenilalanina (PM 165,18 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
L-Histidina (PM 155,16 g.mol <sup>-1</sup> )	SIGMA – ALDRICH®
Materiais em geral	
Saco de diálise (membrana de acetato de celulose), 20kDa cut-off;	SIGMA – ALDRICH®
Membrana HA em éster de celulose (poro 0,45 µm)	MILLIPORE
Agulha de metal 22 Gauge	MISAWA
Seringa de 10 ml	ARTI GLASS

Fonte: Elaborado pela autora.

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 *Preparação dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO pela técnica de eletrofiação (electrospinning)*

Os tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO (90:10) sem e com substâncias bioativas (fármacos, vitaminas hidrossolúveis ou aminoácidos) encapsulados foram preparadas a partir de soluções poliméricas. As soluções continham 10 mL de clorofórmio destilado, 0,45 g de PCL e 0,05 g de PEO, podendo ainda conter de 0,2 a 1% da substância bioativa a ser inserida. As soluções poliméricas foram agitadas por 24 horas a temperatura ambiente e após o período as soluções foram utilizadas para confecção das fibras. Os parâmetros usados para eletrofiação foi a distância de 10 cm, fluxo de  $1,59 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$ , voltagem de 10 kV, agulha de 22 Gauge, seringa de 10 mL e o aparelho utilizado o foi Electrospinning Starting Kit da LINARI (LUONG, 2006; KANG, 2012; GONÇALVES, 2015).

### 3.2.2 *Irradiação gama das vitaminas hidrossolúveis e aminoácidos essenciais*

As vitaminas hidrossolúveis (B2, B5 e B9) e aminoácidos essenciais (L-fenilalanina e L-histidina) foram irradiadas conforme os parâmetros estabelecidos na seção 3.2.3 do capítulo II, porém a taxa da dose foi de  $2,488 \text{ kGy}\cdot\text{h}^{-1}$  (Outubro/2016).

### 3.2.3 *Caracterização dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO*

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

As micrografias geradas pelo MEV foram utilizadas para identificação da morfologia, através da exploração da superfície das amostras, que interagem com feixes de elétrons (DEDAVID, GOMES, MACHADO, 2007). As imagens foram dos tapetes fibrilares sem e com os princípios obtidas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco. O equipamento utilizado foi da JEOL, modelo JSM 5900. As amostras foram metalizadas a vácuo no metalizador LEICA, modelo SCD 500 e as micrografias obtidas foram nos aumentos entre 100 a 7000 vezes.

### **3.2.3.2 Difractometria de raios-X (DR-X)**

A análise foi realizada em triplicata nos tapetes fibrilares contendo os fármacos (finasterida e paracetamol), vitamínicos hidrossolúveis (B2, B5 e B9) e os aminoácidos essenciais (L-fenilalanina e L-histidina). Os parâmetros utilizados foram conformes os descritos na seção 3.2.4.3 do capítulo II.

### **3.2.3.3 Análise térmica**

Os comportamentos térmicos das substâncias bioativas *in natura* e dos tapetes fibrilares sem e com as substâncias bioativas foram analisados por meio da análise termogravimétrica (TGA), responsável por acompanhar a variação da massa das amostras em função da temperatura, dessa forma determinando a temperatura que o material se decompõe e a Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), que mediu a diferença de energia fornecida que alterou as amostras física ou quimicamente (IONASHIRO et al., 2004).

Essas análises em triplicatas foram obtidas utilizando o equipamento TGA/DSC 2 STAR<sup>e</sup>-System, da METTLER-TOLEDO realizada no Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco. Também realizadas no Centro de Tecnologias Energéticas do Nordeste usando o equipamento TGA-50/DSC-60 da SHIMADZU, e na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, utilizando os equipamentos TGA/DSC, modelo STA 6000 da PERKIN-ELMER. Os parâmetros usados foram taxa de aquecimento de 10° C/min, na faixa de temperatura de 40° a 600° e sob atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

### **3.2.3.4 Molhabilidade (medidas do ângulo de contato)**

O teste do ângulo de contato foi utilizado para determinação da hidrofobicidade, através da influência da competição entre as forças coesivas do líquido e as forças adesivas entre o sólido e o líquido, pois, medidas do ângulo inferiores a 90° determinarão superfícies hidrofílicas (FARIAS et al., 2011). Para então, o teste, a média de 3 medidas do ângulo, foi realizado no Laboratório de Polímeros e Nanoestruturas do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco,

tendo como líquido de água deionizada (~10 µL) sob a superfície dos tapetes fibrilares sem e com as substâncias bioativas, em temperatura ambiente (laboratório) de ~22° C e umidade relativa do ar de 65%. O aparelho utilizado foi o goniômetro Pocket Goniometer, modelo PG-2, da FIBRO System AB.

### **3.2.3.5 Degradação Hidrolítica**

O experimento foi realizado em triplicata nos tapetes fibrilares sem e com as substâncias bioativas, visando estudar o comportamento e a cinética desses materiais, por ser importante para a finalidade de implantáveis (FERREIRA, MALMONGE, 2014). Esses foram preparados com dimensões 1,4 cm x 0,9 cm e com massas entre 50 a 40 mg, sendo submersos em tubos de ensaio contendo solução tampão fosfato salino (a solução era trocada após 15 dias para evitar acidificação do meio, devido ao acúmulo de produto da hidrólise). Os tubos de ensaio posteriormente eram imersos a ~37° C em banho termostático, utilizando o aparelho da NOVATÉCNICA, modelo NT 277. As amostras foram secas à vácuo e pesadas para avaliação da perda de massa em intervalos de 24 horas, durante 30 dias.

### **3.2.3.6 Taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA)**

A %EA foi avaliada através da relação entre concentração molar da substância bioativas inicial (SI) (fármacos, vitaminas hidrossolúveis ou aminoácidos) utilizadas nas preparações dos tapetes fibrilares, e concentração molar da substância bioativa livre (SL), conforme a equação 10.

$$\frac{SI - SL \text{ (g/mol)}}{SI \text{ (g/mol)}} \times 100 = \%EE \quad (10)$$

A determinação da quantidade de substância bioativa livre nos tapetes fibrilares foi obtida quando os dispositivos foram umedecidos com 2,0 mL de solução tampão fosfato salino (PBS) e em seguida filtrado utilizando a membrana de HA em éster de celulose com porosidade 0,45 µm. Do filtrado foi determinado a concentração (BRUXEL et al., 2012), por meio das equações obtidas por UV-visível. As análises

do UV-visível foram realizadas no equipamento Agilent 8453, da AGILENT TECHNOLOGIES no Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

### **3.2.3.7 Taxa de liberação *in vitro***

Os tapetes fibrilares contendo a substância bioativa foram inseridos no saco de diálise e imerso em 250 mL de solução tampão fosfato salino a 37 °C (+ 0,2 °C). Em intervalos de 1, 5, 10 e 15 dias alíquota de 1 mL foi retirada e o volume final reconstituído com a solução tamponada (1 mL). As soluções coletadas tiveram as concentrações determinadas utilizando as equações obtidas a partir da curva de calibração para cada substância no UV-visível. A taxa de liberação foi calculada de acordo com as equações 11 e 12.

$$\text{Concentração } (\mu\text{g}) \times 250 \text{ mL} = \text{massa liberada } (\mu\text{g/mL}) \quad (11)$$

$$\text{massa liberada } (\mu\text{g}) / \text{massa inicial } (\mu\text{g}) \times 100 = \% \text{ de liberação} \quad (12)$$

### **3.2.3.8 Cromatografia Líquida por Alta Eficiência (CLAE)**

Esse método foi utilizado para detectar subprodutos nas vitaminas hidrossolúveis (B2, B5 e B9) e aminoácidos essenciais (L-fenilalanina e L-histidina) pós radiação. Os parâmetros específicos para cada substância foram estabelecidos conforme o quadro 3. As análises foram realizadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), usando o equipamento SUNFIRE – WATERS, sistema reverso, modo isocrático, coluna C<sub>18</sub> (4,6 mm ID x 150mm), fluxo de 1mL/min, volume de injeção de 20 µL e tempo de corrida de 30 minutos.



**Quadro 4: Parâmetros específicos das vitaminas hidrossolúveis e dos aminoácidos essenciais para análise no CLAE**

<b>Fármaco</b>	<b>Fase móvel</b>	<b>Deteção no UV (nm)</b>	<b>Referência</b>
Vitamina B2	Água: metanol (70: 30)	425	FINGLAS, FAULKES, 1984.
Vitamina B5	Solução tampão PBS, pH 2,5: acetonitrila (97: 3)	205	WOOLLARD et al., 2000.
Vitamina B9	Solução tampão PBS, pH 6,2: metanol (76: 24)	280	OSSEYI et al., 1998.
L-fenilalanina	Água: metanol (70: 30)	205	ROESEL et al., 1986
L-histidina	Solução tampão PBS, pH 6,2: metanol (76: 24)	204	TATEDA et al., 1998.

Fonte: Resultado da pesquisa.

### **3.2.3.9 Teste de Tukey**

Para avaliar diferenças estatisticamente significativas entre os valores das médias dos parâmetros (grau de cristalinidade por DR-X, ângulo de contato e EA%) foi utilizado o teste Tukey. Para isso, aplicou-se previamente, a análise de variância (ANOVA) aos dados.

## 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO

#### 4.1.1 Micrografias Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias das fibras da blenda PCL/PEO carregadas com substâncias bioativas são apresentadas nas Figuras 63 a 78, sendo possível através das imagens de MEV comprovar a formação dos tapetes fibrilares eletrofiado. As fibras formadas utilizando distância de 10 cm e voltagem de 10 kV, foram caracterizadas por fibras longas, com presença de pérolas (materiais poliméricos aglomerados entre as fibras, com formato esférico) e diâmetros em escala submétricas (498 a 521 nm) e micrométricas (1 a 10  $\mu\text{m}$ ).

No trabalho de Gonçalves (2015), os tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO não carregado, preparados com os mesmos parâmetros, não demonstraram presença de pérolas, indicando que as cargas bioativas inseridas alteraram as morfologias das fibras. Salles (2013) relata que um dos fatores promove modificação na morfologia das fibras são alterações nos parâmetros da solução. Kim e colaboradores (2004) que eletrofiaram fibras da blenda PLGA/PCL-*b*-PEG carregada com cefoxitina (antibiótico) descreveram que quando adiciona um fármaco na solução polimérica, a viscosidade e a tensão superficial da solução mista pode ser ligeiramente alterada, aumentando neste caso a densidade do jato e resultando em alteração na morfologia.

Llorens e colaboradores (2013), que eletrofiaram fibras de PLA carregadas com antioxidantes, relataram que a incorporação de fármacos influenciou claramente o diâmetro das fibras de PLA eletrofiadas, quando comparadas com as fibras não carregadas.

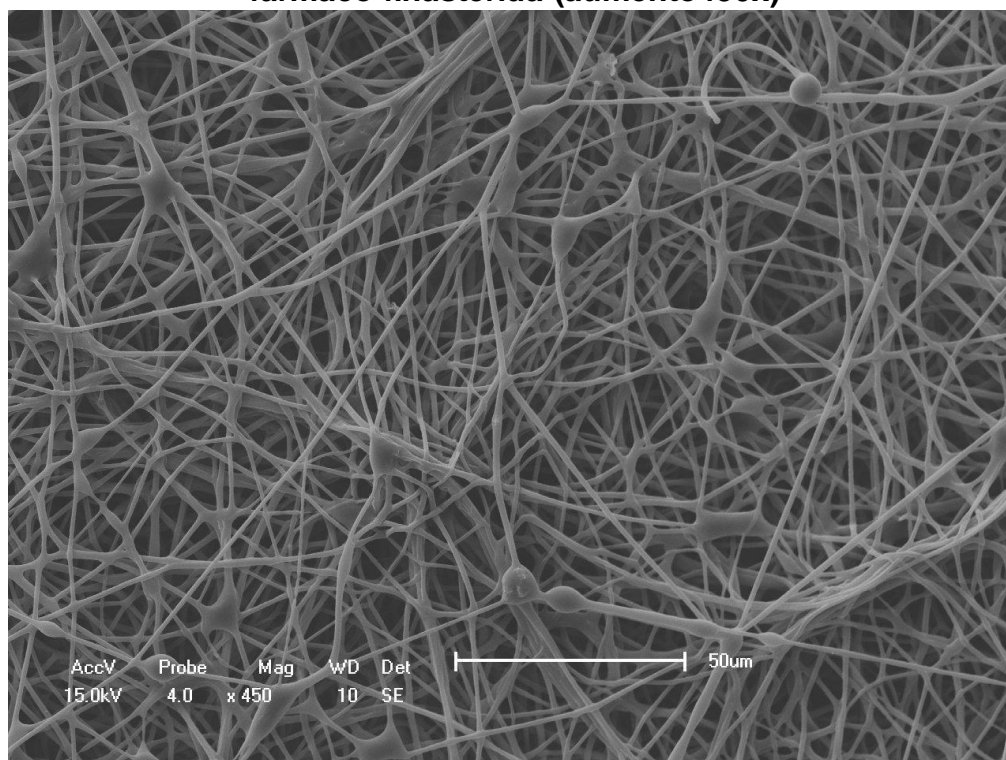
Nas micrografias das Figuras 65, 68, 70, 74 e 78 são observadas partículas das substâncias bioativas nas superfícies das fibras, principalmente na Figura 65 em que a partícula da finasterida, a substância bioativa mais hidrofóbica, está acoplada a fibra. No trabalho de Karuppuswamy e colaboradores (2015), as fibras de PCL carregadas com 4 ou 5% (m/m) de tetraciclina (antibiótico) apresentaram cristais da droga na superfície. Kenawy e colaboradores (2002) trabalhando com fibras de poli (etileno-co-vinilacetato)/poli (ácido láctico) também carregada com tetraciclina a 5%

(m/m) detectaram partículas nas superfícies das fibras, que após a liberação *in vitro* não foram observadas.

Qi e colaboradores (2008) descreveram que ausência dos cristais do paracetamol (2% m/m) nas superfícies das fibras PLA-*b*-PEO-*b*-PLA, as quais estavam inseridas é indício da incorporação homogênea do fármaco nas fibras. O que afirma que parte das substâncias bioativas não foram inseridas, sendo confirmada pela taxa de eficiência de aderência (seção 4.1.5).

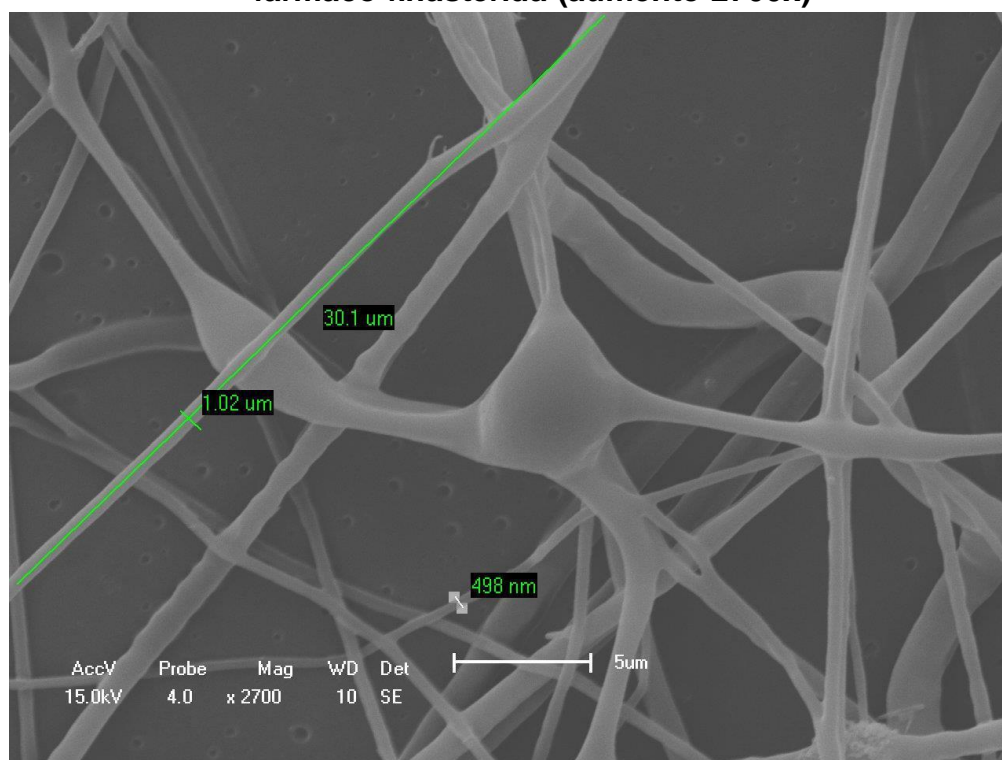
Os tapetes fibrilares apresentaram poros, característicos das fibras carregadas. Esses poros nas fibras auxiliam na velocidade de degradação, porque aumentam a superfície de contato, e desempenham o papel importante para agregação celular (MIKOS et al., 1993; SILL, RECUM 2008).

**Figura 63: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco finasterida (aumento 450x)**



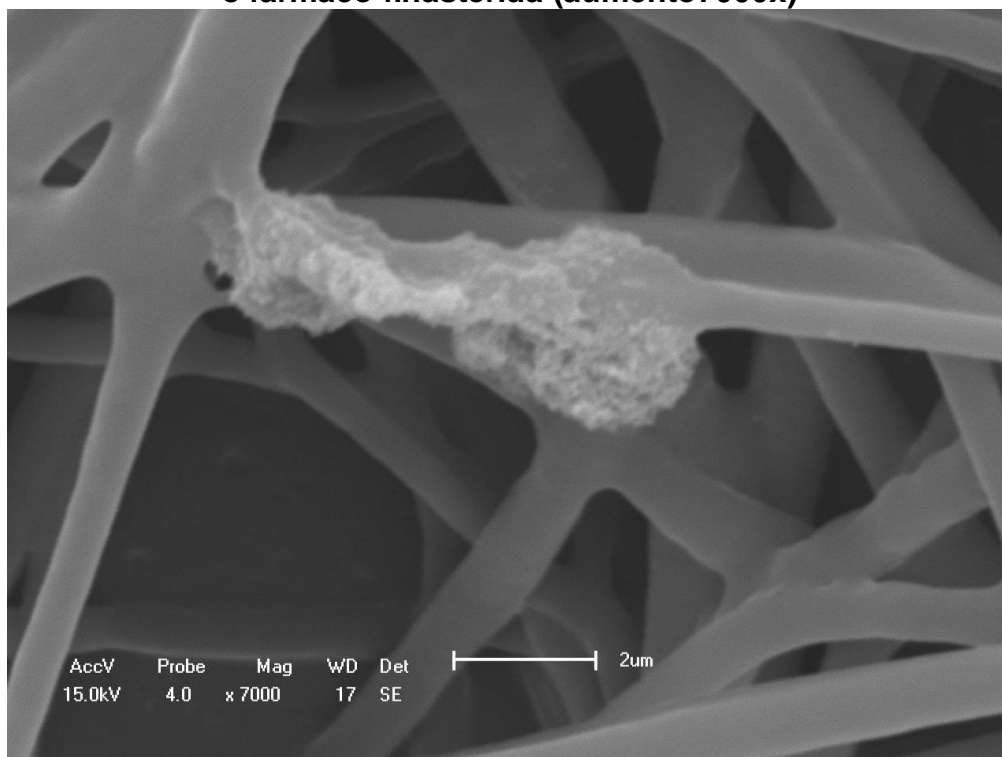
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 64: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco finasterida (aumento 2700x)**



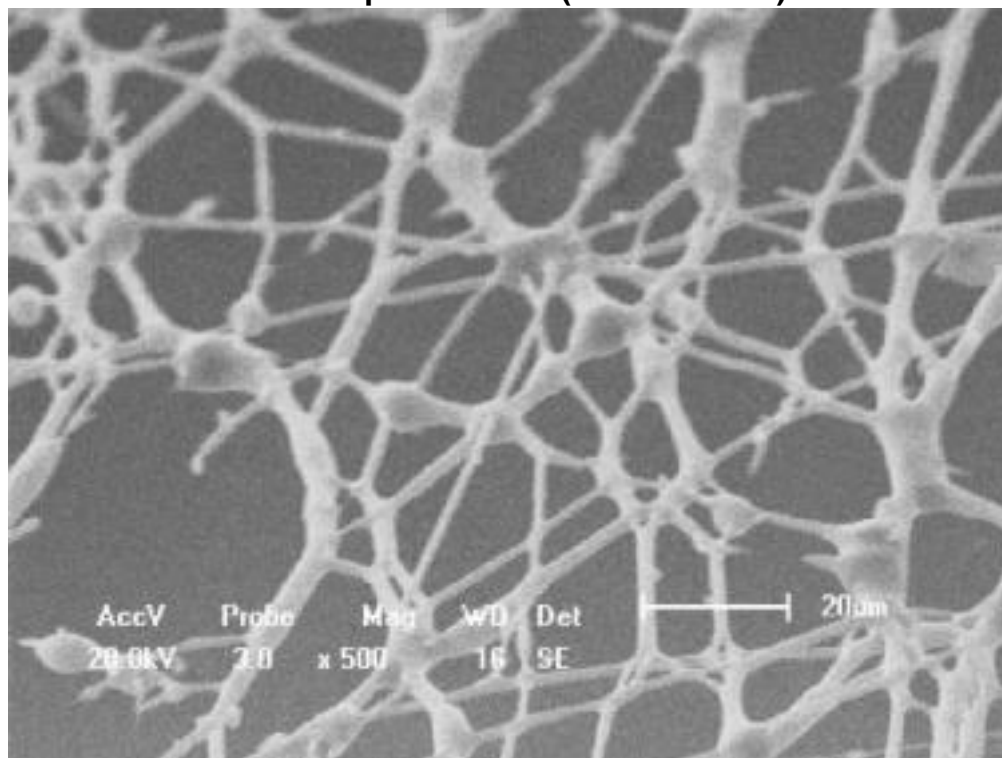
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 65: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco finasterida (aumento 7000x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 66: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco paracetamol (aumento 500x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

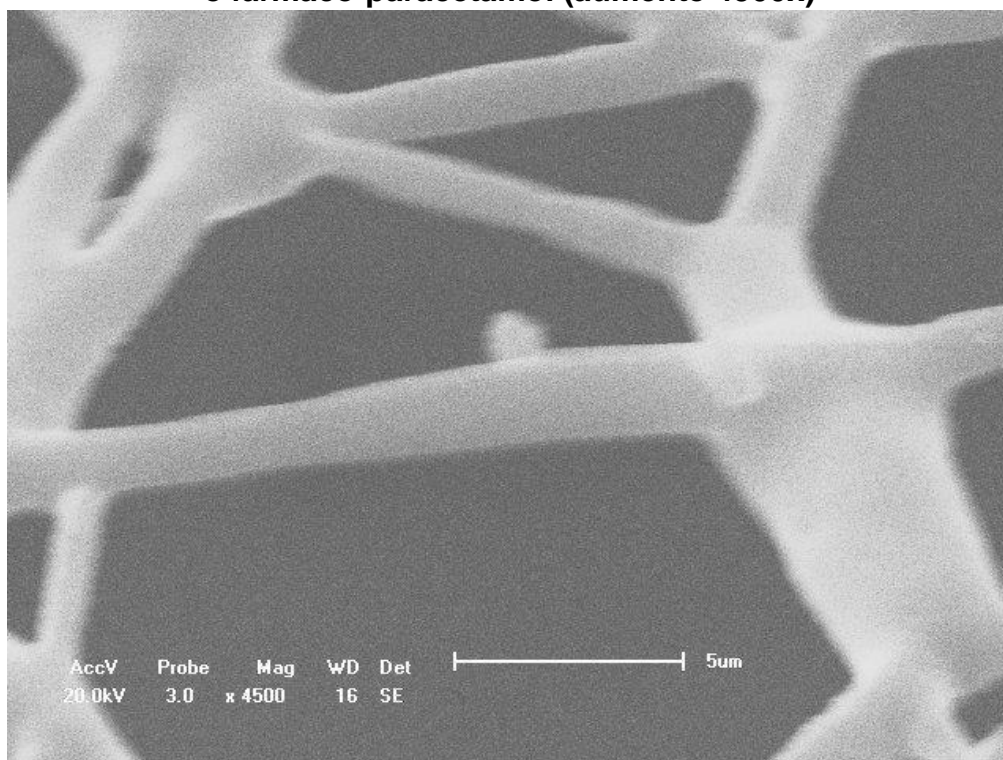
**Figura 67: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco paracetamol (aumento 2400x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

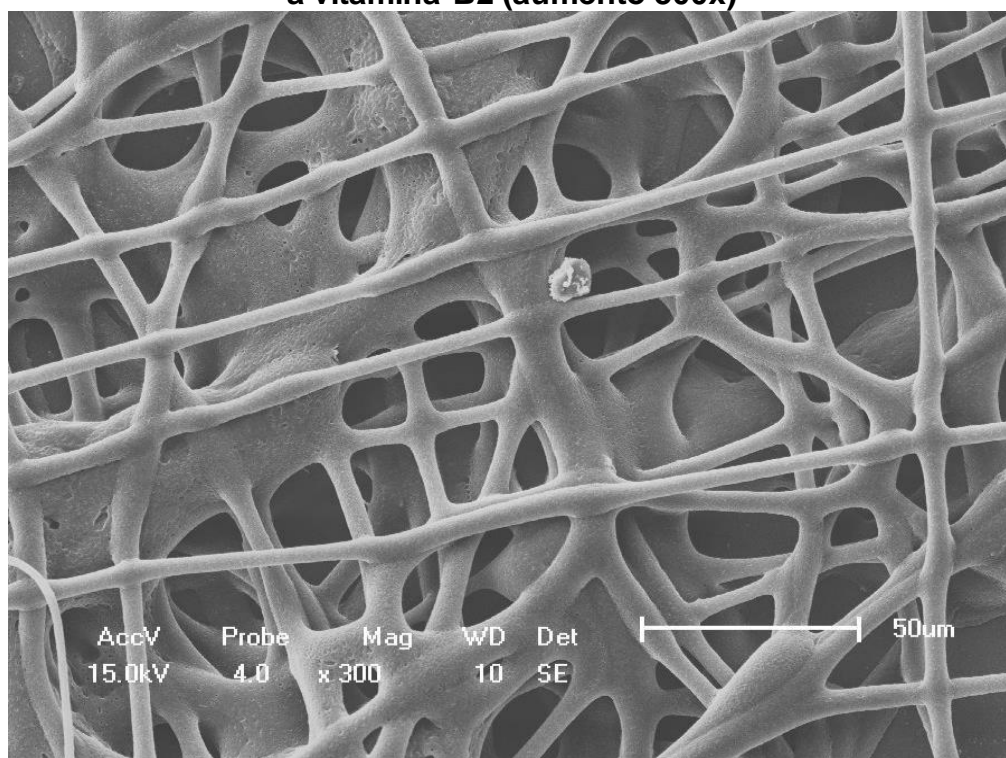


**Figura 68: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o fármaco paracetamol (aumento 4500x)**



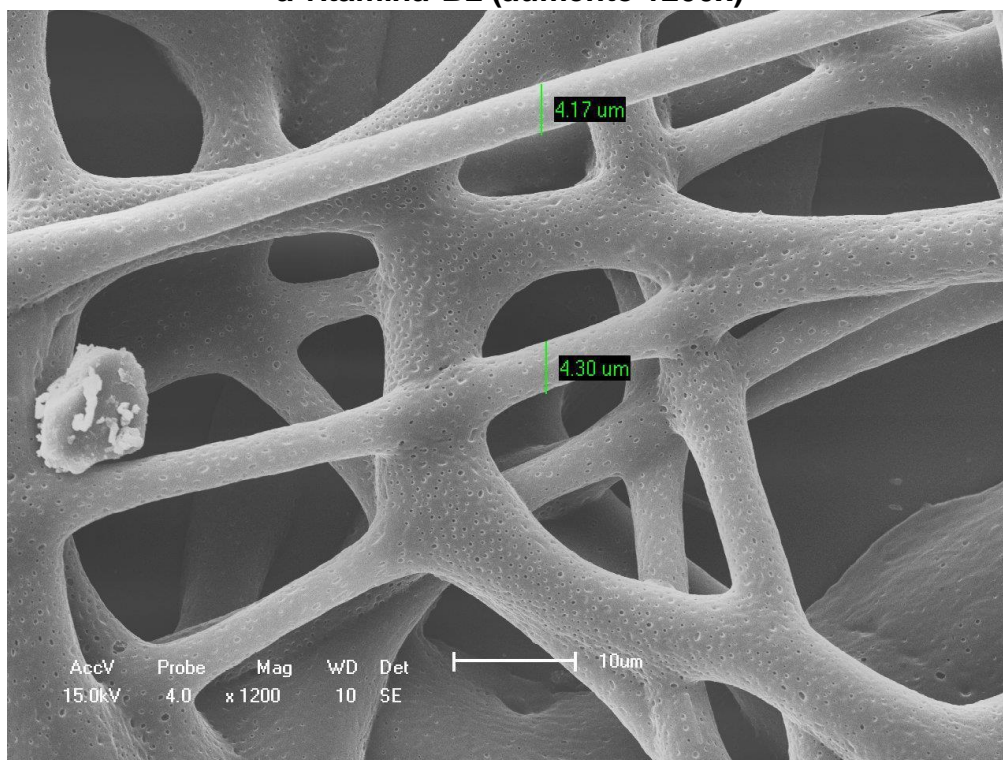
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 69: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B2 (aumento 300x)**



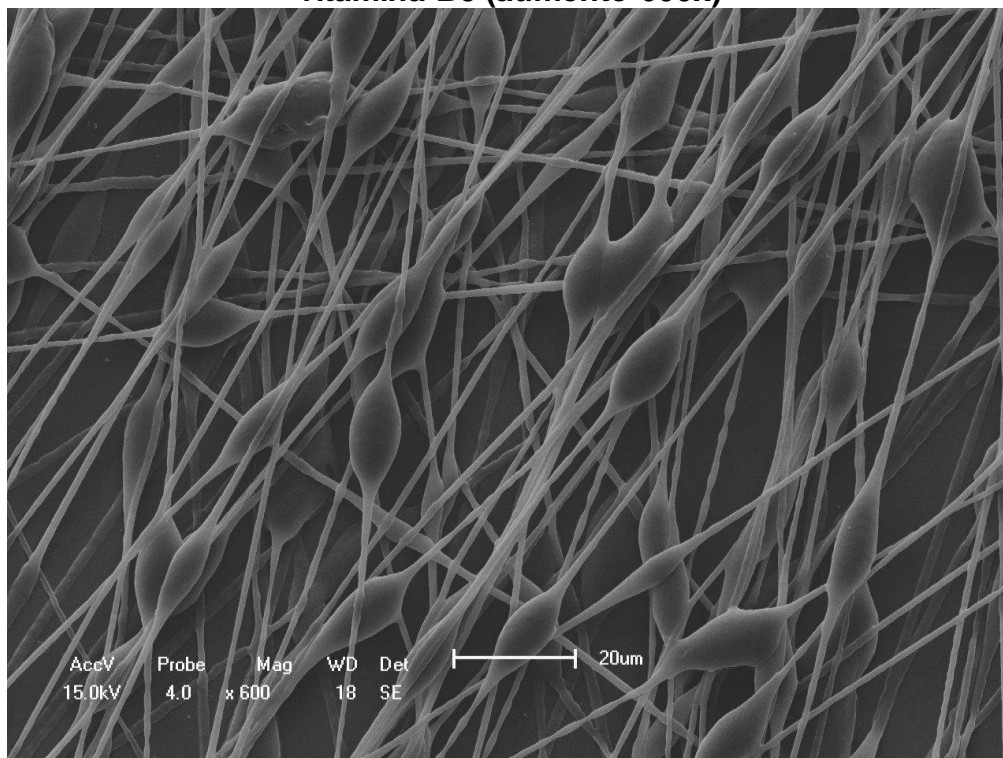
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 70: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B2 (aumento 1200x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

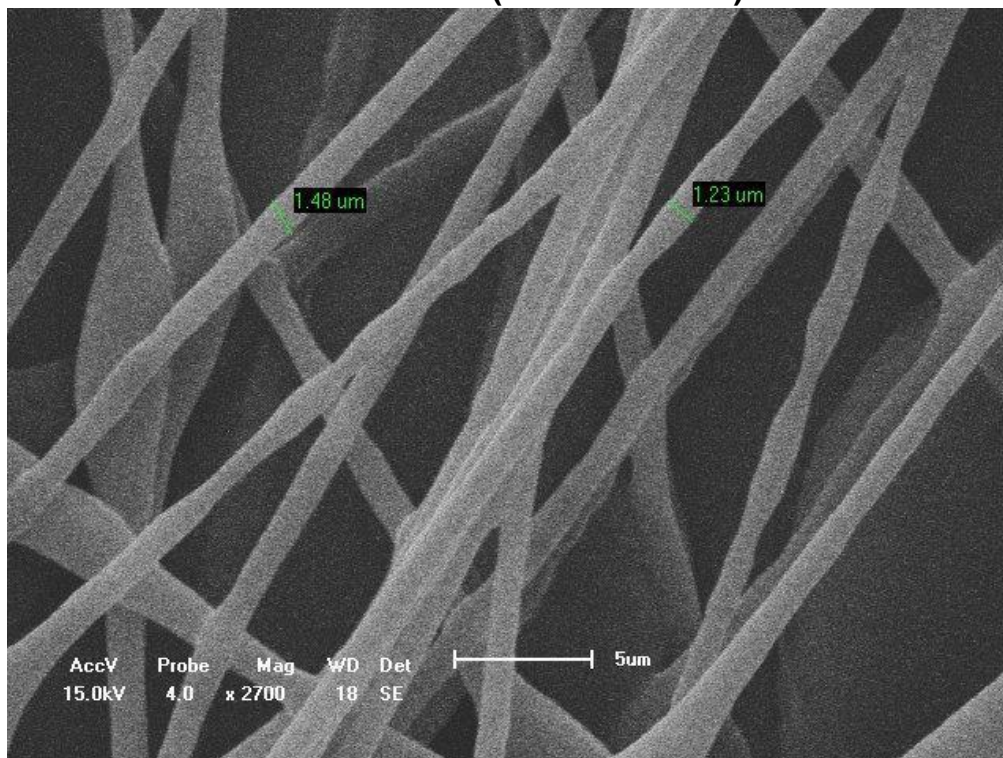
**Figura 71: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B5 (aumento 600x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

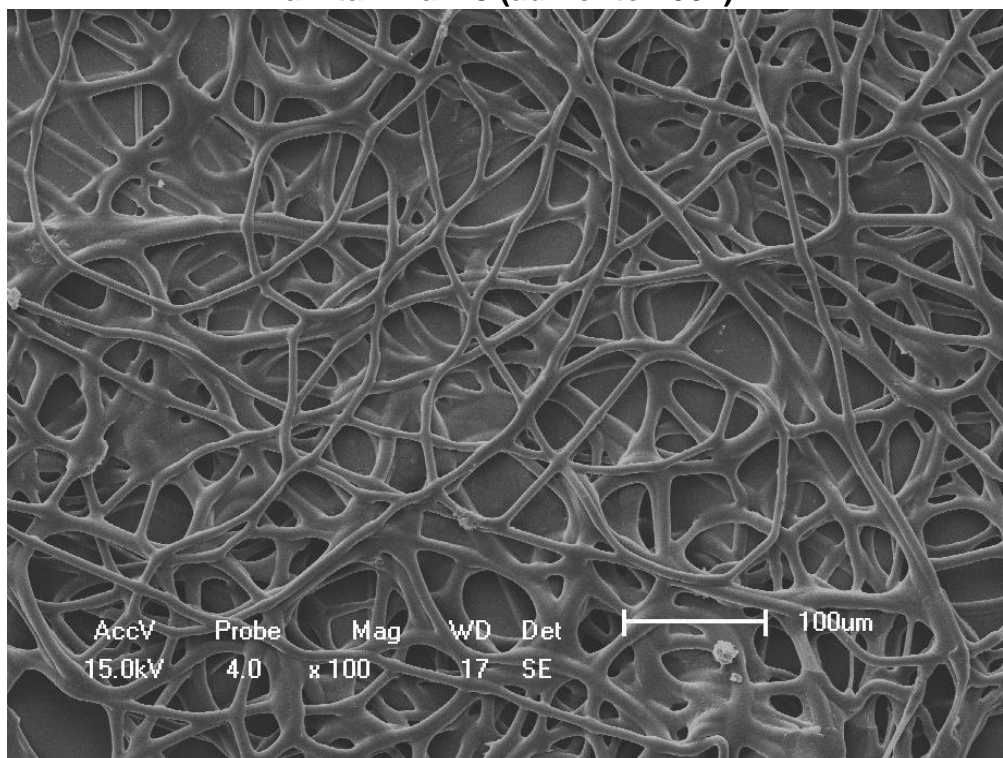


**Figura 72: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B5 (aumento 2700x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

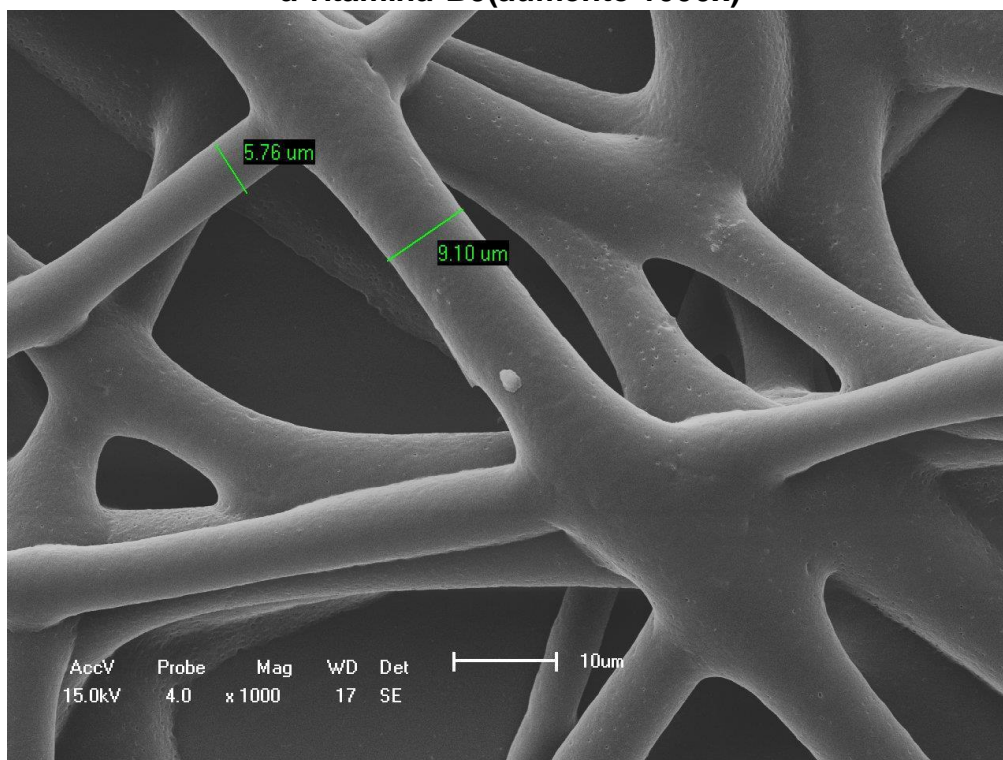
**Figura 73: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B9 (aumento 100x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

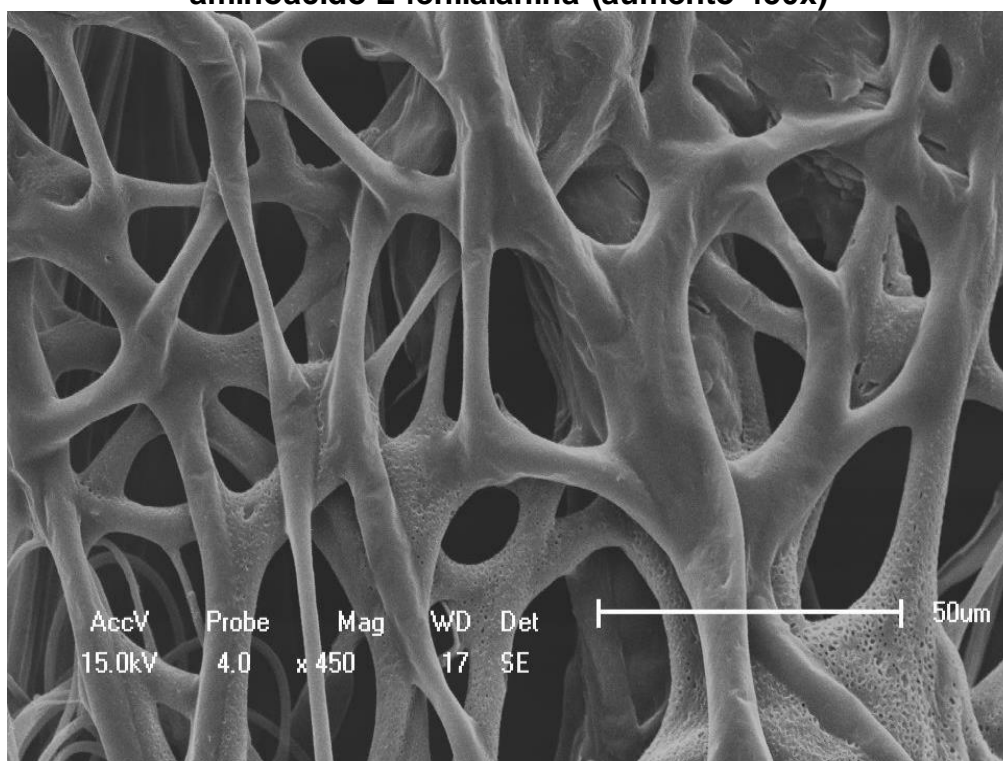


**Figura 74: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com a vitamina B9(aumento 1000x)**



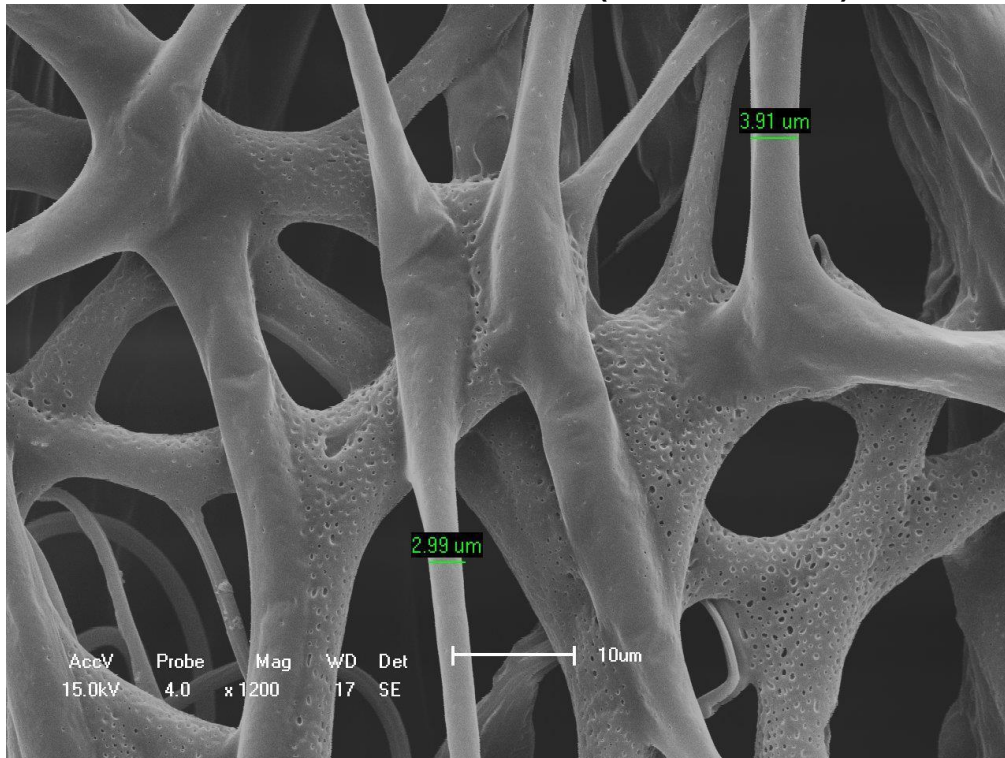
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 75: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-fenilalanina (aumento 450x)**



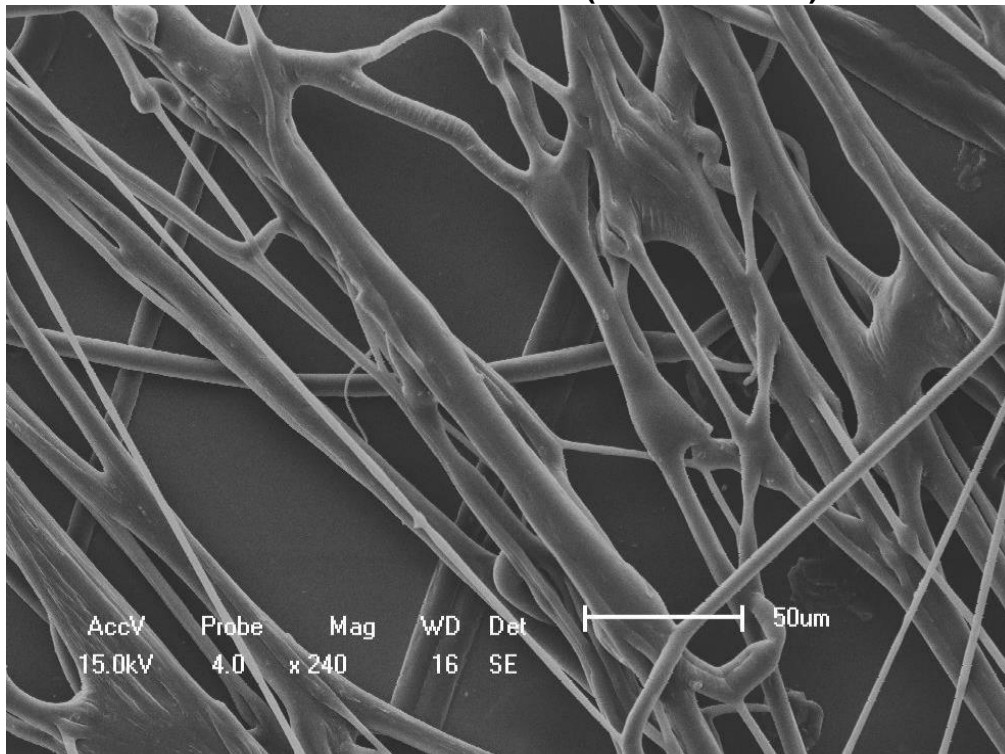
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 76: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-fenilalanina (aumento 1200x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

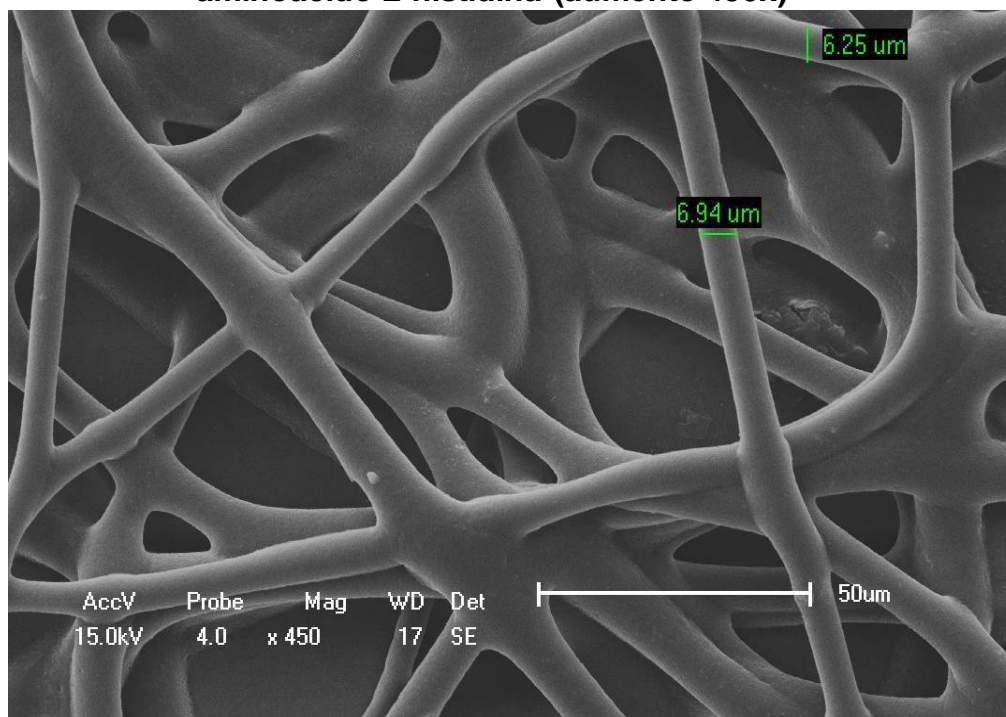
**Figura 77: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-histidina (aumento 240x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.



**Figura 78: Micrografia do tapete fibrilar blenda PCL/PEO carregado com o aminoácido L-histidina (aumento 450x)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.2 Difratometria de raios-X

Os resultados do DR-X para todos os tapetes fibrilares carregados foram três picos sobrepostos ao da fibra da blenda PCL/PEO, conforme a Tabela 25 e as Figuras 79 a 93. O primeiro pico de intensidade discreta foi encontrado em  $2\theta = 19,35^\circ \pm 0,15$ , sendo associado ao PEO, cuja estrutura é helicoidal e o plano cristalográfico [120] (PEREIRA, 2008). Nessas microfibras carregadas os deslocamentos ocorridos nos ângulos indicam que as cargas promoveram uma microtensão nos cristalitos da estrutura fibrilar, ocasionando aumento das distâncias interplanares (KAHN, 2012). Isto, sugere que as cargas no interior da matriz interagiram com os polímeros.

O segundo e o terceiro picos são característico da PCL, uma estrutura cristalina atribuída a uma célula unitária ortorrômbica (LIU et al, 2011). O segundo pico apresenta plano cristalográfico [110] e foi determinado em  $2\theta = 21,5^\circ \pm 0$ , sendo de intensidade forte, o que estabelece uma cristalinidade alta (KOLBUK, 2013). Neste ângulo de difração não foram observados deslocamentos fibras carregadas, em relação as não carregadas. O terceiro pico, de intensidade média, foi identificado

em  $2\theta = 23,81^\circ \pm 0,04$ , com plano cristalográfico [200] e deslocamento nas fibras contendo as substâncias bioativas (SOLANO, 2013; GONÇALVES, 2015).

Llorens e colaboradores (2013) observaram nas fibras confeccionadas de PLA carregadas com antioxidantes que os picos presentes referentes as cargas eram indicativos de uma incorporação não homogênea, comprovado pelas micrografias eletrônicas. Os autores também revelaram que a diferença entre as intensidades elevadas nos difratogramas das substâncias bioativas, quando comparadas com as das fibras carregadas, sugeriam que as cargas tinham sido depositadas na superfície dos tapetes fibrilares e em uma orientação periférica.

No trabalho de Stanzione e colaboradores (2013), o difratograma das fibras de PCL carregadas com um antitumoral derivado do complexo de titanoceno, não apresentaram os picos referentes a carga. Isto revelou, de acordo com os autores, que compararam com o difratograma do filme de mesmo componentes, que embora houvesse a redução da fração amorfa as partículas do complexo estava no amorfo, por isso os picos não eram detectados nas fibras. Portanto, a presença das cargas nos tapetes fibrilares eletrofiados, sugere que as substâncias bioativas não foram homogeneamente inseridas, sendo depositadas na superfície e que mesmo aumentando a fração cristalina, encontram-se no estado amorfo.

**Tabela 25: Grau de ângulo de difração dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas**

(continua)

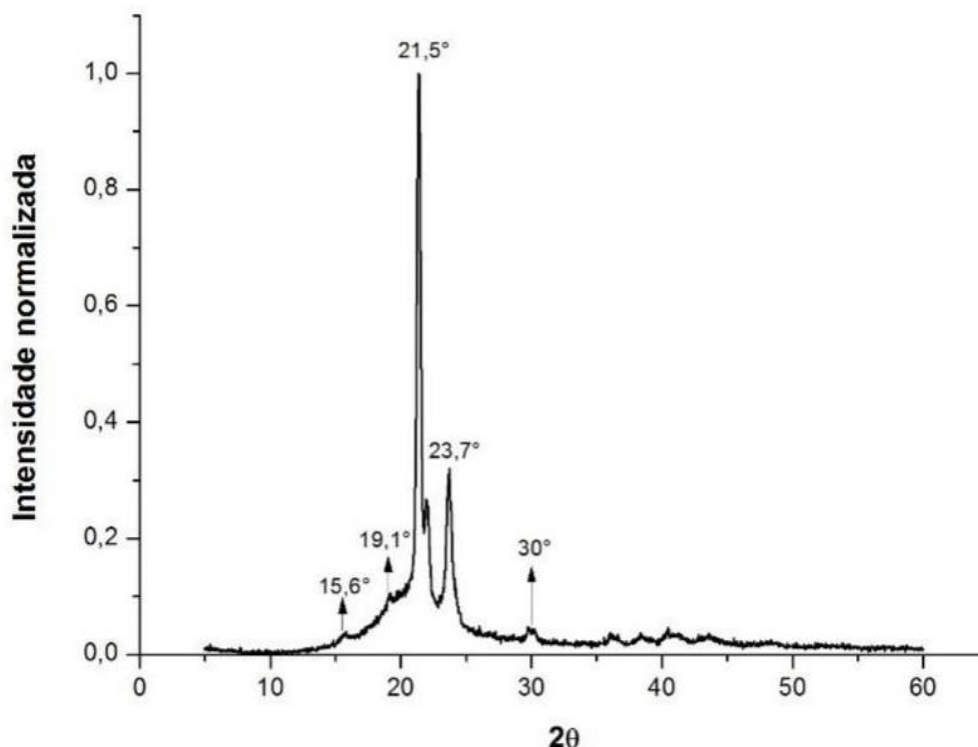
Amostras	$2\theta$
Fibras da blenda PCL/PEO	15,6°, <b>19,1°</b> , <b>21,5°</b> , <b>23,7°</b> e 30°
Fibras da blenda PCL/PEO + finasterida	14,6°, 15,7°, <b>19,7°</b> , <b>21,5°</b> , <b>23,9°</b> , 30° e 31,7°
Finasterida	13,8°, 15,7°, 16,9°, 19,8°, 20,8°, 20,9°, 21,9°, 23,3°, 25,2°, 26°, 27,1°, 28,7 e 31,4°
Fibras da blenda PCL/PEO + paracetamol	<b>19,3°</b> , <b>21,5°</b> e <b>23,9°</b>
Paracetamol	12,1°, 13,9°, 15,4°, 16,8°, 18,1°, 20,3°, 23,3°, 24,5°, 26,5°, 28,3°, 32,5° e 36,9°
Fibras da blenda PCL/PEO + Vitamina B2	<b>19,5°</b> , <b>21,5°</b> e <b>23,8°</b>
Vitamina B2	7,3°, 8,7°, 10,8°, 11,7°, 19,6°, 20,8°, 22,1°, 24,8°, 25,8°, 27,1° e 30,2°

(continuação)

Amostra	2 $\theta$
Fibras da blenda PCL/PEO + Vitamina B5	<b>19,2°, 21,5° e 23,8°</b>
Vitamina B5	5,1°, 8,9°, 9,7°, 10,7°, 12,7°, 13,9°, 16,4°, 18°, 19,4°, 20,2°, 23,3°, 26,6°, 30,1° e 34,3°
Fibras da blenda PCL/PEO + Vitamina B9	13,3°, 15,8°, <b>19,4°, 21,5°, 23,8°</b> , 30° e 31,9°
Vitamina B9	5,5°, 10,9°, 11,7°, 13,2°, 16,4°, 17,2°, 19,5°, 21,9°, 26,9° e 27,5°
Fibras da blenda PCL/PEO + L-fenilalanina	6,5°, 15,7°, 17,2°, <b>19,4°, 21,5°, 23,8°</b> , 30,2° e 36,1°
L-fenilalanina	5,6°, 11,4°, 17°, 22,7°, 28,3° e 34,4°
Fibras da blenda PCL/PEO + L-histidina	15,8°, <b>19,2°, 21,5°, 23,8°</b> , 26,7° e 30,1
L-histidina	9,4°, 12,9°, 15,3°, 18,9°, 24,2°, 31,1° e 37,8°

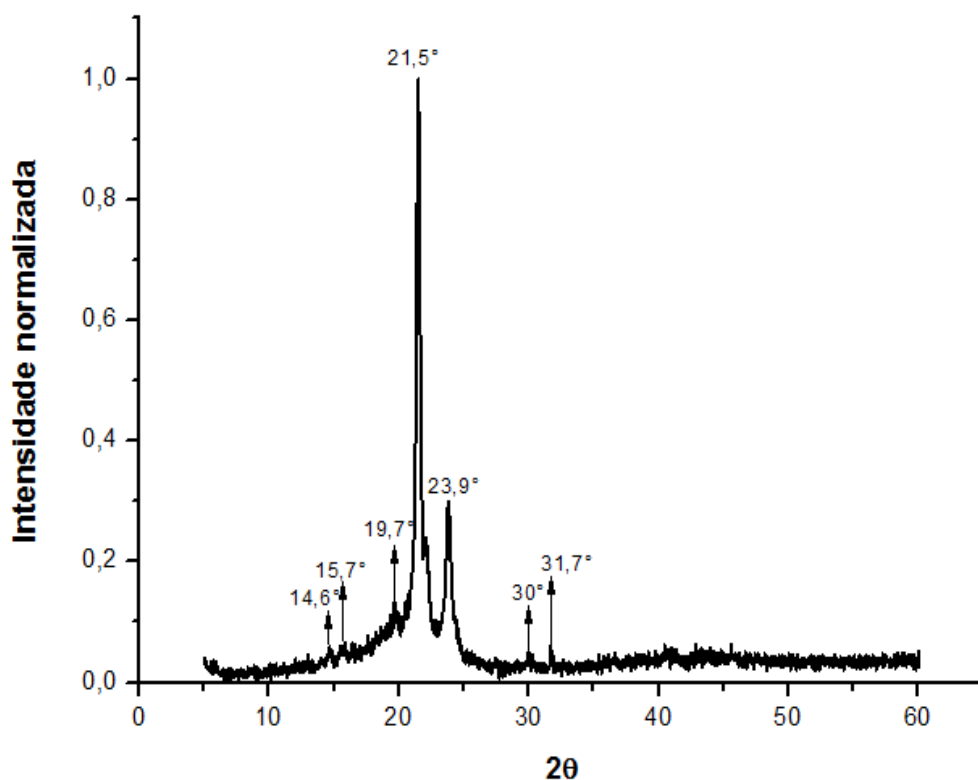
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 79: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO



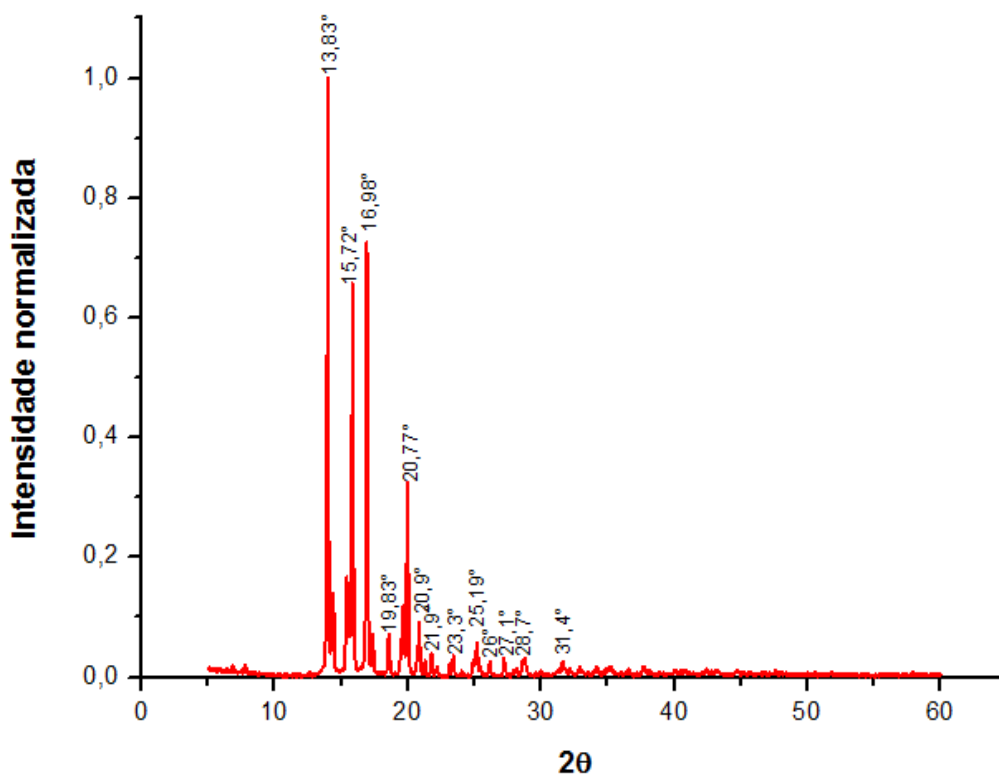
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 80: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + finasterida



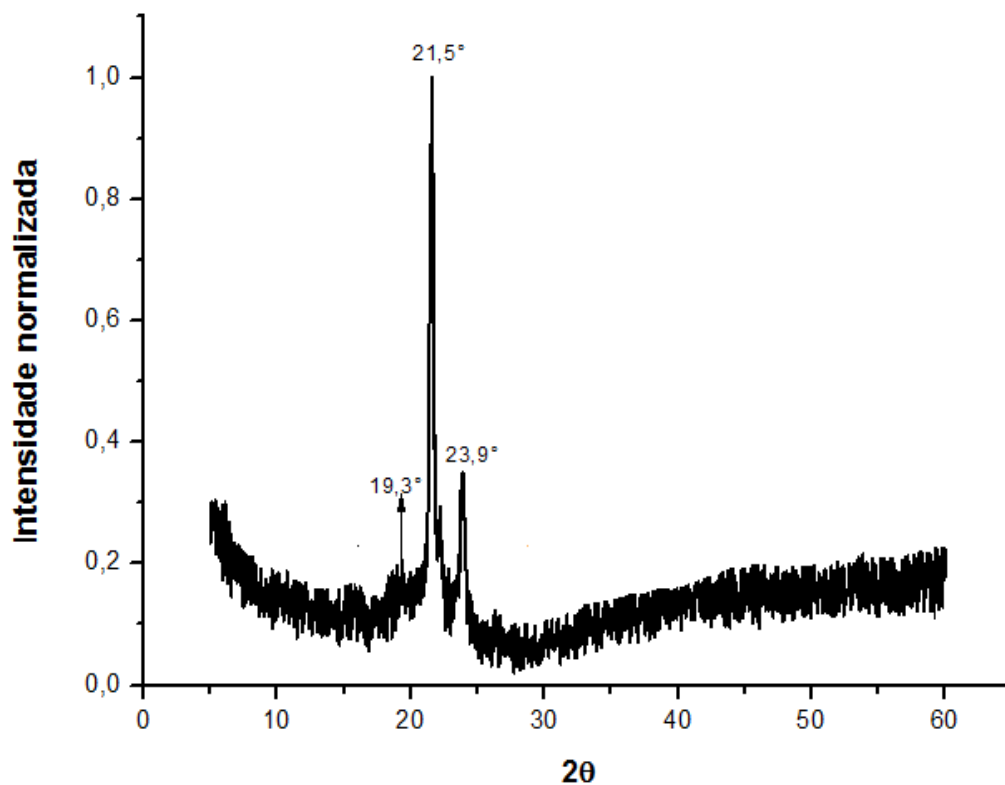
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 81: Difratoograma de raios-X da finasterida



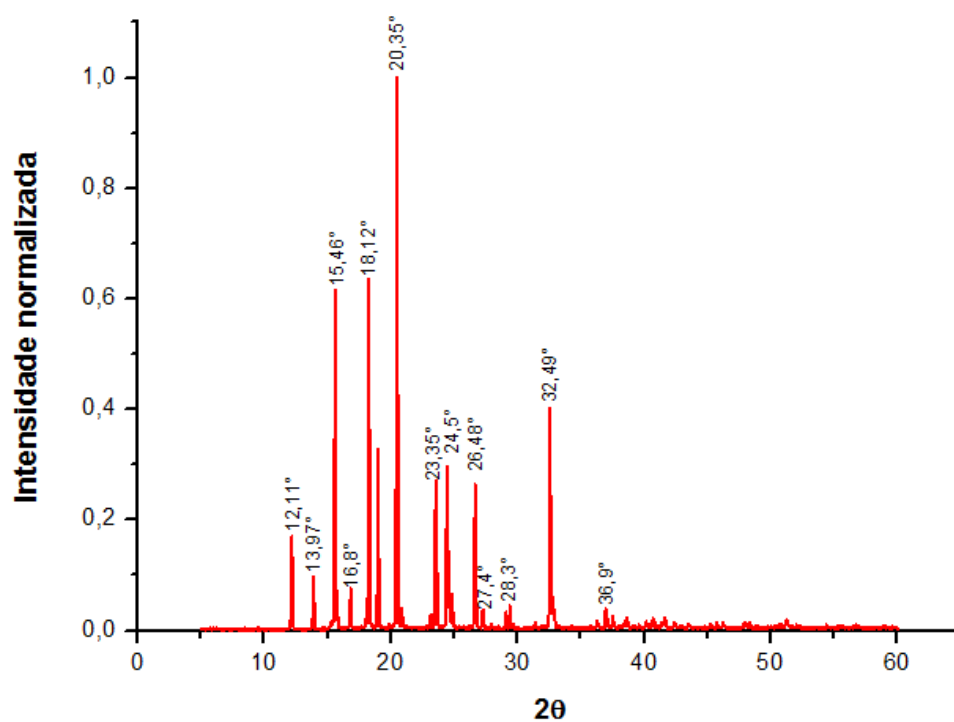
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 82: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + paracetamol



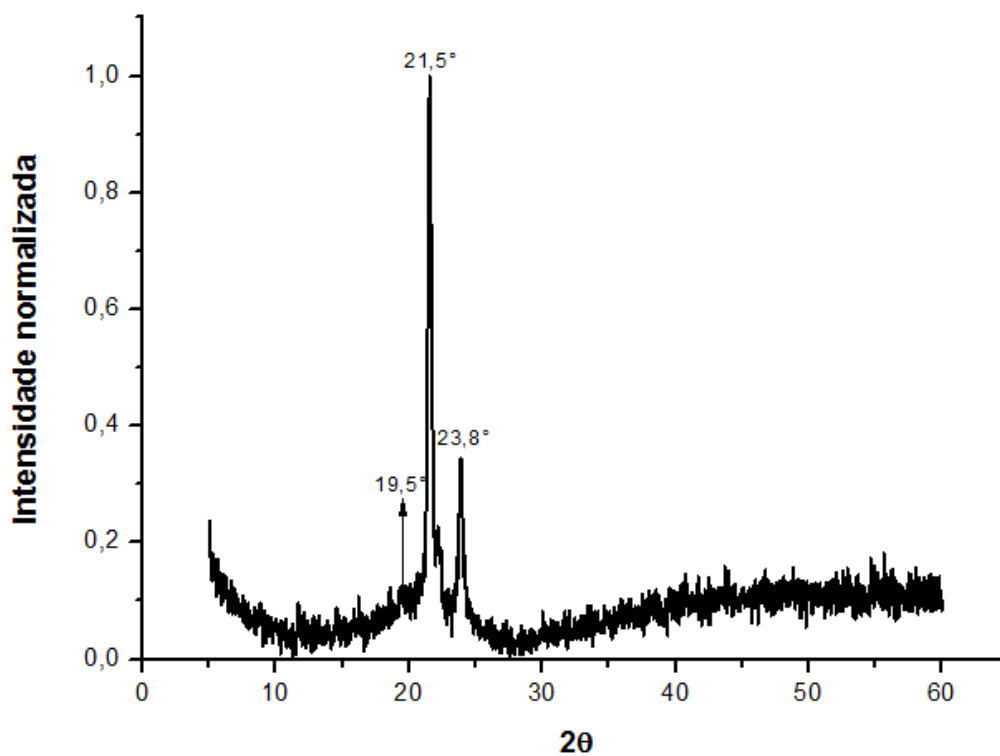
Fonte: Resultado da pesquisa.

Figura 83: Difratoograma de raios-X do paracetamol



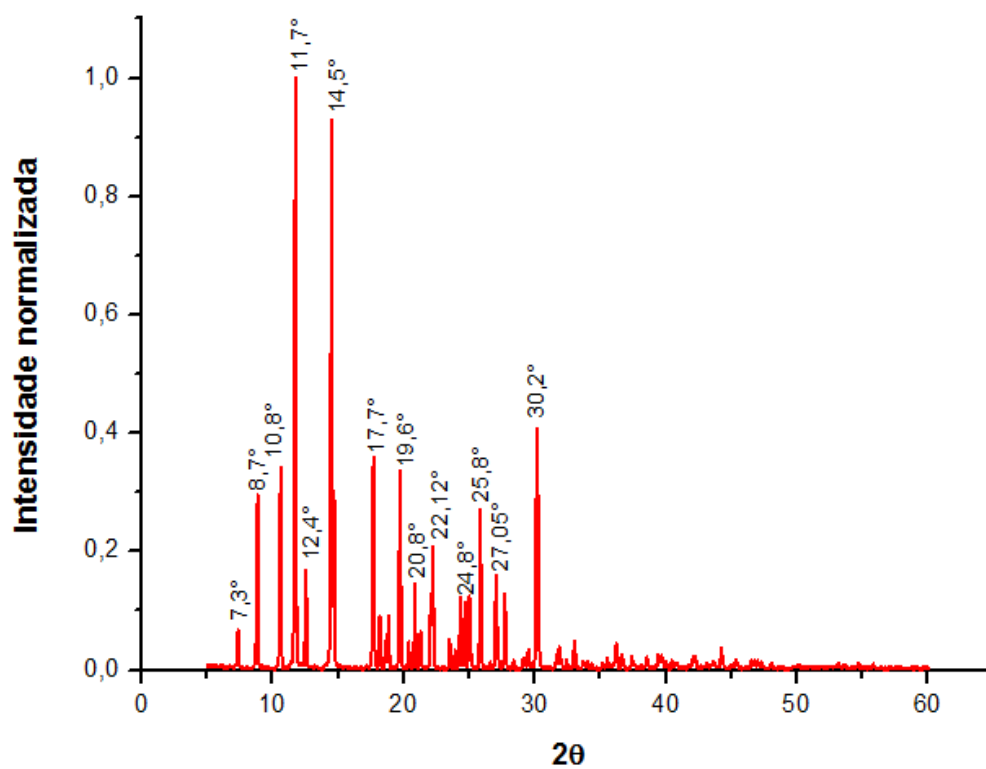
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 84: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + vitamina B2**



Fonte: Resultado da pesquisa.

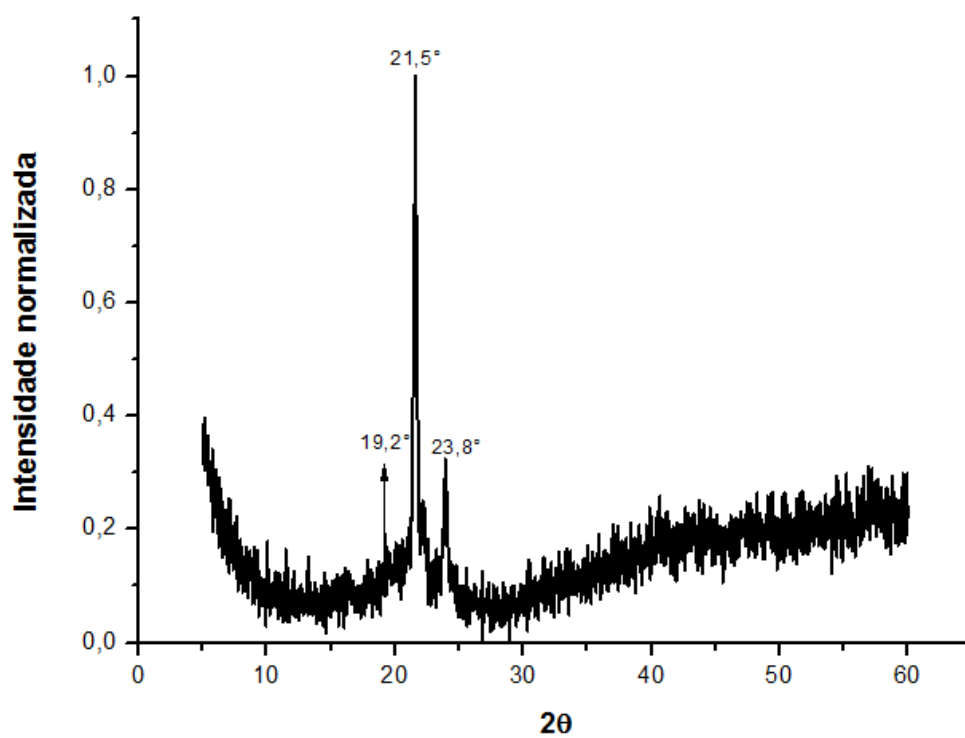
**Figura 85: Difratoograma de raios-X da vitamina B2**



Fonte: Resultado da pesquisa.

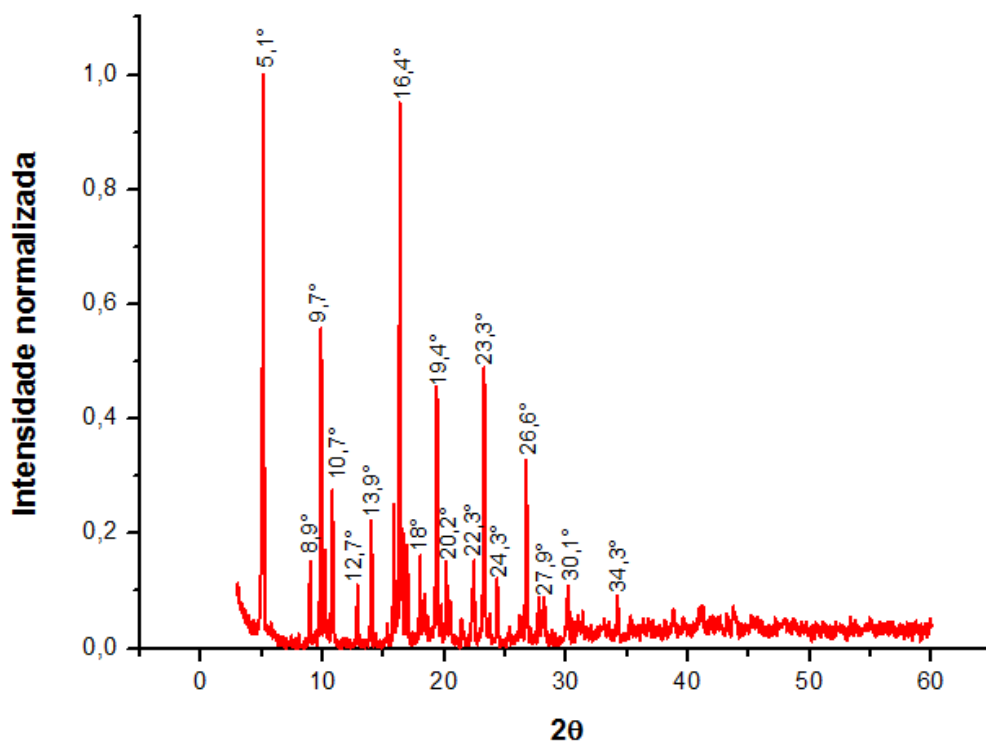


**Figura 86: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + vitamina B5**



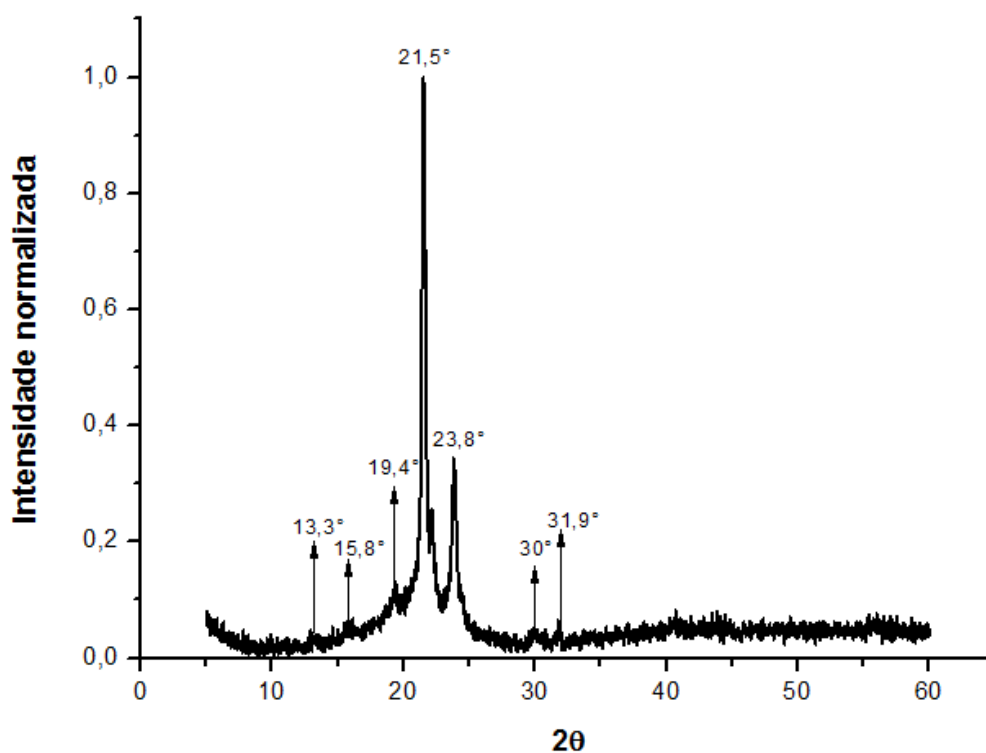
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 87: Difratoograma de raios-X da vitamina B5**



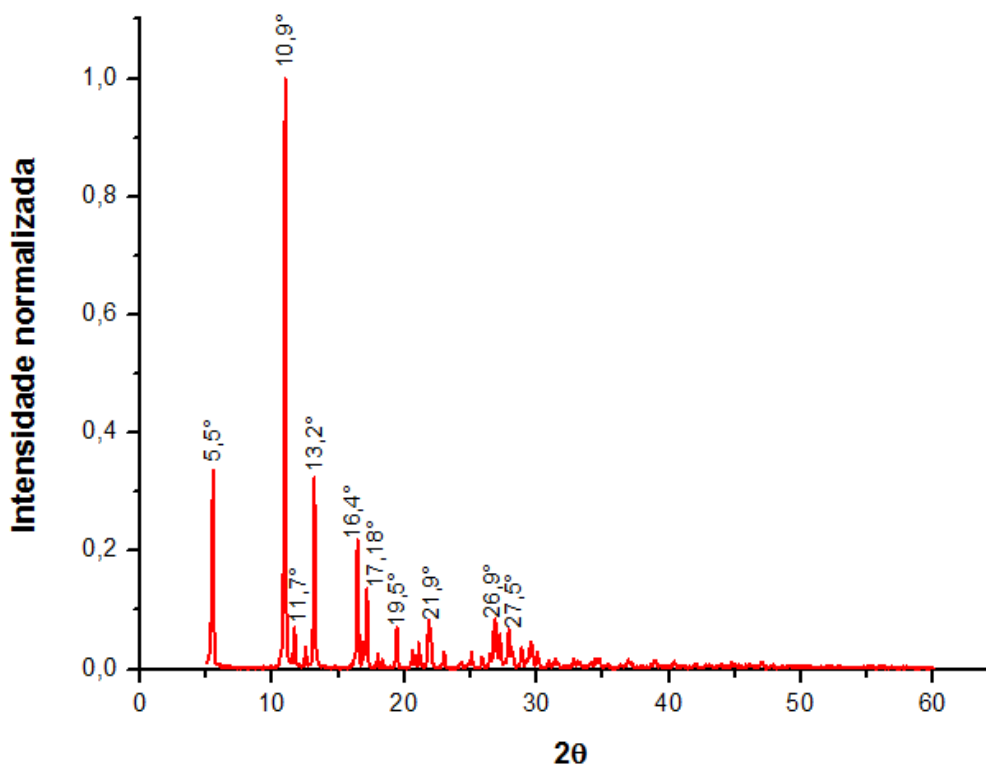
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 88: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + vitamina B9**



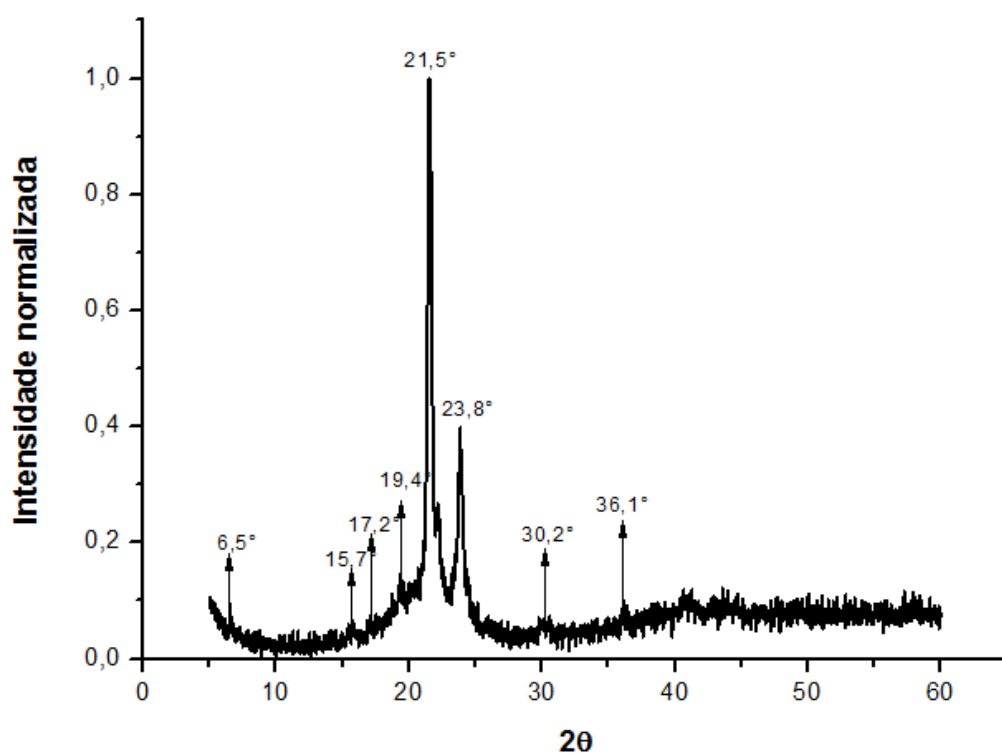
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 89: Difratoograma de raios-X da vitamina B9**



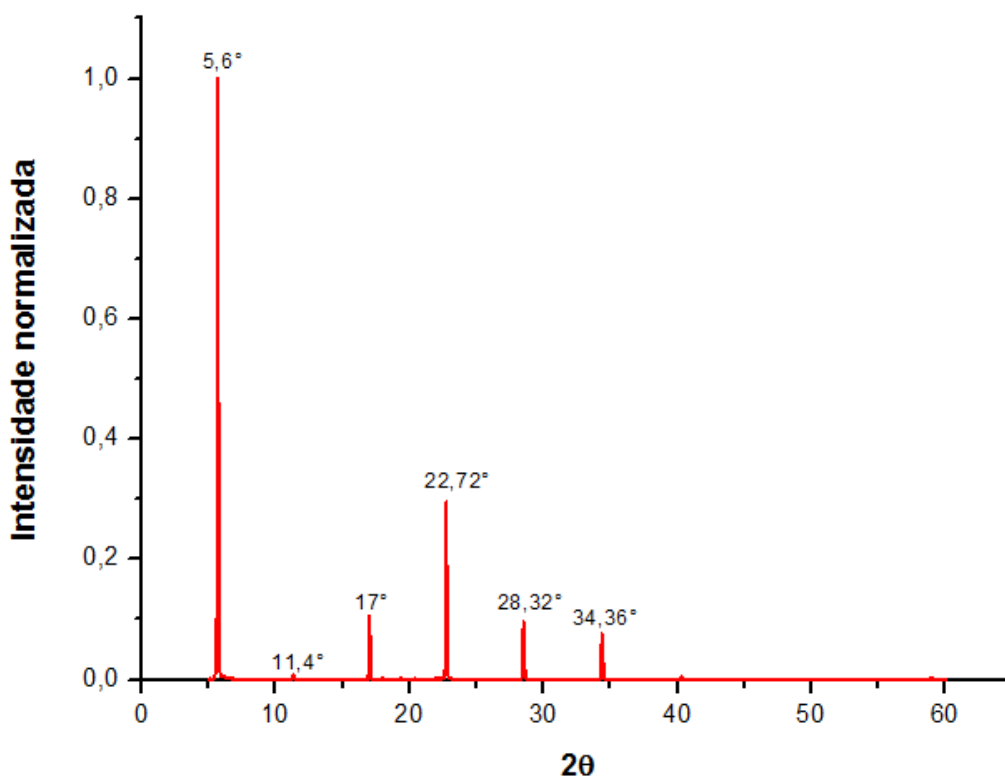
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 90: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + L-fenilalanina**



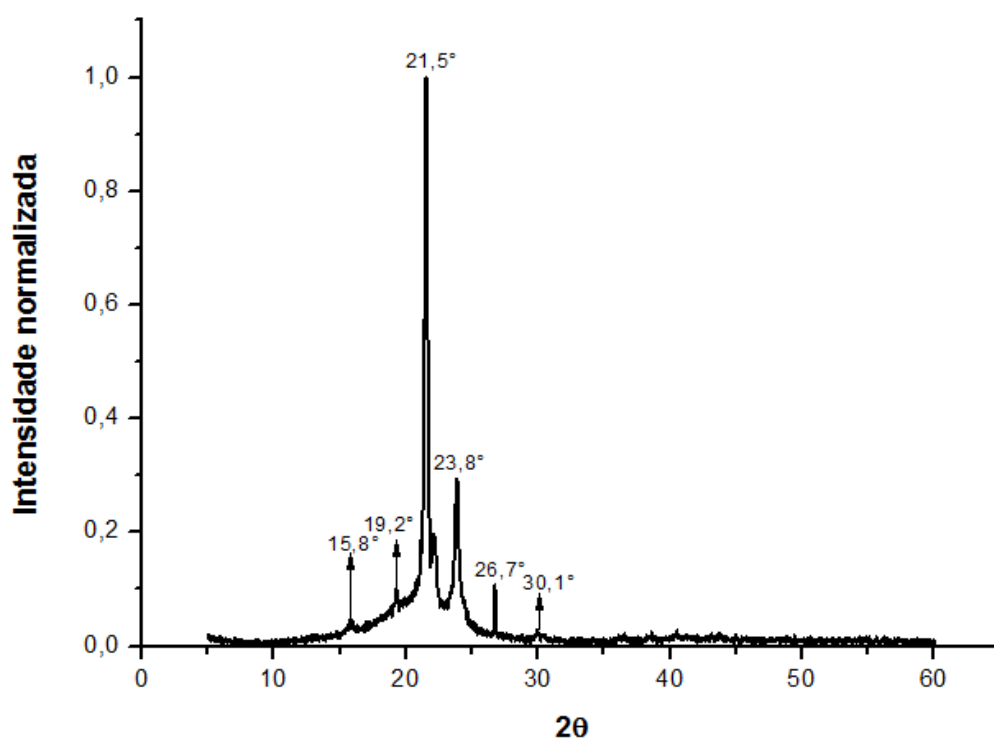
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 91: Difratoograma de raios-X da L-fenilalanina**



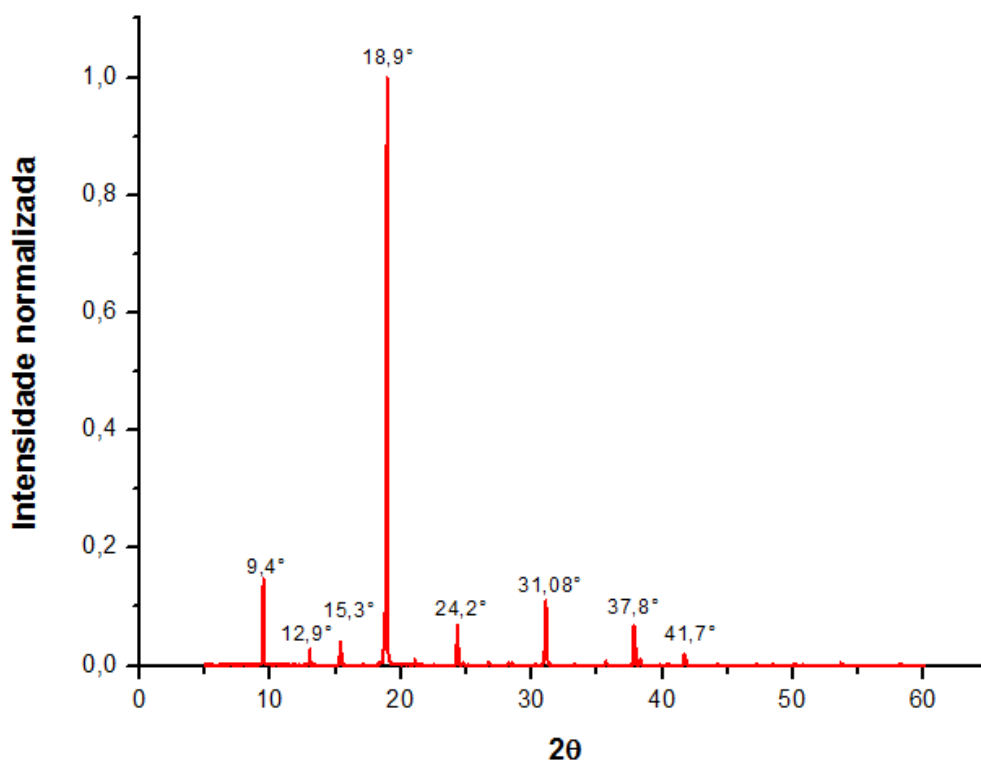
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 92: Difratoograma de raios-X dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO + L-histidina**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 93: Difratoograma de raios-X da L-histidina**



Fonte: Resultado da pesquisa.

O grau de cristalinidade, determinados por DR-X, foram obtidos pelo método de Ruland [1961]. De acordo com a Tabela 26, o percentual de cristalinidade para os tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO não carregados foi em torno de 64,3%, para as fibras contendo os fármacos o grau de cristalinidade foi em média de 76,35%, os da vitaminais variou entre 69 a 78%, enquanto para fibras contendo aminoácidos, foi em torno de 75%. As fibras da blenda ao serem carregada apresentaram um aumento de 12% de cristalinidade. Esse aumento sugere ser devido à contribuição da cristalinidade das cargas. No trabalho de Li e colaboradores (2006), a introdução de uma carga, uma proteína morfogenética óssea, as fibras de PEO/fibroína também aumentaram a cristalinidade.

**Tabela 26: Grau de cristalinidade dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas.**

Tapetes fibrilares	Grau de cristalinidade (%)	Significância
PCL/PEO	64,3 ± 3,0	a
PCL/PEO + finasterida	75,7 ± 5,6	a
PCL/PEO + paracetamol	77,0 ± 3,4	a
PCL/PEO + vitamina B2	72,3 ± 4,2	a
PCL/PEO + vitamina B5	68,7 ± 2,4	a
PCL/PEO + vitamina B9	69,3 ± 5,0	a
PCL/PEO + L-fenilalanina	73,6 ± 7,1	a
PCL/PEO + L-histidina	68,0 ± 2,0	a

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k São referentes a significância.

De acordo com os dados estatístico, na ANOVA os valores apresentados na Tabela 27 foram iguais a 8, 3 e 24, representando os números de tratamento, de repetições e de unidades, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) encontrado foi igual a 39,14% e o do coeficiente de variação (CV) foi de 8,595%.

**Tabela 27: Resultados da ANOVA para grau de cristalinidade dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas.**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	7	384,63	54,95	1,47
Resíduos	16	598,00	33,3750	
Total	23	982,63		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado médio.

Tendo sido determinado o valor de  $F_{\text{calculado}}$  (1,47) menor do que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  para o nível de significância de 5% (2,66) e o valor da diferença mínima significativa ( $\Delta$ ) foi de 17,30%. A partir desses dados, foi empregado o teste de Tukey para avaliar quais pares de médias diferiram estatisticamente entre si. O teste de Tukey não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os valores do grau de cristalinidade dos tapetes fibrilares, visto pelo resultado da significância (Tabela 26).

#### 4.1.3 Caracterização Térmica

##### 4.1.3.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

Na degradação térmica dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com as cargas bioativas (Figura 94) foram observados uma única etapa no perfil da degradação. No trabalho de Dubey e colaboradores (2015), o início da perda de massa, por evaporação do material ou decomposição térmica das fibras de PCL/PEO, foi em torno de 360° C e em uma única etapa. Isto, foi devido a combustão da matriz orgânica PCL/PEO.

Conforme dados da Tabela 28, as temperaturas de degradação variaram entre 339° a 357° C para a temperatura inicial ( $T_i$ ), 404° a 412° para a temperatura de taxa máxima ( $T_{\text{MÁX}}$ ) e 434° a 448° C para a temperatura final ( $T_f$ ). De acordo com o trabalho de Gonçalves (2015), a análise termogravimétrica da blenda PCL/PEO eletrofiada sem aditivo apresentou temperaturas correspondentes.

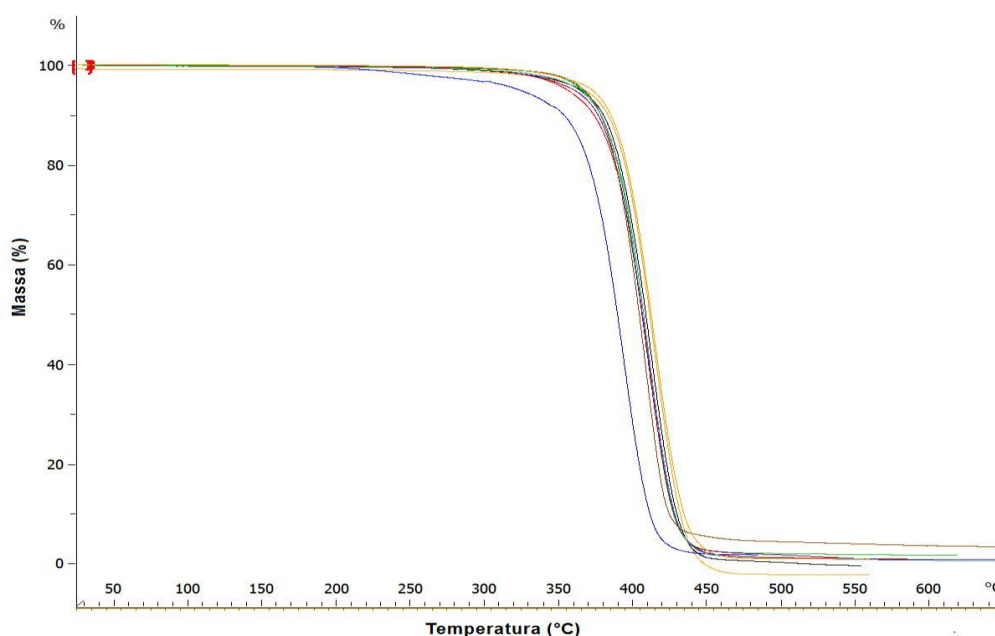
Foi observando também no gráfico que o tapete fibrilar carregado com o paracetamol (azul escuro) apresentou as menores temperaturas, enquanto as fibras carregadas com L-histidina (laranja), as temperaturas foram maiores (Figura

94). As diferenças de temperaturas entre as fibras sem e com as cargas tiveram desvios médios inferiores a  $10^\circ$  ( $T_i = 349 \pm 4,1$ ,  $T_{m\acute{a}x} = 408,8 \pm 2,5$ ,  $T_f = 440,8 \pm 2,7$ ), essas variações podem ser consideradas dentro do erro instrumental do aparelho. Entretanto o tapete fibrilar carregado com o paracetamol apresentou perda de massa primeiro que os demais tapetes, indicando que nesta fibra a estabilidade térmica foi reduzida.

No trabalho de Yu e colaboradores (2015), a presença de 1,5% de doxorubicina e 2% de nanotubos de carbonos nas fibras de PLGA demonstrou perfil de TGA semelhante de aos das fibras do PLGA não carregadas. Contudo, as fibras carregadas aumentaram em 9% a temperatura inicial de degradação. Os autores descreveram que esse aumento sugeria uma melhor estabilidade térmica as fibras com aditivos.

Amn e colaboradores (2013) também relataram diferença na “ $T_i$ ” entre as fibras de PCL puras e as contendo camptotecina (antitumoral). As fibras carregadas foram as primeiras a serem degradadas, sendo então, caracterizadas por uma estabilidade relativamente menor. Deste modo, a introdução do fármaco paracetamol pode ter minimamente afetado a temperatura de degradação da fibra.

**Figura 94: Termogravimetria dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas. Fibra não carregada (preto), Fibra + Finasterida (vermelho), Fibra + Paracetamol (azul escuro), Fibra + vitamina B2 (verde), Fibra + vitamina B5 (roxo), Fibra + vitamina B9 (marrom), Fibra + L-fenilalanina (azul claro), Fibra + L-histidina (laranja)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 28: Temperaturas de degradação térmicas para os tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas**

Tapetes fibrilares	T <sub>i</sub> (°C)	T <sub>máx</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)
PCL/PEO	344,3 ± 2,9	406,3 ± 0,4	439,7 ± 1,0
PCL/PEO + Finasterida	347,3 ± 1,8	405,3 ± 0,4	437,7 ± 1,8
PCL/PEO + Paracetamol	339,0 ± 2,0	404,5 ± 0,9	434,3 ± 0,4
PCL/PEO + Vitamina B2	349,0 ± 5,3	411,7 ± 3,1	442,0 ± 4,0
PCL/PEO + Vitamina B5	354,7 ± 8,4	409,7 ± 2,4	442,3 ± 3,6
PCL/PEO + Vitamina B9	351,7 ± 4,2	410,0 ± 4,0	441,0 ± 3,3
PCL/PEO + L-Fenilalanina	349,3 ± 4,4	411,0 ± 2,0	441,1 ± 1,1
PCL/PEO + L-Histidina	357,0 ± 8,0	412,0 ± 0,7	448,3 ± 1,5

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.3.2 Análise de Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As curvas de DSC analisadas na Figura 95, apresentam conformidades entre as fibras sem e com cargas. Dois picos endotérmicos são identificados nas curvas, sendo o primeiro em torno de 55° C, associado à fusão dos polímeros da blenda e o segundo entre 400° e 450° C, referente a decomposição térmica da blenda (KIM et al., 2007; CORRAL, 2013). Xie e Wang (2006) também não observaram modificação no perfil das curvas de DSC entre as fibras de PLGA pura e as contendo o fármaco paclitaxel (antitumoral). Doustgani (2016) descreveu que a ausência de um pico de fusão característico de doxorubicina na curva de DSC das nanofibras PLA carregadas, representava que a droga tinha sido convertida em fase amorfa e que a totalidade do fármaco foi ligado ao polímero.

O grau de cristalinidade de cada tapete fibrilar foi calculado conforme a equação 13 e utilizando a entalpia de fusão 100% cristalino da PCL = 139,5 J.g<sup>-1</sup> (SHUAI et al, 2001; BARBANTI et al, 2006):

$$X\% = \frac{\Delta H_f}{\Delta H^\circ \cdot W} \times 100 \quad (13)$$

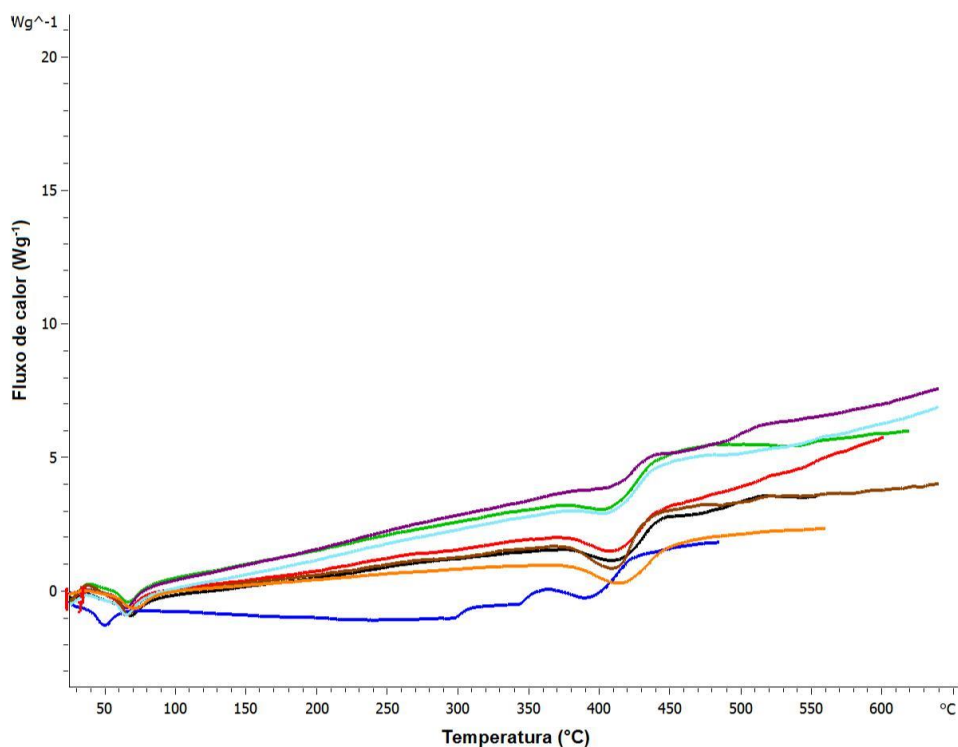
Em que X% é o grau de cristalinidade, ΔH<sub>f</sub> entalpia de fusão da fibra eletrofiada, ΔH° entalpia de fusão 100% cristalino e W é a fração em massa do polímero na blenda.



De acordo com a Tabela 29, o grau de cristalinidade das blendas carregadas foi menor para as fibras contendo as vitaminas B5 e B9. Sugerindo que as cargas alteram a estrutura cristalina dos tapetes fibrilares da blenda, e conseqüentemente, promoveram uma redução no grau de cristalinidade, quando comparada com as fibras não carregadas. No trabalho Cui e colaboradores (2008), a introdução do paracetamol às fibras do copolímero poli (LD-lactídeo)-*b*-poli(etileno glicol) levou ao alinhamento irregular na estrutura polimérica, o que promoveu uma ligeira redução na entalpia.

Amn e colaboradores (2013) também relataram que a tensão interna no alto grau de alinhamento e na orientação na cadeia dos polímeros no processo de *electrospinning*, produzia menor taxa de cristalinidade nas fibras de PCL, quando carregada com camptotecina. Portanto, a presença das vitaminas B5 e B9 nas fibras podem ter modificados o alinhamento cristalino das estruturas dos polímeros, componentes das fibras.

**Figura 95: Calorimetria diferencial de varredura dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas. Fibras não carregadas (preto), Fibras + Finasterida (vermelho), Fibras + Paracetamol (azul escuro), Fibras + vitamina B2 (verde), Fibras + vitamina B5 (roxo), Fibras + vitamina B9 (marrom), Fibras + L-fenilalanina (azul claro), Fibras + L-histidina (laranja)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Tabela 29: Entalpia de fusão ( $\Delta H_f$ ) e grau de cristalinidade (X%) por DSC dos tapetes fibrilares sem e com carga bioativas**

Tapetes fibrilares	$\Delta H_f$ (J.g <sup>-1</sup> )	DSC (X%)
PCL/PEO	- 37,9 ± 1,2	60,3 ± 1,9
PCL/PEO + Finasterida	- 42,3 ± 0,8	67,3 ± 1,2
PCL/PEO + Paracetamol	- 38,6 ± 0,5	61,5 ± 0,8
PCL/PEO + Vitamina B2	- 42,9 ± 1,5	68,3 ± 2,4
PCL/PEO + Vitamina B5	- 35,6 ± 1,3	56,6 ± 2,2
PCL/PEO + Vitamina B9	- 33,5 ± 1,9	53,4 ± 3,1
PCL/PEO + L-Fenilalanina	- 39,8 ± 1,0	63,7 ± 1,6
PCL/PEO + L-Histidina	- 46,5 ± 2,6	74,1 ± 4,1

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.4 Caracterização da superfície

##### 4.1.4.1 Molhabilidade (medida de ângulo de contato)

O teste de molhabilidade foi realizado nos tapetes fibrilares, por ser um parâmetro que influencia na biodegradabilidade e biocompatibilidade do material (AQEEL, MO, 2016). Conforme a dados da Tabela 30 as cargas influenciaram no ângulo de contato, quando comparado com a blenda sem carga, com ângulo médio de 41,7° e desvio médio de 2,7. Esse resultado, não indica diferença significativa, embora sugeriria que houve interferência na hidrofiliicidade. No trabalho de Aqeel e Mo (2016), a presença da vitamina B5 nas fibras de PLGA aumentou ligeiramente a hidrofiliicidade.

Madhaiyan e colaboradores (2013) também analisaram em seu trabalho que as fibras de PCL tinha a natureza hidrofóbica da superfície da fibra gradualmente reduzida, quando foram introduzidos 5% em peso da vitamina B12 (vitamina hidrofílica). Os autores ainda observaram que o interior da amostra continuava lipofílico, assegurando a liberação controlada da carga.

Foi observado entre as fibras carregadas que as contendo as substâncias hidrofílicas, demonstraram menores ângulos, com exceção da fibra contendo o paracetamol, que pode ser explicada pela baixa concentração da droga na fibra, a qual foi de 0,2% (m/m). De acordo com Karuppuswamy e colaboradores (2015), as fibras de PCL contendo cloridrato de tetraciclina (antibiótico) em concentração

progressiva, apresentavam melhor ângulo de contato quando foram carregadas com a maior concentração, ou seja 5% (m/m) da droga.

Também foram analisadas as fibras sem e com as cargas que passaram pela degradação hidrolítica durante 30 dias. Observou-se que as fibras apresentavam um caráter hidrofóbico, o que sugerem que a parte hidrofílica dos tapetes fibrilares foram lixiviados. Os valores se aproximam com determinado para o filme da PCL, o qual a medida do ângulo de contato foi  $70^\circ \pm 9$  (GONÇALVES, 2015).

**Tabela 30: Medida de ângulo de contato das fibras sem e com cargas bioativas.**

Tapetes fibrilares	Ângulo de contato ( $^\circ$ )	
	Antes da degradação	Após degradação
PCL/PEO	$42,6 \pm 3,0^a$	$55,3 \pm 13,3^{a,b,c,d,e,f,g,h}$
PCL/PEO + finasterida	$47,1 \pm 2,6^a$	$86,1 \pm 2,5^i$
PCL/PEO + paracetamol	$46,8 \pm 1,4^{a,b}$	$74,7 \pm 2,0^{i,j}$
PCL/PEO + vitamina B2	$39,3 \pm 2,9^{a,b,c,}$	$75,5 \pm 1,6^{j,k}$
PCL/PEO + vitamina B5	$38,4 \pm 1,5^{a,b,c,d}$	$64,3 \pm 1,0^{b,c,i,j,k,l}$
PCL/PEO + vitamina B9	$42,2 \pm 0,7^{a,b,c,d,e}$	$56,5 \pm 5,2^{a,b,c,d,e,f,h,i,j,k,l,m}$
PCL/PEO + L-fenilalanina	$40,1 \pm 1,9^{a,b,c,d,e,f}$	$75,2 \pm 4,4^{b,c,i,j,k,l,m,n}$
PCL/PEO + L-histidina	$36,9 \pm 6,8^{a,b,c,d,e,f,g}$	$62,5 \pm 1,0^{i,j,k,l,m,n,o}$

Fonte: Resultado da pesquisa.

Segundo dados estatístico, na ANOVA os valores apresentados na Tabela 31 foram iguais a 16, 3 e 48, representando os números de tratamento, de repetições e de unidades, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) encontrado foi igual a 90,08% e o do coeficiente de variação (CV) foi de 11,404%.

**Tabela 31: Resultados da ANOVA para medida de ângulo de contato das fibras sem e com cargas bioativas.**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	15	11524,4	768,3	19,4
Resíduos	32	1269,3	39,7	
Total	47	12793,7		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM = Quadrado médio.

Tendo sido determinado o valor de  $F_{\text{calculado}}$  (19,37) maior do que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  para o nível de significância de 5% (1,992) e o valor da diferença mínima significante ( $\Delta$ ) foi de 19,08%. A partir desses dados, foi empregado o teste de Tukey para avaliar quais pares de médias diferiram estatisticamente entre si.

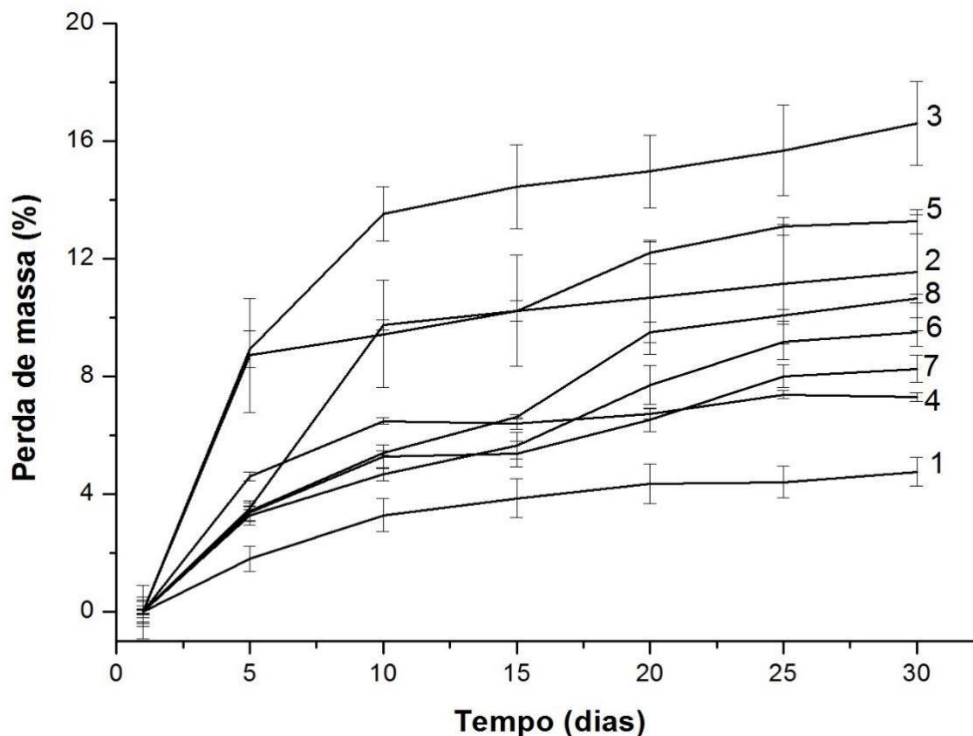
O teste de Tukey não mostrou diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores da medida de ângulo de contato para os tapetes fibrilares carregadas com fármacos antes do processo de degradação, embora, quando comparadas com os tapetes fibrilares pós degradação, foram observadas diferenças estatisticamente significativas. Com relação aos tapetes fibrilares após a degradação, estes apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, principalmente a fibra contendo finasterida, de acordo com a significância da Tabela 30.

#### **4.1.4.2 Degradação hidrolítica**

O perfil de degradação hidrolítica, caracterizado na Figura 96, demonstrou uma degradação acelerada próximo ao décimo dia nas fibras da blenda PCL/PEO sem e com carga bioativa, indicando a lixiviação da parte hidrofílica. Perfil de degradação semelhante ao do trabalho de Gonçalves (2015). Kim e colaboradores (2007) descreveram que após 12 dias de degradação as fibras de PCL/PEO (50:50) apresentavam o peso 55% da massa inicial, revelando que a maior parte do PEO tinha dissolvido no meio e que a PCL tinha permanecido na fibra.

O tapete fibrilar não carregado apresentou o menor percentual de perda de massa (4,76%), enquanto as fibras carregadas demonstraram que houve influência na introdução da substância bioativa, sendo destacado a fibra com o paracetamol, fármaco hidrofílico, que apresentou o percentual de perda de 16,6%. No trabalho de Cui e colaboradores (2008), foi observado que a inserção do grupo acetila, proveniente do paracetamol as fibras de poli(DL-lactídeo)-*b*-poli(etileno glicol) acelerava a degradação. Isso explica também o porquê a vitamina B2, que é uma substância hidrofílica, mas que não após o décimo dia a perda de massa permaneceu praticamente constante.

**Figura 96: Perda de massa por degradação hidrolítica dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO sem e com cargas bioativas. Fibra não carregada (1), Fibra + Finasterida (2), Fibra + Paracetamol (3), Fibra + vitamina B2 (4), Fibra + vitamina B5 (5), Fibra + vitamina B9 (6), Fibra + L-fenilalanina (7), Fibra + L-histidina (8)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

A alteração no pH provocada pela acidificação do meio, devido a liberação da massa da matriz polimérica, oligômero e monômero contendo a carboxila, também é fator que interfere na degradação. Com isso a fibra contendo a vitamina B5, a segunda que mais degradou-se, pode ter sofrido a ação do meio, visto que Ball (2004) e Kelly (2011) relatam que qualquer alteração no pH faz com que ocorra lixiviação da vitamina B5, o que promove a hidrofiliçidade da matriz.

Na Tabela 32, a taxa diária de perda de massa no período de dez dias, tempo em que a quantidade de PEO é insignificante, foi maior, justamente para o tapete fibrilar contendo a vitamina B5. Isto, confirma a interferência da carga na lixiviação da parte hidrofóbica. Por outro lado, o tapete fibrilar sem substâncias bioativas foi o que apresentou a menor taxa diária de perda.

**Tabela 32: Taxa diária de perda de massa dos tapetes fibrilares sem e com cargas bioativas por degradação hidrolítica**

Tapetes fibrilares	Taxa diária de perda de massa (mg/dia)		
	5 dias	10 dias	15 dias
PCL/PEO	0,10	0,06	0,04
PCL/PEO + Finasterida	0,90	0,08	0,04
PCL/PEO + Paracetamol	0,90	0,10	0,09
PCL/PEO + Vitamina B2	0,40	0,07	0,02
PCL/PEO + Vitamina B5	0,30	0,30	0,08
PCL/PEO + Vitamina B9	0,30	0,07	0,10
PCL/PEO + L-fenilalanina	0,30	0,08	0,08
PCL/PEO + L-histidina	0,20	0,10	0,10

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.5 Taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA)

Os tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO na proporção 90:10, apresentaram - se como eficientes componentes da matriz polimérica eletrofiada, para aderência das substâncias bioativas. De acordo com a Tabela 33, as fibras demonstraram mais de 95% de eficiência na aderência as cargas, sendo a menor para fibras contendo o paracetamol. A quantidade de cargas não inseridas nas fibras indicam que houve aderência irregular na matriz polimérica, embora as cargas não encapsuladas tiveram os percentuais insignificantes (QI et al., 2008). As micrografias por MEV apresentadas na seção 4.1.1, mostram as partículas das substâncias bioativas que não foram inseridas nas superfícies das fibras.

No trabalho de Madhaiyane colaboradores (2013), a taxa de eficiência das fibras eletrofiadas de PCL carregadas por vitamina B12 foi em média de 93%, próxima aos valores determinados para os tapetes fibrilares contendo as vitaminas do complexo B.

Em relação as fibras contendo o fármaco hidrofílico, o paracetamol, a taxa de eficiência de aderência foi correspondente ao encontrado por Xu e colaboradores (2009), que foi de 90,6% para as fibras do copolímero PEG-*b*-PLA (10:90) carregadas por doxorubicina, droga solúvel em água. Enquanto, para as fibras contendo droga hidrofóbica, como a finasterida, o trabalho de Ranganath e Wang (2008) apresentaram os resultados de 98% de eficiência para as fibras de

PLGA carregadas por paclitaxel, sendo também semelhante ao resultado descrito na Tabela 33.

Portanto, a eficiência da aderência das cargas as fibras são dependentes da escolha dos biomateriais poliméricos adequados, visto que a natureza das substâncias não modifica a taxa de eficiência, sendo observado nos trabalhos que as fibras de polímeros hidrofóbicos seguraram a substâncias.

**Tabela 33: Taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA)**

Tapetes fibrilares	% EE	Significância	
PCL/PEO + Finasterida	99,0 ± 0,3	a	b
PCL/PEO + Paracetamol	96,0 ± 1,0		
PCL/PEO + Vit. B2	99,2 ± 0,4	a	
PCL/PEO + Vit. B5	98,1 ± 0,1	a	
PCL/PEO + Vit. B9	99,2 ± 0,3	a	
PCL/PEO + L-Fenilalanina	99,6 ± 0,2	a	
PCL/PEO + L-histidina	99,1 ± 0,2	a	

Fonte: Resultado da pesquisa.

De acordo com os testes estatísticos, o teste de Tukey indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores da taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras, com exceção do tapete fibrilar carregado com paracetamol, conforme a significância (Tabela 33). O tapete contendo o fármaco foi o que apresentou menor eficiência.

Na ANOVA dos dados, cujos os resultados são apresentados na Tabela 34, os números de tratamento, de repetições e de unidades foram iguais a 7, 3 e 21, respectivamente. O valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi igual a 82,85% e o valor do coeficiente de variação (CV) foi de 0,651%.

**Tabela 34: Resultados da ANOVA para taxa de eficiência da aderência da carga bioativa nas fibras (%EA)**

Causa da variação	GL	SQ	QM	F <sub>calculado</sub>
Tratamento	6	27,88	4,65	11,28
Resíduos	14	5,77	0,4121	
Total	20	33,65		

Fonte: Resultado da pesquisa.

Obs.: GL = Graus de Liberdade, SQ = Soma dos Quadrados, QM= Quadrado médio.

Sendo o valor de  $F_{\text{calculado}}$  (11,28), maior do que o valor do  $F_{\text{crítico}}$  para o nível de significância de 5% (2,85) e o valor da diferença mínima significante ( $\Delta$ ) foi de 1,79%.

#### 4.1.6 Taxa de liberação *in vitro*

Na confecção dos tapetes fibrilares carregados com substâncias bioativas para o teste da liberação *in vitro*, foram utilizados 1,3 g da blenda PCL/PEO (90:10) e 26 mg das cargas. Durante o período de 30 dias os tapetes fibrilares da blenda liberaram menos de 50% das cargas, principalmente hidrofílicas, com exceção das fibras contendo a L-histidina, a qual foi liberada mais de 75% (Figura 97). Segundo Llorens e colaboradores (2013), que trabalharam com a vitamina B6 e polifenóis nas fibras PLA, a diferença na liberação era devido ao tamanho das partículas, ao formato dos cristais e as interações químicas entre o meio; não associado a solubilidade das substâncias.

A taxa de liberação de todas as cargas foi acentuada nos cinco primeiros dias, após o décimo dia, em que, de acordo com Kim e colaboradores (2007), fica retido a parte hidrofóbica na fibra, a liberação das cargas tende a ser estabilizar o que sugere que as matrizes poliméricas eletrofiadas é que determinarão a velocidade da taxa de liberação, tendo por isso ampla aplicabilidade em tecnologia de libertação controlada (KENAWY et al., 2002).

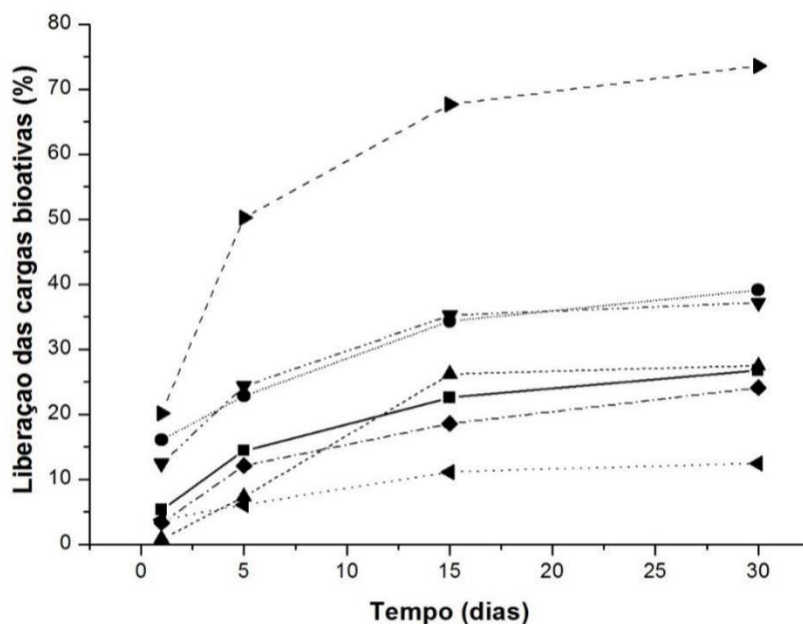
No trabalho de Qi e colaboradores (2008), a liberação do paracetamol foi mais significativa nas fibras de PLA-*b*-PEG, do que as fibras de PLA, sendo a atribuição a eficiência ao segmento hidrofílico da matriz. Xu e colaboradores (2009) relataram que um dos fatores que aumentou a liberação das drogas paclitaxel e doxorrubicina dos tapetes fibrilares PEG-*b*-PLA foi a presença do PEG, pois o polímero causa bloqueio das moléculas de água, fazendo com que as moléculas difundam para o interior das fibras, resultando em mais oportunidades para que as moléculas de fármaco entrem em contato com o meio aquoso.

Assim sendo conforme o estudo, a taxa de liberação *in vitro* das cargas bioativas foi acentuada progressivamente em torno do quinto dia de teste, apresentando retardamento na liberação após a lixiviação do segmento polimérico hidrofílico. Além disso, o tamanho e o formato das partículas e as interações



químicas, entre o meio e as moléculas das substâncias, influenciam no perfil de liberação.

**Figura 97: Liberação *in vitro* dos tapetes fibrilares da blenda PCL/PEO com cargas bioativas. Fibra + Finasterida (—■—), Fibra + Paracetamol (—●—), Fibra + vitamina B2 (—▲—), Fibra + vitamina B5 (—▼—), Fibra + vitamina B9 (—◆—), Fibra + L-fenilalanina (—◀—), Fibra + L-histidina (—▶—)**



Fonte: Resultado da pesquisa.

A partir do perfil de liberação foi calculada a dose diária de cada substância nos intervalos de 5, 10 e 15 dias (Tabela 35). Para os fármacos, as doses da finasterida e do paracetamol foram inferiores as doses recomendadas para as formas convencionas, sendo de 1 a 5 mg/dia para finasterida e 500 e 2000 mg/dia para o paracetamol (ANDRIOLE et al., 2005). Entre as vitaminas as doses foram inferiores para vitamina B2 e B5, que, de acordo com Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2004), as doses recomendadas são de 1,3 e 5 mg/dia, respectivamente. Contudo a vitamina B9 apresentou nos 5 primeiros dias doses diária próximo ao recomendado, que é de 0,4 mg/dia (ANVISA, 2004).

Em relação aos aminoácidos essenciais, L-fenilalanina e L-histidina, as doses estiveram bem abaixo do determinado para administração diária, que são de 50 a 500 mg/dia de L-fenilalanina e 100 a 150 mg/dia para L-histidina (MARQUEZ et al., 1997; BATISTUZZO, 2000). Essas subdoses provenientes da quantidade de 2% das cargas nas fibras, foram utilizadas a nível de pesquisa, conforme dados encontrados na literatura que foram de 0,5 a 5% de aditivos introduzidos nos

tapetes fibrilares (KIM et al., 2004; ZENG et al., 2005; RUSSO, LAMBERT, 2011; KARUPPUSWAMY et al., 2015). Todavia, a perspectivas futuras para uso em teste *in vivo* implicará em ajuste das doses, para que sejam observados os efeitos terapêuticos.

**Tabela 35: Dose diária estabelecidas dos tapetes fibrilares carregadas com as substâncias bioativas**

Tapetes fibrilares	Dose diária (mg/dia)		
	1 - 5 Dias	5 - 15 Dias	15 – 30 Dias
PCL/PEO + Finasterida	0,75	0,21	0,07
PCL/PEO + Paracetamol	1,2	0,3	0,09
PCL/PEO + Vitamina B2	0,4	0,5	0,03
PCL/PEO + Vitamina B5	1,3	0,3	0,03
PCL/PEO + Vitamina B9	0,6	0,17	0,09
PCL/PEO + L-fenilalanina	0,3	0,13	0,02
PCL/PEO + L-histidina	2,6	0,5	0,1

Fonte: Resultado da pesquisa.

#### 4.1.7 Efeito da irradiação gama na radioesterilização, detectado por CLAE nas substâncias bioativas

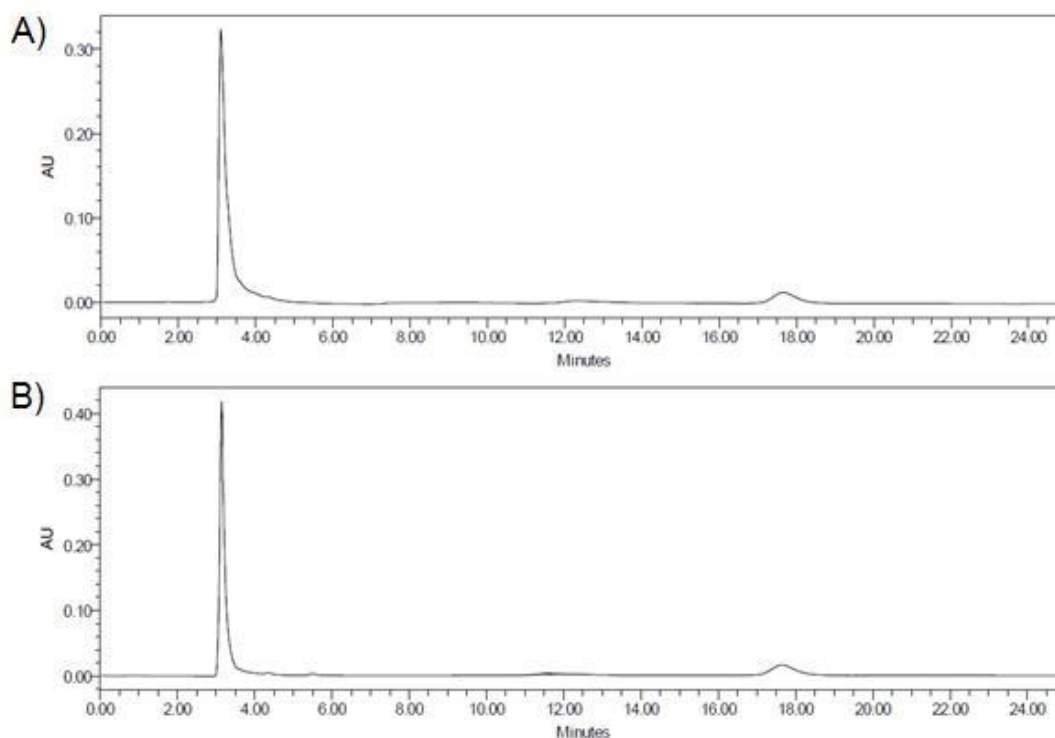
A radiação gama, dose 25 kGy, foi aplicada como técnica de radioesterilização para as substâncias bioativas que serão incorporadas nas fibras. A dose de radiação seguiu os padrões da Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Ao término da radiação foram analisadas cada substância por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para detecção dos efeitos radiolíticos.

As amostras vitaminas B2 e B9 e a L-fenilalanina não apresentaram modificações, quando comparadas com os cromatogramas das amostras não irradiadas (Figuras 98, 100 e 101). Essa observação também foi descrita no trabalho de Mansour e colaboradores (2014) em que os autores relataram que a estrutura química da vitamina B2 era estável e não rompia as ligações químicas sob exposição a raios gama até 50 kGy.

Nas amostras vitamina B5 e L-histidina os resultados identificados não foram confiáveis (Figuras 99 e 102), visto que a coluna C<sub>18</sub>, usada como fase

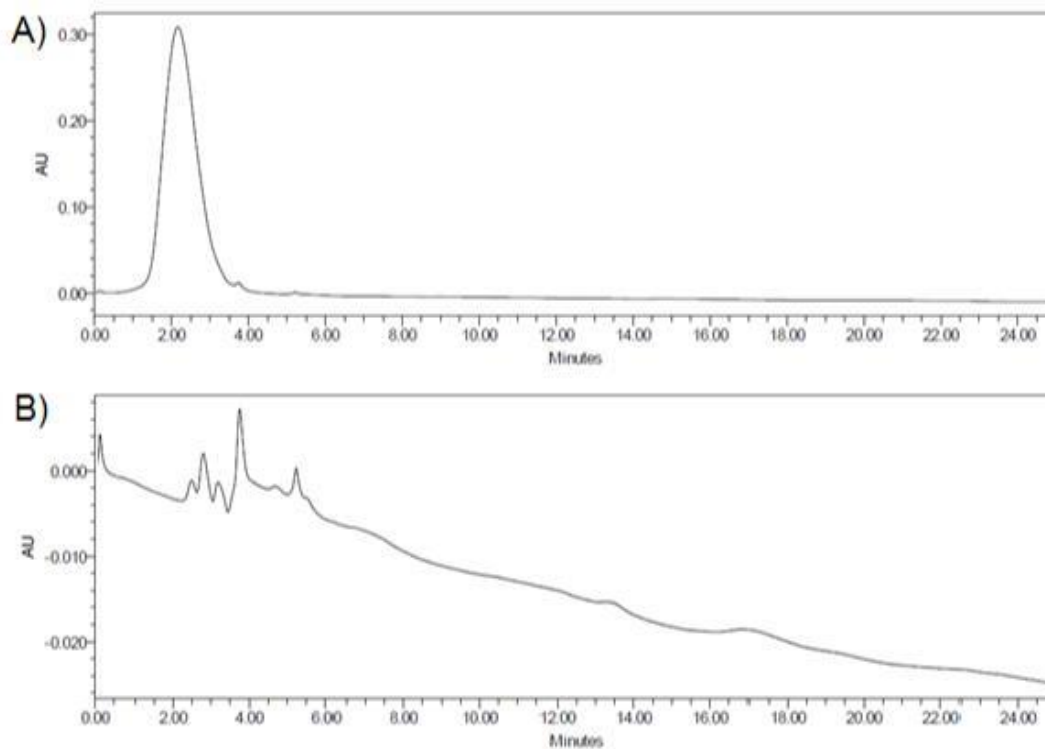
estacionaria, não é indicada para estruturas sem grupos aromáticos. A finasterida e o paracetamol foram analisados após radiação gama em micelas, sendo reproduzidos esses resultados. A finasterida, conforme a Figura 48 demonstrou presença de subprodutos em seu pico característico de retenção. Enquanto, o paracetamol representado na Figura 49, não alterou a estrutura pós radioesterilização gama. Portanto, entre as setes substâncias bioativas utilizadas na produção dos tapetes fibrilares para uso em liberação controlada, quatro (paracetamol, L-fenilalanina e as vitaminas B2 e B9) não apresentaram produtos radiolíticos.

**Figura 98: Cromatograma por CLAE da vitamina B2. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada**



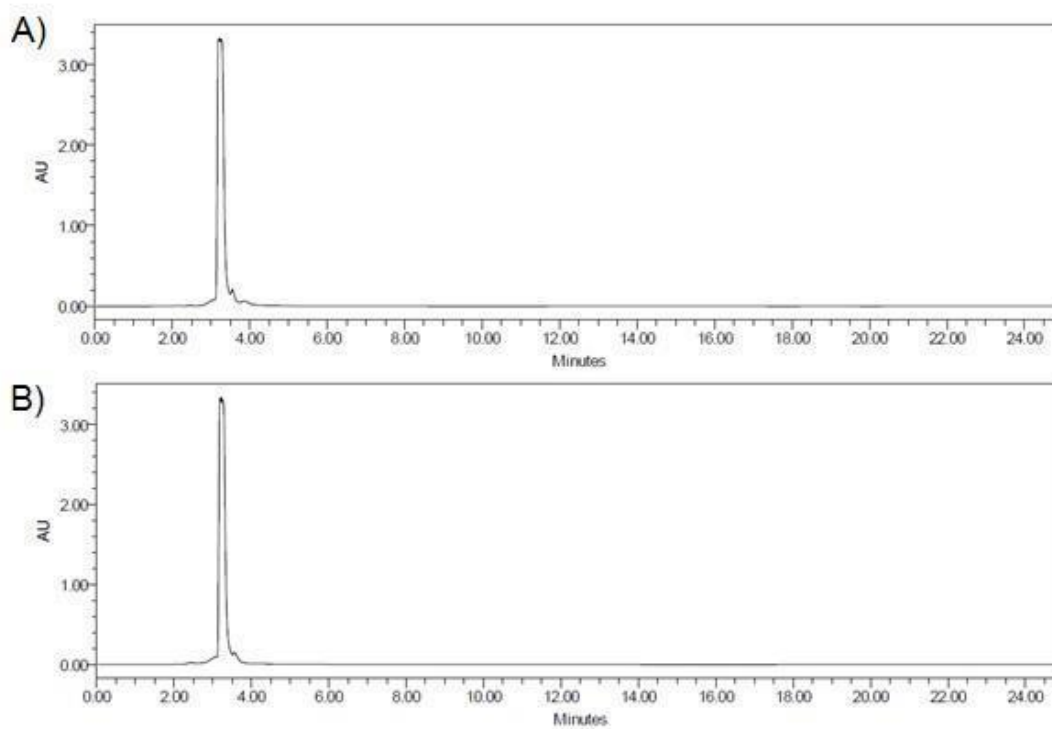
**Fonte: Resultado da pesquisa.**

**Figura 99: Cromatograma por CLAE da vitamina B5. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada**



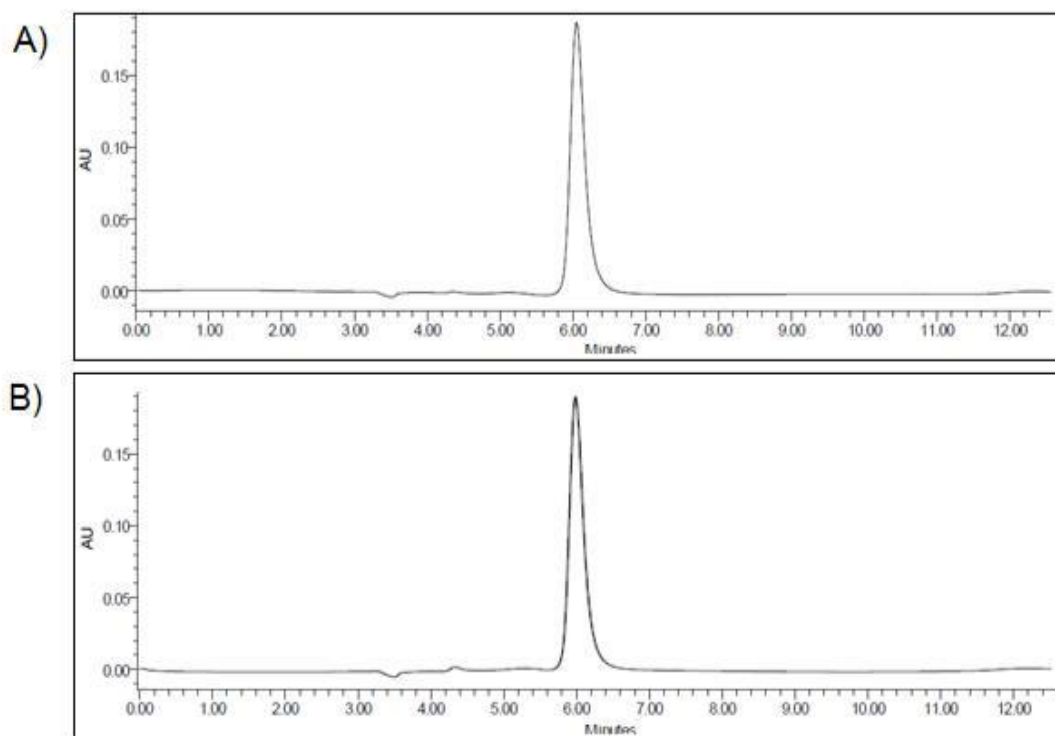
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 100: Cromatograma por CLAE da vitamina B9. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada**



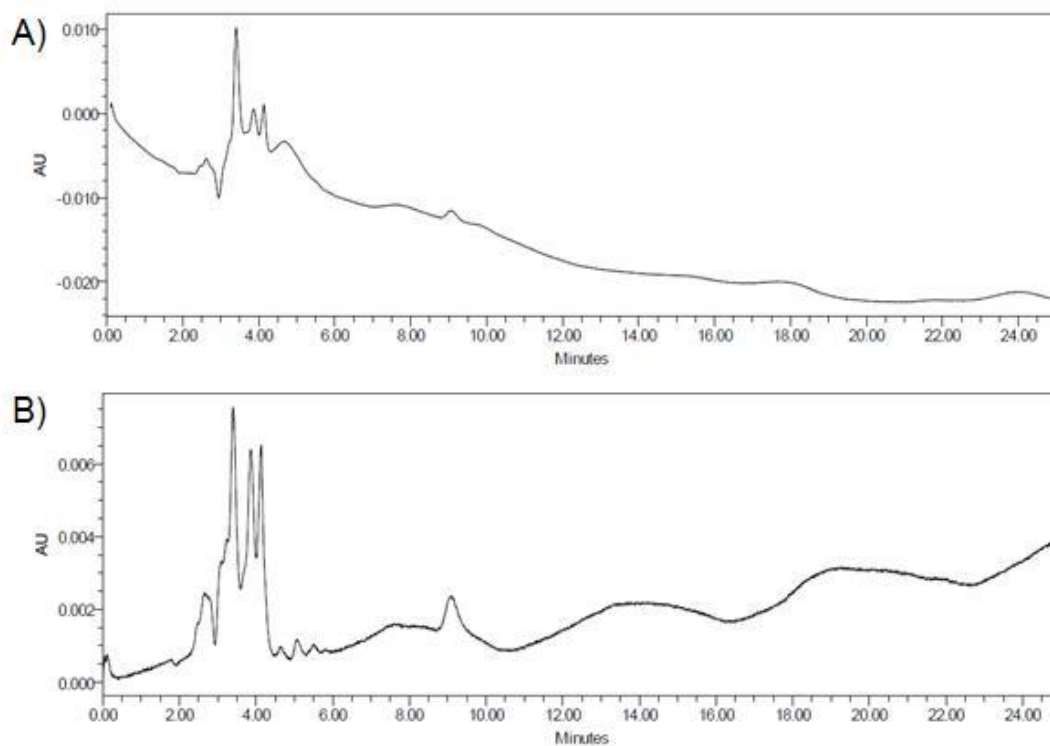
Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 101: Cromatograma por CLAE da L-fenilalanina. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada**



Fonte: Resultado da pesquisa.

**Figura 102: Cromatograma por CLAE da L-histidina. A) Amostra não irradiada, B) Amostra irradiada**



Fonte: Resultado da pesquisa.

## 5. CONCLUSÃO DOS TAPETES FIBRILARES

- Nas Micrografias por MEV forma identificados as fibras em escala sub e macrométricas (0,49 a 9  $\mu\text{m}$ ). Foram observados também a presença de partículas das substâncias bioativas, indicando a irregularidade no encapsulamento;
- Nos difratogramas dos tapetes fibrilares carregados, houve pequenos deslocamentos em relação a fibras não carregadas. Esses deslocamentos, que são aumento das distâncias interplanares, resultaram da microtenção promovida pelas cargas aos cristais dos polímeros componentes da blenda;
- Os graus de cristalinidade do DR-X das fibras carregadas, calculadas por meio do método de Ruland (1961), foram superiores ao da fibra não carregada, afirmando que a presença das substâncias interferiu no arranjo cristalino da blenda;
- As análises térmicas por TGA das fibras carregada, não apresentaram diferenças significativas de temperaturas de degradação em relação as fibras carregadas. Embora, as fibras contendo o paracetamol teve a temperatura inicial de degradação menor que as outras, ou seja, o paracetamol interfere na degradação. Nos gráficos do DSC, a temperatura de fusão também reduzida nas fibras contendo a droga, resultado que corresponde com do TGA;
- Os graus de cristalinidade determinado por DSC foram inferiores aos encontrados por DR-X, visto que os resultados são uma estimativa. Por DSC as fibras contendo as vitaminas B5 e B9 apresentaram cristalinidade menor que as fibras sem a cargas, indicando que os cristais das substâncias provocaram tensão interna no grau de alinhamento e na orientação das cadeias dos polímeros, durante o processo eletrofiação. Isto, ocasionou a redução da cristalinidade;
- As fibras formadas pela blenda PCL/PEO (90:10) sem e com as cargas, através da medida de ângulo de contato demonstraram-se mais hidrofílicas que as fibras analisadas após os 30 dias de degradação hidrolítica. Isto, porque a partir do décimo dia a porção hidrofílica da fibra é lixiviada, permanecendo na matriz apenas a parte hidrofóbica. Na degradação hidrolítica as fibras carregadas com substâncias que tem em sua estrutura molecular o grupo acetila, foram as que mais se degradaram, pois a liberação do próton hidrogênio no meio em que estão inseridas promove a autocatálise;

- Os tapetes fibrilares apresentaram uma elevada taxa de eficiência de encapsulamento em que partículas não inseridas podem ser observadas nas micrografias por MEV. A solubilidade das substâncias bioativas não influenciaram na taxa, porém as do material polimérico sim;
- A taxa de liberação *in vitro* foi inferior a 50% para as fibras carregadas, com exceção das fibras contendo L-histidina. A elevada taxa de liberação da L-histidina pode ser atribuída ao tamanho e formato dos cristais e as interações químicas entre a carga e matriz polimérica, pois a taxa foi independente a solubilidade das substâncias;
- Por fim, a radioesterilização por radiação gama não produziu subprodutos no paracetamol, L-fenilalanina e nas vitaminas B2 e B9.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentou resultados positivos nos quais os copolímeros sintetizados serviram como materiais para confecção das micelas copoliméricas. Os copolímeros com baixo peso molecular, em destaque os copolímeros estrelas, foram os que formaram micelas com maior estabilidade, embora os tamanhos dos diâmetros foram maiores. Entretanto, o tamanho permanece dentro do estabelecido para as administrações parenterais. O copolímero estrela sorbitol-*b*-((±)-P(3-HB)<sub>6</sub> teve uma cristalinidade de 10%, caracterizando como estrutura amorfa, o que é ideal para uma melhor absorção no organismo vivo.

As micelas copoliméricas alcançaram estabilidade com o uso do tensoativo dodecil sulfato de sódio, um agente aniônico. Estas encapsularam mais de 85% dos fármacos introduzidos, o que é vantagem na biodisponibilidade da droga. A taxa de liberação demonstrou-se crescente nos primeiros dez dias, e, logo em seguida, a taxa se tornou constante. Isto é um fator positivo, principalmente para futuros estudos com antibióticos, em que é necessário um efeito inicial da dose nos primeiros dias.

Os tapetes fibrilares foram confeccionados como um modelo de sistema de liberação controlada, porque além das vantagens apresentadas para os nanodispositivos, as fibras superam as micelas por não formarem agregados, não precipitarem e não formarem flocos. As fibras formadas tiveram diâmetros menores que 10 µm, o que os tornam úteis para uso em implantáveis. As cargas bioativas foram bem inseridas nas fibras e em pH neutro se degradaram rapidamente nos cinco primeiros dias, depois tanto a degradação da matriz como a liberação das cargas tenderam a estabilizar. Esse perfil mostra-se benéfico para utilização como suplemento nutricional, visto que a carência das vitaminas e dos aminoácidos essenciais, principalmente em prisioneiro de guerra, seriam supridas nos primeiros dias, e em seguida, a liberação seria controlada.

Ambos os dispositivos apresentam resistências à radiação gama por meio do processo de radioesterilização na maioria das substâncias bioativas inseridas. Com isso, conclui que os dispositivos demonstraram bastante promissores, principalmente para futuros resultados *in vivo*. Tendo ainda perspectivas para desenvolvimento de dispositivos com mais de uma carga bioativa inserida e tapetes fibrilares com dupla camada polimérica para tratamentos mais prolongado.



## PERSPECTIVAS FUTURAS

- Análise da Concentração Micelar Crítica nas micelas copoliméricas, usando como o coeficiente de absorção molar do pireno =  $1,67 \times 10^7 \text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ .
- Realização do teste de citotoxicidade dos dispositivos confeccionados; Realização do teste *in vivo*;
- Confeção de micelas e tapetes fibrilares inseridos com mais de uma substância bioativa;
- Confeção dos dispositivos com outros fármacos, principalmente antibióticos e quimioterápicos;
- Fabricação de tapetes fibrilares em escala nanométrica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAHMED, T. Preparation of finasteride capsules-loaded drug nanoparticles: formulation, optimization, in vitro, and pharmacokinetic evaluation. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 515–527, 2016.

ABRANTES, L.; KONSTATIN, M. Ressonância magnética nuclear – ferramenta versátil em química farmacêutica e imagiologia médica. **Química**, v. 117, 2010.

ABRUZZO, A.; CERCHIARA, T.; BIGUCCI, F.; GALLUCCI, M. C.; LUPPI, B. Mucoadhesive buccal tablets based on chitosan/gelatin microparticles for delivery of propranolol hydrochloride. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4365-4372, 2015.

ABUHANOĞLU, G.; OZER, A.Y. Radiation sterilization of new drug delivery systems. **Interventional Medicine & Applied Science**, v. 6, n. 2, p. 51–60, 2014.

ADAMS, H.R. Farmacologia e terapêutica em veterinária. 8.ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 1034, 2003.

ADKINSON, L.R.; BROWN, M.D. **Genética Elsevier**, p. 281, 2008.

AJINOMOTO, 2016.

<<http://www.aminoscience.com.br/farmaceuticos/aminoacidos/histidina-v2.pdf>>.

Acessado no dia 29 de setembro de 2016, as 23h.

AKINTERINWA, O., et al. Metabolic engineering for bioproduction of sugar alcohols. **Curr Opin Biotechnol.**, v.19, n. 5, p. 461-7. 2008.

AKOH, C.C.; SWANSON, B.G. Preparation of Trehalose and Sorbitol Fatty Acid polyesters by Interesterification. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 66, n. 11, 1989.

ALBERTO, S.F.; PIRES, S.S.; FIGUEIREDO, A.; DEUS, J.R. Insuficiência Hepática Aguda. **Acta Med. Port.**, v. 22, n. 6, p. 809- 820, 2009.

ALBUQUERQUE, C.A. **Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de sistemas nanoscópicos bioativos.** Dissertação (Mestrado em Ciências em Materiais para Engenharia) - Universidade Federal de Itajubá – MG, 2008

ALMEIDA, A.S. **Obtenção e caracterização de nanocompósitos de poli(l-lactídeo) e nanopartículas de argila sódica, argilas organofílicas e óxidos de sílica.** 132f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) - Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

ALMEIDA, L.L. **Síntese e propriedades do copolímero anfifílico poli(3-hidroxi-butirato)-bloco-poli(óxido de etileno) e preparação de nanopartículas.** Dissertação (Mestrado) – Escola politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

ALMEIDA, L.L.; **Síntese e propriedades do copolímero anfifílico poli (3-hidroxi-butirato)-bloco-poli(óxido de etileno) e preparação de nanoprtículas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade de São Paulo - São Paulo – SP, 2012.

ALMEIDA, H. **Métodos para o Incremento da Solubilidade de Substâncias Activas Pouco Solúveis.** (BCS – Classe II). Dissertação (Mestrado) Faculdade de Farmácia Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2009.

ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Ácido pantotênico. In: PENTEADO, M.V.C. **Vitaminas:** aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri: Manole, cap.12, p. 465-481, 2003.

ALONSO, M.J.; CALVO, C.L.P.; VILAJATO, J.L. Approaches to improve the association of amikacin sulfate to poly (alkylcyanoacrylate) nanoparticles. **Int. J. Pharm.**, v. 68, n. 69, 1991.

ALSIRAWAN, M.B.; MOHAMMAD, A.M.; ALKASMI, B.; ALHARETH, K.; EL-HAMMADI, M.; Development and validation of a simple hplc method for the determination of ibuprofen sticking onto punch faces. **Int J Pharm Pharm Sci.**, v. 5, n. 4, p. 227-231, 2013.

ALVES, L.T.O. **Síntese e caracterização de MIP a partir da fenilalanina visando sua aplicação na técnica de extração em fase sólida.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2015.

AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. **Polym. Internat.**, v. 47, p. 89-144, 1998.

AMIDON, G.L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V.P; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharm Res.**, v. 12, p. 413-20, 1995.

AMN, T.; BARAKAT, N.A.M.; HASSAN, M.S.; KHIL, M.S.; KIM, H.Y. Camptothecin loaded poly(-caprolactone)nanofibers via one-step electrospinning and their cytotoxicity impact Colloids and Surfaces A. **Physicochem. Eng. Aspects**, v. 431, p. 1–8, 2003.

ANDRADE, J.M. **Efeito de dióxido de carbono e propano pressurizados na atividade catalítica de D-Hidantoinase.** 85p. Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2008.

ANDRADY, A.L. **Science and technology of polymer nanofibers**, New York: John Wiley & Sons; 2008.

ANDRIOLE, G.; BOSTWICK, D.; CIVANTOS, F.; EPSTEIN, J.; LUCIA, M.S; MCCONNELL, J.; ROEHRBORN, C.G. The effects of 5 $\alpha$ -reductase inhibitors on the natural history, detection and grading of prostate cancer: current state of knowledge. **J. Urol.**, v. 174, n. 6, p. 2098-2104, 2005.

ANICETO, C.; CANAES, L.S; FATIBELLO, O.F. Determinação espectrofotométrica de vitamina B2 (riboflavina) em formulações farmacêuticas empregando sistema de análises por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 23, n. 5, 2000.

ANTUNES, M.C. **Transesterificação do poli (3-hidróxibutirato) com etilenoglicol via catalise ácida – influência nas propriedades finais e morfologia**. 90f. Dissertação (Mestrado em Físico Química) – Instituto de Química. Campinas – SP, 2003.

AQEEL, B.M.; MO, X. Fabrication and characterization of water soluble vitamin loaded Poly (lactic-co-glycolic acid) aligned electrospun nanofibers. **International Journal of Research**, v. 3, n. 8, 2016.

ARRUDA, K.A.; QUEIROZ, A. A. A.; HIGA, O. Z. Macroporous poly ( $\epsilon$ -caprolactone) with antimicrobial activity obtained by iodine polymerization. **Wiley Periodicals**, p. 473– 478, 2003.

ARVANITOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; PSOMIADOU, E.; KAWASAK, N.; YAMAMOTO, N. Synthesis and degradability of a novel aliphatic polyester based on L-lactide and sorbitol. **Polymer**, v. 37, n. 4, p. 651-660, 1996.

ASBAHR, A.C.C. **Obtenção e caracterização de complexos binários e ternários de finasterida**. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, Paraná, 2008.

AZOUZ, L'H.; DAHMOUNE, F.; REZGUI, F.; G'SELL, C. Full factorial design optimization of anti-inflammatory drug release by PCL-PEG-PCL microspheres. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 412-419, 2016.

BADER, H.; RINGSDORF, H.; SCHMIDT, B. Watersoluble polymers in medicine. **Die Angewandte Makromolekulare Chemie**. v. 123, n. 1, p. 457-485, 1984.

BALL, G.F.M. Vitamins: Their Role in the Human Body. **Blackwell Publishing**. London, 2004.

BARBANTI, S.H.; ZAVAGLIA, C.A.C.; DUEK, E.A.R. Degradação Acelerada de Suportes de Poli( $\epsilon$ -Caprolactona) e Poli(D,L-Ácido Lático-co-Ácido Glicólico) em Meio Alcalino. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 2, p. 141-148, 2006.

BARBANTI, S.H.; ZAVAGLIA, C.A.C.; DUEK, E.A.R. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 13-21, 2005.

BARGHI, L.; ASGARI, D.; BARAR, J.; VALIZADEH, H. Synthesis of PCEC Copolymers with Controlled Molecular Weight Using Full Factorial Methodology. **Adv Pharm Bull**, v. 5, n.1, p. 51-56, 2015.

BARISON, M.J. **Caracterização e avaliação do papel da degradação de hisitdina na bioenergética de Trypanosoma cruzi**. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2015.

BATISTUZZO, J.A.O. Formulário Médico Farmacêutico. 3<sup>ed</sup>. São Paulo: **Pharmabooks**, 2006.

BATISTUZZO, J.A.; ITAYA, M.; ETO, Y. Formulário Médico-Farmacêutico. **Tecnopress**, 2000.

BATTU, P.R. Simultaneous RP-HPLC determination of nimesulide and paracetamol in tablets. **Intenational Journal of Pharma Tech Research**, v. 1, n. 2, p. 514-516, 2009.

BAUCHART, D.; AUROUSSEAU, B.; AUCLAIR, E. Addition of sorbitol to a milk substitute for veal calves – Effects on health, growth and feed conversion.

**Reproduction, Nutrition, Développement**, v. 36, n. 2, p. 339-410, 1985.

BAWARSKI, W.E.; CHIDLOWSKY, E.; BHARALI, D.J.; MOUSA, S.A.; Nanomed. **Nanotechnol. Biol. Med.**, v. 4, p.273, 2008.

BECKE, A.D. A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. **J. Phys. Chem.** v. 98, p.1372-1377, 1993.

BEHRMAN, R.E.; KLIERGMAN, R.M.; JENSON, H.B. Tratado de Pediatria. 16. Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 2353, 2002.

BENDER, D.A. Optimun nutrition: thiamin, biotin and pantothenate. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 58, p.427-433, 1999.

BENOWITZ, N.L. Agentes Anti-hipertensivos. In: KATZUNG, B.G. Farmacologia, Básica e Clínica. 8. Ed., Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p.137, 2003.

BERTOLINI, A., et al. Paracetamol: New Vistas of an Old Drug. **Blackwell Publishing Inc.**, v. 12, p. 250–275, 2006.

BETINA, G.; ZANETTI, R.; SECCON, A. Nanotecnologia como inovação para produtos farmacêuticos e cosméticos. **Revistas Técnica do Farmacêutico – ANFARMAG** (Associação Nacional de Farmacêuticos Magistrais), n 11, 2011.

BHARDWAJ, N., KUNDU, S.C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 325–347, 2010.

BOHMERT, K.; BALBO, I.; STEINBÜCHEL, A.; TISCHENDORF, G.; WILLMITZER, L. Constitutive Expression of the  $\beta$ -Ketothiolase Gene in Transgenic Plants. A Major

Obstacle for Obtaining Polyhydroxybutyrate-Producing Plants. **Plant Physiol.**, v. 128, p. 1282-1290, 2002.

BONARTSEV et al., Cell attachment on poly(3-hydroxybutyrate)-poly (ethylene glycol) copolymer produced by *Azotobacter chroococcum* 7B. **BMC Biochemistry.**, v. 14, n.12, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Cloridrato de Propranolol - **Farmacopeia Brasileira**, 5º Ed., v. 2, p. 857, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Furosemida - **Farmacopeia Brasileira**, 5º Ed., v. 2, p. 990, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Furosemida - **Farmacopeia Brasileira**, 5º Ed., v. 2, p. 1053, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Furosemida - **Farmacopeia Brasileira**, 5º Ed., v. 2, p. 1159, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Furosemida - **Farmacopeia Brasileira**, 5º Ed., v. 2, p. 1189, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Furosemida - **Farmacopeia Brasileira**, 5º Ed., v. 2, p. 322, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME**. Brasília-DF, 2002

BRISTOW, M.R.B. Adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. **Circulation**, v. 101, n. 5, p. 558-569, 2000.

BRITISH PHARMACOPEIA (Farmacopeia Britânica) The Stationary Office: **Pharmacopeia Comission British**, v 1, p. 792-793, 2003.



BROCKS, D.R.; JAMALI, F. The pharmacokinetics of ibuprofen in humans and animal. In: Rainsford KD, editor. Ibuprofen: **A Critical Bibliographic Review**. London: Taylor & Francis, p. 79-131, 1999.

BRUNTON, L., PARKE, K., BLUMENTHAL, D., et al. Goodman & Gilman's manual of pharmacology and therapeutics. **McGraw Hill**, p. 455, 2008.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 11 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 668-672, 2007.

BRUXEL, F.; LAUX, M.; WILD, L.B.; FRAGA, M.; KOESTER, L.S.; TEXEIRA, H.F. Nanoemulsões como sistema de liberação parenteral de fármacos. **Quim. Nova**, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012.

BUDAVARI, S. The Merck Index. An Encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. **Merck & Co**, p.1741, 1996.

BULL, H.G.; GARCIA-CALVO, M.; ANDERSSON, S.; et al. Mechanism-based inhibition of human steroid 5 alpha-reductase by finasteride: enzyme-catalyzed formation of NADP-dihydrofinasteride, a potent bisubstrate analog inhibitor. **Journal of American Chemical Society**, v.118, p.2359-2365, 1996.

BURGAZ, E.; Poly(ethylene -oxide)/clay/silica nanocomposites: Morphology and thermomechanical properties. **Polymer**, v. 52, n. 22, p. 5118-5126, 2011.

BURKE, S.E.; EISENBERG, A. Effect of Sodium Dodecyl Sulfate on the Morphology of Polystyrene-*b*-Poly(acrylic acid) Aggregates in Dioxane-Water Mixtures. **Langmuir**, v. 17, p. 8341-8347, 2001.

CANEVAROLO, J. Sebastião V. Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 1. ed. São Paulo: **Artliber**, p. 183, 2002.

CANEVAROLO, J.R; SEBASTIÃO, V. Ciência dos Polímeros. 2 ed. São Paulo: **Artliber editora**, 2006.

CARLOTA, O.; RANGEL, Y.; ADALBERTO, P. JR.; LEOBERTO, C. T.; Micellar solubilization of drugs. **Pharm Pharmaceut Sci.**, v. 8, n. 2, p. 147-163, 2005.

CARTER, I. S.; DAWES, E. A. Effect of oxygen concentration and growth rate on glucose metabolism, poly-p-hydroxy-butyrate biosynthesis and respiration of *Azotobacter beijerinckii*. **Journal of General Microbiology**. v. 110, p. 393-400, 1979.

CHAITOW, L. The Healing Power of Amino Acids. England: **Thorsons Publishers Limited**, 1989.

CHANDRA, R.; VERMA, D.; SHARMA, K.D; KUMAR, S.; ALAM, M.D.N.; SINGH, S. Comparative quantitative determination of paracetamol by rp-hplc and uvspectrophotometry from its formulated tablets. **Int J Pharm Pharm Sci.**, v. 5, n. 3, p. 863-865, 2013.

CHATURVEDI, K.; GANGULY, K.; KULKARNI, A.R.; NADAGOUDA, M.N., STOWBRIDGE, J.; RUDZINSKIB, W.E.; AMINABHAVI, T.M. Ultra-small fluorescent bile acid conjugated PHB-PEG block copolymeric nanoparticles: synthesis, characterization and cellular uptake. **RSC Adv.**, v. 3, p. 7064-7070, 2013.

CHEN, C.; FEI, B.; PENG, S.; ZHUANG, Y.; DONG, L.; FENG, Z. The Kinetics of the Thermal Decomposition of Poly(3-hydroxybutyrate) and Maleated Poly(3-hydroxybutyrate). **J Polym Sci: Part B: Polym Phys.**, v. 40, p. 1893-903, 2002.

CHEN, C.; YUA, C.H.; CHENG, Y.C.; YUA, P.H.F., CHEUNG, M.K. Biodegradable nanoparticles of amphiphilic triblock copolymers based on poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ethylene glycol) as drug carriers. **Biomaterials**, v. 27, p. 4804-4814, 2006.

CHEN, S.-A.; HSIEH, M.-H.; TAI, C.-T.; TSAI, C.-F.; PRAKASH, V. S.; YU, W.-C.; HSU, T.-L.; DING, Y.-A.; CHANG, M.-S. Initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating from the pulmonary veins: electrophysiological characteristics,

pharmacological responses, and effects of radiofrequency ablation. **Circulation**, v. 100, n. 18, p. 1879-1886, 1999.

CHEN, X.; SCHLUESENER, H.J. Nanosilver: a nanoparticle in medical application. **Toxicol. Lett.**, v.176, n. 1, p. 1-12, 2008.

CHO, H.; CHEONG, I.; LEE, J.; KIM, J. Polymeric nanoparticles, micelles and polymersomes from amphiphilic block copolymer. **Korean J Chem Eng.**, v. 27, n. 3, p. 731-740, 2010.

CHU, B.Y.; ZHANG, L.; QU, Y.; CHEN, X.; PENG, J.; HUANG, Y.; QIAN Z. Synthesis, characterization and drug loading property of Monomethoxy-Poly(ethyleneglycol)-Poly( $\epsilon$ -caprolactone)-Poly(D,L-lactide) (MPEG-PCLA) copolymers. **Scientific Reports.**, v. 6, p. 34069, 2016.

CLARK, H. L. M. **Remoção de fenilalanina por adsorvente produzido a partir da torta prensada de grãos defeituosos de café.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Brasil, 2010.

COIMBRA, J.S.R. **Desempenho de um extrator tipo grasser na separação de proteínas do soro de queijo usando sistemas aquosos bifásicos.** Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 1995.

COMBS, J.; GERALD, F. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. 4. ed. Boston: **Academic Press**, p. 600, 2008.

CONSTANTINIDES, P.P.; TUSTIAN, A.; KESSLER, D.R. Tocol emulsions for drug solubilization and parenteral delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 9, p. 1243–1255, 2004.

CORDEIRO, C.C. **Recuperação e caracterização de materiais poliméricos empregados na indústria flexográfica.** Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina, 2007.

CORDENTE, N.; TOUSTOU, B.; COLLIÈRE, V.; AMIENS, C.; CHAUDRET, B.; VERELST, M.; RESPAUD, M.; BROTO, J.M. **Acad. C. R.; Sci. Paris, Chimie**, v. 4, p. 143, 2001.

CORRAL, L.A.G. **Materiales compuestos con base en matrices poliméricas biodegradables para uso en reparación y regeneración de tejido óseo**. Tese (Doutorado) - Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ingeniería, Bogotá, Colombia, 2013.

COSTA, R. G. F. et al. Eletrofição de Polímeros em Solução. Parte I: Fundamentação Teórica. **Revista Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012.

COUSSIRAT, C. **Prevalência de deficiência de vitamina B12 e ácido fólico e sua associação com anemia em idosos atendidos em um hospital universitário**. Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2010.

COUTINHO, B.C; MIRANDA, G.B; SAMPAIO, G.R; DE SOUZA, L.B.S; SANTANA, W.J; COUTINHO, H.D.M. A importância e as vantagens do polihidroxibutirato (plástico biodegradável). **Revista Holos**, v. 20, 2004.

COX, M.M.; NELSON, D.L. Lehninger principles of biochemistry. 4. Ed. **Omega**, 2006.

CRAMER, C. J. Essential of computational chemistry: theory and model, 2nd ed., **John Wiley & Sons**, Chichester, 2004.

CRISTOBAL, P.A.; LAURENTI, M.; MUNIZ, F.J.S.; CABARCOS, L.J.; RETAMA, R. Polymeric nanoparticles with tunable architecture formed by biocompatible star shaped block copolymer. **Polymer**, v. 53, p. 4569-4578, 2012.

CUI, W.; QI, M.; LI, X.; HUANG, X.; ZHOU, S.; WENG, J. Electrospun fibers of acid-labile biodegradable polymers with acetal groups as potential drug carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 361, p. 47-55, 2008.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. Elements of X-ray diffraction. **Prentice-Hall**., 3. ed, 2001.

DABBAWALA, A.A.; MISHRA, D.K.; HWANG, J.S. Sulfated tin oxide as an eficiente solid acid catalyst for liquid phase selective dehydration of sorbitol to isosorbide. **Catalysis Communications**., v. 42, n.1–5, 2013.

DALTIN, D. Tensoativos: Química, propriedades e aplicações. 5. ed. São Paulo: **Blucher**, 2011.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. Química de Alimentos de Fennema. 4<sup>o</sup>ed, Porto Alegre: **Artmed**, 2010.

DANAFAR, H. Study of the Composition of Polycaprolactone/Poly (Ethylene Glycol)/Polycaprolactone Copolymer and Drug-to-Polymer Ratio on Drug Loading Efficiency of Curcumin to Nanoparticles.. **Jundishapur J Nat Pharm Prod**., p. 34179, 2016.

DANDAGI, P.M.; MASTIHOLIMATH, V.S.; GADAD, A.P; ILIGER, S.R. Mucoadhesive microsphere of propranolol hydrochloride for nasal delivery. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 69, n. 3, p. 402-407, 2007.

DANIEL, N.S.; RODRIGUES, P.R.; OLIVATO, A.R.; MAURIZIO, D.C. Conformational analysis and electronic interactions of some 2-ethylsulfinyl-(4'-substituted)-phenylacetates. **Journal of Molecular Structure**, v. 1108, p. 245-256, 2016.

DANILO PERIOTTO – UFSCar – 2012  
<file:///C:/Users/samsung/Downloads/Tabelaabrosoiv-121219115912-phpapp02.pdf>.  
Acessado no dia 4 de outubro de 2016, as 14h.

DATTA, A.; MISHRA, B.K. Prediction of power draw of ball mills by using neural network. **Minerals and Metallurgical Processing**, v. 16, p. 57-60, 1999.

DAVIES, J. C. EPA and nanotechnology: oversight for the 21<sup>ST</sup> century, **Woodrow Wilson International Center for Scholars**: Washington, D. C., 2007.

DAVIES, N. M. Clinical pharmacokinetics of ibuprofen - The first 30 years. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 34, n. 2, p 101-154, 1998.

DEDAVID, B.A.; GOMES, C.I.; MACHADO, G.; Microscopia eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostra – materiais poliméricos, metálicos e semicondutores, **PUCR**, 2007.

DEIBLE, C. R.; PETROSKO, P.; JOHNSON, P. C.; BECKMAN, E. J.; RUSSEL, A. J., WAGNER, W. R. Molecular Barriers to Biomaterial Thrombosis by Modification of Surface Proteins with Polyethylene Glycol. **Biomaterials**, v. 19, p. 1885-1893, 1998.

DEITZEL, J. M.; KLEINMEYER, J.; HARRIS, D.; TAN, N. C. B. **Polymer**, v. 42, p. 261, 2001.

DEMARQUETE, N. R. **Estrutura e Propriedade de Polímeros**. Rio de Janeiro: UFRJ PMT 2010 - Introdução à Ciência dos Materiais para Engenharia. Disponível em: [www.pmt.usp.br/pmt5783/Polímeros.pdf](http://www.pmt.usp.br/pmt5783/Polímeros.pdf). Acessado em 24 de outubro de 2016.

DIARMID, A.M.; JONES, W.; NORRIS, I.; GAO, J.; JOHNSON, A.; PINTO, N., HONE, J.; HAN, B.; KO, F.; OKUZAKI, H.; LLAGUNO, M. Electrostatically-generated nanofibers of electronic polymers. **Synthetic Metals**, v. 119, p. 27-30, 2001.

DOUSTGANI, A. Doxorubicin release from optimized electrospun polylactic acid nanofibers. **Journal of Industrial Textiles**, v. 0, n. 0, p. 1–18, 2016.

DROGUETTI, D.C.; PENTEADO, M.V.C. Ácido fólico. In: PENTEADO, M. V. C. (Ed.) **Vitaminas**: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos. Barueri: Manole, p. 487-524, 2003.

DUBEY, P.; BHUSHAN, B.; SACHDEV, A.; MATAI, ISHITA.; KUMAR, S.U.; GOPINATH, P. Silver-nanoparticle-incorporated composite nanofibers for potential wound-dressing applications. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 132, n. 35 2015.

DUGGAN, K. C. et al. (R)-Profens Are Substrate-Selective Inhibitors of Endocannabinoid Oxygenation by COX-2. **Nat Chem Biol.**, v. 7, n. 11, p. 803–809, 2011.

DUKES, H.H. Fisiologia dos animais domésticos: Digestão, absorção e metabolismo. 11. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara**, p. 856, 1996.

DURÁN, N.; MARCATO, P.D.; CONTI, R.; ALVES, O.L.; COSTA, F.T.M.; BROCCHI, M. Potential Use of Silver Nanoparticles on Pathogenic Bacteria, their Toxicity and Possible Mechanisms of Action. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 6, p. 949-959, 2010.

DUTRA, L. M. U. **Sistemas micelares de F127Ò, P123Ò e suas misturas como nanocarreadores dos fármacos griseofulvina e mangiferina**. 55 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

ENGALYTCHEFF, A.; VANHELLEPUTTE, J.P.; TILQUIN, B. HPLC Detection and Quantification of Radiolytic Products of Eight  $\alpha$ -blockers Irradiated in the Solid State and Hypotheses on Their Origins. **Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 7, 2004.

ERNANDES, F.M.P.G. **Utilização de diferentes substratos para a produção de etanol, levana e sorbitol por Zymomonas mobilis..** 145 f. Tese (doutorado) -, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2009.

ETHERIDGE, M.L.; CAMPBELL, S.A.; ERDMAN, A.G.; HAYNES, C. L.; WOLF, S.M.; MCCULLOUGH, J. The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2013.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2010. <  
[Http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/special\\_topics/general/general\\_content\\_000345.jsp&mid=wc0b01ac05800baed9](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/special_topics/general/general_content_000345.jsp&mid=wc0b01ac05800baed9)> Acessado no dia 19 de dezembro de 2016, as 20h.

FAMBRI, L., et al., Biodegradable Polymers, in Integrated Biomaterials Science. **R. Barbucci, Kluwer Academic Publishers Siena.** p. 119-187, 2002.

FARIA, L. H. G. B. **Caracterização taxonômica e produção de polissacarídeos utilizando bactérias isoladas de amostras de solo.** 162 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São Jose do Rio Preto, 2002.

FARIAS, M.G.; LIMA, R.F.M; CARVALHO, C.W.P. Efeito do ângulo de contato e atividade de água em filmes de amido com polpa de fruta. **III Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita – SPC**, 2011.

FENG, R.; SONG, Z.; ZHAI, G. Preparation and in vivo pharmacokinetics of curcumin-loaded PCL-PEG-PCL triblock copolymeric nanoparticles **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 4089–4098, 2012.

FERREIRA, F.A.; MALMONGE, S.M. Degradação hidrolítica de polímeros biorreabsorvíveis usados em engenharia tecidual: mecanismo e cinética. **XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica – CBEB**, 2014.

FINGLAS, P.M.; FAULKS, R.M. The HPLC analysis of thiamin and riboflavin in potatoes. **Food Chemistry.**, v. 15, n 1, p. 37-44, 1984.

FONSECA, C.C. **Produção e utilização do biopolímero poli (hidroxibutirato) (PHB) em embalagens alimentícias.** Monografia apresentada à Escola de Engenharia de Lorena - Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2014.



FONG, H.; CHUN, I.; RENEKER, D. H. Beaded nanofibers formed during electrospinning. **Polymer**, v. 40, n. 16, p. 4585-4592, 1999.

FOOD E DRUG ADMINISTRATION, 1996. Guidance Document for Testing Biodegradable Polymer Implant Devices. <<http://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm080265.htm>> Acessado no dia 08 de novembro de 2016, as 21h.

FORMHALS, A. Process and apparatus for preparing artificial threads. **Patente Americana**, n. 1.975, p.504, 1934.

FOX, H.M. Pantothenic acid. In: MACHLIN, J. **Handbook of Vitamins**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1990. cap.11, p.437-458.

FRANCIS, M.F.; CRISTEA, M.; WINNIK, F.M. - Polymeric micelles for oral drug delivery: Why and how. **Pure and Applied Chemistry**, v. 76, p. 1321-1335, 2004;

FRANCO, G. Tabela de composição dos alimentos; 1 ed. **Atheneu**, Rio de Janeiro - RJ, p. 307. 1992.

FRANCO, G. Tabela de Composição Química dos Alimentos, 9º edição, **Ateneu**, 2000.

FRANCO, S.M. **Níveis dietéticos de leucina, de histidina e de fenilalanina para frangos de corte na fase inicial**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2011.

FREITAS, R. A. Nanotechnology, nanomedicine and nanosurgery. **International Journal of Surgery**, v. 3, n.4, p. 243-246, 2005;

FREITAS, S.; MERKLE, H.P.; GANDER, B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. **Journal of Controlled Release**, v.102, p. 313-332, 2005.

FRIDRIKH, V.J.; YU, H.M.P.; BRENNER, G. C. **Rutledge Physical Review Letters**, v. 90, id. 144502, 2003.

GAI, P. L.; ROPER, R.; WHITE, M. G. **Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.**, v. 6, p. 401, 2002.

GARG, K.; BOWLIN, G.L. Electrospinning jets and nanofibrous structures. **Biomicrofluidics.**, v.5, p. 013-403, 2011.

GARTI, N. Nanotechnologies for solubilization and delivery in foods, cosmetics and pharmaceuticals. **Lancaste: DEStech Publications**, p.391, 2012.

GEYA, Y.; RICHEL, E.; BA, S.; THIVEND, P. Effects of feeding sorbitol associated with different sources and amounts of nitrogen on growth, digestion and metabolism in young bulls. **Animl Feed Science and Technology**, v. 36, n. 3-4, p. 255-273, 1992.

GOMES, D. S.; SILVA, A. N. R.; MORIMOTO, N. I.; MENDES, L. T. F.; FURLAN, R.; RAMOS, I. et al. **Polimeros**, v. 17, p. 206, 2007.

GOMES, F.A.S. **Preparação e caracterização de compósitos polímeros/semicondutor inorgânico a partir da técnica de eletrofição**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Juazeiro, Bahia, 2013.

GONÇALVES, N.A. **Nanofibras de poli( $\epsilon$ -caprolactona) e poli(óxido de etileno): fabricação pela técnica de eletrofição e efeitos radiolíticos**. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

GONÇALVES, V.S.S.; FERREIRA, T.R.A.S.; VALADARES, B.L.B. Fenilcetonúria: abordagem reflexiva e transdisciplinar no programa de genética para cursos de nutrição. **Rev. Simbio-Logias**, v.3, n.5, 2010.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: **McGraw Hill**, 2001.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. G. As bases farmacológicas da terapêutica. 9. ed. Rio de Janeiro: **McGraw-Hill**, p.1436, 1997.

GORMLEY, G. J. Finasteride: A review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 49, n. 7-8, p. 319-324, 1995.

GORP, K. V. Catalytic hydrogenations of fine chemicals: Sorbitol production. **Catalysis Today**, v. 52, p. 349-361, 1999.

GOTTLIEB, S.S.; MCCARTER, R.J. Comparative effects of three beta blockers (atenolol, metoprolol, propranolol) on survival after acute myocardial infarction. **American Journal Cardiology**, v. 87, n.7, p. 823-6, 2001.

GOU, P.F.; ZHU, W.P.; SHEN, Z.Q. Synthesis and Characterization of Resorcinarene - Centered Eight-Arm Poly(e-caprolactone) Stars Catalyzed by Yttrium Complex. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, v. 46, p. 2108–2118, 2008.

GOUVEIA, M.A. **Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de nimesulida**. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

GRAHAM, G. G., et al. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. **Inflammopharmacology**, 21, p. 201-32, 2013.

GRIFFITH, H.; WINTER, M. D. **Complete Guide to Prescription & Noprescription Drugs.**, p. 364-365, 2000.

GRILLAUD M., et al. Les polyols en odontologie pédiatrique: intérêt du xylitol. **Archives de pédiatrie.**, v. 12, p. 1180–6, 2005.

GROPPER, S. The water-soluble vitamins. In: Advanced nutrition and human metabolism. **Wadsworth Cengage Learning. USA**, p. 309 – 372. 2009.

GUAN, Y.; ZUO, T.; CHANG, M.; ZHANG, F.; WEI, T.; SHAO, W.; LIN, G.; Propranolol hydrochloride-loaded liposomal gel for transdermal delivery: characterization and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 487, n. 1/2, p. 135-141, 2015.

GUERRINI, L. M.; BRANCIFORTI, M. C.; BRETAS, R. E. S. & OLIVEIRA, M. P. **Polímeros**, v. 16, p. 286, 2006.

GUERROUANI, N.; MAS, A.; SCHUÉ, F. MgH<sub>2</sub>/PEG initiating system for ring opening polymerization of lactone and lactide **Polymers**, n. 024, 2010.

GUO, S.; WANG, E. **Anal. Chim. Acta**, v. 598, p. 181, 2007.

HARRIS, J.M. Poly(ethylene glycol) chemistry: **Biotechnical and Biomedical Applications**, ed Plenum, 1992.

HE, Y.Y.; ZHANG, B.X.; JIA, F.L. Protective effects of 2,4-dihydroxybenzophenone against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 21, p. 2663-2666, 2011.

HOFFMAN, B.B.; LEFKOWITZ, R.J. Catecolaminas, drogas simpatomiméticase antagonista dos receptores adrenérgicos. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, J.E. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 9. Ed. Rio de Janeiro: **McGraw-Hill**, cap. 10, p. 146-182, 1996.

HSU, F.; HUNG, Y.; LIOU, H.; SHEN, C. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 2140-2147, 2010.

HU, X.; LIU, S.; ZHOU, G.; HUANG, Y.; XIE, Z.; JING, X. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. **Journal of Controlled Release**, v. 185, n. 0, p. 12–21, 2014.

HUNTER, R. J.; WHITE, L. R.; CHAN, D. Y. C. **Foundations of colloid science**. New York: Oxford University Press, 1989.

HUSSEINI, G. A.; PITT, W. G. Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 1137-1152, 2008.

INGAVLE, G.C.; GEHRKE, S.H.; DETAMORE, M.S. The bioactivity of agarose-PEGDA interpenetrating network hydrogels with covalently immobilized RGD peptides and physically entrapped aggrecan. **Biomaterials**, v. 35, n. 11, p. 3558-3570, 2014.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Princípios Básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial/ Calorimetria Exploratória Diferencial. Ed. Giz, 2004. <<http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/ESPEC/livro%20-analise-termica-themal-analysis-Giolito.pdf>> Acessado no dia 26 de outubro de 2016, as 21h.

MYER, R.; TOMAR, S.K. Folate: A functional food constituent. **J Food Sci.**, v. 74, n. 9, p. 114-22, 2009.

JACQZ-AIGRAIN, E.; ANDERSON, B. J. Pain control: Non-steroidal anti-inflammatory agents. **Semin Fetal Neonatal Med.**, v. 11, p. 251-259, 2006.

JAMRA, M.A; CANELAS, H.M; BITTENCOURT, J.M.T. Ácido fólico no tratamento da síndrome nervosa da anemia perniciosa. Estudo do comportamento e da sensibilidade vibratória. **Arquivo de Neuro – Psiquiatria**, v. 6, n. 4, 301-333, 1948.

JIAN, K.A; LONG, C.B.; SACHIKO, S. Preparation and Characterization of Electrospun Polycaprolactone Nanofiber Webs Containing Water-soluble Eggshell Membrane and Catechin. **Journal of Fiber Bioengineering & Informatics**, v. 5, n. 2, p. 217-226, 2012.

JIN, W. J.; JEON, H. J.; KIM, J. H.; YOUK, J. H. **Synthetic Met.**, v. 157, p. 454, 2007.

JONES, A.L.; HULETT, M.D.; PARISH, C.R. Histidine-rich glycoprotein: A novel adaptor protein in plasma that modulates the immune, vascular and coagulation systems. **Immunology and Cell Biology**, v. 83, p. 106–118, 2005.

JORDE, L.B.; CAREY, J.C.; BAMSHAD, M.J.; WHITE, R.L. **Genética Médica**, v. 415, 2004.

KAHN, H; ANTONIASSI, J; SHIMIZU, V; JULIANA, D. Copper ore type definition from Sossego Mine using X-ray diffraction and cluster analysis technique. **REM: R. Esc. Minas, Ouro Preto**, v. 65, n. 4, p. 561-566, 2012.

KARAVAS, E.; KOUTRIS, E.; PAPADOPOULOS, A.G.; SIGALAS, M.P.; NANAKI, S.; PAPAGEORGIOU, G.Z.; ACHILIAS, D.Z.; BIKIARIS, D.N. Application of density functional theory in combination with FTIR and DSC to characterise polymer drug interactions for the preparation of sustained release formulations between fluvastatin and carrageenans. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 466, p. 211–222, 2014.

KARUPPUSWAMY, P.; VENUGOPAL, J.R.; NAVANEETHAN, B.; LAIVA, A.L.; RAMAKRISHNA, S. Polycaprolactone nanofibers for the controlled release of tetracyclinehydro chloride. **Materials Letters**, v. 141, p.180–186, 2015.

KATUGIN-RAZEM, B.; HAMITOCHEB, K.; MALTAR-STRMEWKIC, N.; KOSD, K.; PUCIC´A, I.; BRITVIC´-BUDICINA, S.; RAZEM, D. Radiation sterilization of ketoprofen. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 73, p. 111–116, 2005.

KATZUNG, B.G. Farmacologia Básica & Clínica 9° ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 207-209, 2005.

KAZUNORI, K.; GLENN S, K.; MASAYUKI, Y.; TERUO, O.; YASUHISA, S. Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery. **J Control Release**, v. 24, n. 1–3, p. 119-132, 1993.

KECSKES, L. J.; CHO, K. C.; DOWDING, R. J.; SCHUSTER, B. E.; VALIEV, R. Z.; WEI, Q. Grain size engineering of bcc refractory metals: Top-down and bottom-up—Application to tungsten. **Mater. Sci. Eng. A**, v. 467, n. 1-2, p. 33-43, 2007.

KELLY, G.S. Pantothenic Acid Monograph. **Altern Med Rev.**, v. 16, p. 3, 2011.

KENAWY, R.; BOWLIN, G.L.; MANSFIELD, K.; LAYMAN, J.; SIMPSON, D.G.; SANDERS, E.H.; WNEK, G.E. Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. **Journal of Controlled Release**, v. 81, p. 57–64, 2002.

KESSLER, D.; RÉTEY, J.; SCHULZ, G. E. Structure and Action of Urocanase. **Journal of Molecular Biology**, v. 342, n 1-3, p. 183-194, 2004.

KHOLODOVYCH, V.; GUBSKAYA, A.V.; BOHRER, M.; HARRIS, N.; KNIGHT, D, KOHN, J.; WELSH, W.J. Prediction of biological response for large combinatorial libraries of biodegradable polymers: Polymethacrylates as a test case. **Polymer**, v. 49, n. 10, p. 2435–2439, 2008.

KILIKIAN, B.V.; BASTAZIN, M.R.; MINAMI, N.M.; GONÇALVES, E.M.R.; PESSOA JUNIOR, A. liquid-liquid extraction by reversed micelles in biotechnological processes. **Brazilian Society of Chemical Engineering**, v. 17, n. 1, p. 29-38, 2000.

KIM, I. D., ROTHSCHILD, A. Nanostructured metal oxide gas sensors prepared by electrospinning. **Polym. Adv. Technol.**, v. 22, n. 3, p. 318–325, 2011.

KIM, K.; LUUC, Y.K.; CHANGA, C.; FANG, D.; HSIAO, B.S.; CHUA, B.; HADJIARGYROU, M. Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactide-co-glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds. **Journal of Controlled Release**, v. 98, p. 47–56, 2004.

KIM, T.G.; LEE, D.S.; PARK, T.G. Controlled protein release from electrospun biodegradable fiber mesh composed of poly( $\epsilon$ -caprolactone) and poly(ethylene oxide). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 338, p. 276–283, 2007.

KIM, W.; ERLANDSEN, H.; SURENDRAN, S.; STEVENS, R. C.; GAMEZ, A.; MICHOLS-MATALON, K.; TYRING, S. K.; MATALON, R. Trends in Enzyme Therapy for Phenylketonuria. **Molecular Therapy**, v.10, p.220-224, 2004.

KITAMURA, S.S.; ORTOLANI, E.L.; Estudo de diferentes doses de furosemida sobre a função renal de bovinos hígidos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 5, p. 1349- 1354, 2007.

KOŁBUK, D.; SAJKIEWICZ, P.; K. MANIURA-WEBER, K.; FORTUNATO, G. Structure and morphology of electrospun polycaprolactone/gelatine nanofibres. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 2052–2061, 2013.

KOROLKOVAS, A. Dicionário terapêutico Guanabara. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 1995/1996.

KOROLKOVAS, A. E.; BURCKHALTER, J. H. Essentials of Medicinal Chemistry, 2nd ed., **Wiley Inter. science**: New York, 1988.

KOST, J. Biomaterials in Drug Delivery Systems. In: AL., D. L. W. E. **Encyclopedic handbook of Biomaterials and Bioengineering**. Estados Unidos da América: Marcel Dekker, 1995.

KOUTSOS, V. Polymeric materials: an introduction. In: Forde M, Telford T. **ICE Manual of construction materials**. London. p. 571-77, 2009.

KRUGER, C. Azucar (Parte 2). **Ducelândia**, v. 6, p. 3-15, 1999.

KULKARNI, A.; BAMBOLE, V.A.; MAHANWAR, P.A. Electrospinning of Polymers, Their Modeling and Applications. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 49, p. 427–441, 2010.

LAILER, K.J. Chemical Kinetics, 3rd ed., **Harper & Row**, New York, 2004;



LAIHIA, J. K.; ATTILA, M.; NEUVONEN, K.; PASANEN, P.; TUOMISTO, L.; JANSEN, C.T. Urocanic acid binds to GABA but not to histamine (H1, H2, or H3) receptors. **Journal of Investigative Dermatology**, Malden, v. 111, n. 4, p. 705-706, 1998.

LAMBEEK, G.; VORENKAMP, E.J; SCHOUTEN, A.J. Structural Study of Langmuir-Blodgett Mono- and Multilayers of Poly(beta-hydroxybutyrate). **Macromolecules**, v. 28, n. 6, p. 202-332, 1995.

LAMMERS, T.; AIME, S.; HENNINK, W.E.; STORM, G.; KIESSLING, F. Theranostic Nanomedicine. **Acc. Chem. Res.**, v. 44, n. 10, p. 1029–1038, 2011.

LARINI, L. Fármacos & medicamentos. Porto Alegre: **Artmed**, p. 408, 2007.

LASCHUCK, E.F. **Novo Formalismo Semi-Empíricos Para Cálculos Químico-Quânticos**. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2005.

LEDNICER, D. Strategies for organic drug synthesis and design. **John Wiley & Sons**, 2008.

LEE, J. Y.; BASHUR, C. A.; GOLDSTEIN, A. S.; SCHMIDT, C. E. Polypyrrole-coated electrospun PLGA nanofibers for neural tissue applications. **Biomaterials**, v. 30, ed. 26, p. 4325-4335, 2009.

LEGRAND, P.; BARRATT, G.; MOSQUEIRA, V.; FESSI, H.; DEVISSAGUET, J.P. Polymeric nanocapsules as drug delivery systems: A review. **S.T.P. Pharma Sci.**, v. 9, p. 411, 1999.

LEMES, A. P. **Desenvolvimento de novos compósitos biodegradáveis baseados em poli(3-hidroxi-butirato-co- hidroxi-valerato) e lignosulfonatos**. 127p, Dissertação (mestrado em Físico Química) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas SP. 2005.

LEMMOUCHI, Y.; PERRY, M.C.; AMASS, A.J.; CHAKRABORTY, K.; SCHACHT, E. A Novel and Versatile Potassium-Based Catalyst for the Ring Opening Polymerization of Cyclic Esters. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, v. 46, p. 5348–5362, 2008.

LEVY, H.L.; YU, J.J.; WAISBREN, S.E. Maternal histidinaemia: Pregnancies and offspring outcomes. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 27, n. 2, p 197–204, 2002.

LI, M.; ROUAUD, O.; PONCELET, D. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. **International Journal of Pharmaceutics**, v.363, p. 26-39, 2008.

LIA, C.; VEPARIA, C.; JINA, H.J.; KIM, H.J.; KAPLAN, D.L. Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, p. 3115–3124, 2006.

LIAO, Q.; NODA, I.; FRANK, C.W. Melt viscoelasticity of biodegradable poly(3 - hydroxybutyrate-co-3hydroxyhexanoate) copolymers. **Polymer**, v. 50, n. 25, p.6139-48, 2009.

LILI, Z. **Síntese e caracterização do copolímero tribloco anfifílico biodegradável poli(L, L-lactídeo-stat-e-caprolactona)-bloco-poli(óxido de etileno)-bloco-poli(L, L-lactídeo-stat-e-caprolactona)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

LIMA, F.F.; ANDRADE, C.T. Síntese e caracterização de copolímeros do tipo aba para encapsulação de hemoglobina bovina. **Quim. Nova**, v. 35, n. 5, p. 956-961, 2012.

LIU, J.Y.; RENI, L.; WEI, Q.; WU, J.L., LIU, S.; WANG, Y.J.; LI, G.Y. Fabrication and characterization of polycaprolactone sulfate whisker composites. **Express Polymer Letters**, v. 5, n. 8, p.742-752, 2011.

LIU, K.L.; GOH, S.H.; LI, J. Controlled synthesis and characterizations of amphiphilic poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate]-poly(ethylene glycol)-poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate] triblock copolymers. **Polymer**, v.49, p. 732-741, 2008.

LIU, K.L.; GOH, S.H.; LI, J. Threading  $\alpha$ -Cyclodextrin through Poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate] in Poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate]-Poly(ethylene glycol)-Poly[(R,S)-3-hydroxybutyrate] Triblock Copolymers: Formation of Block-Selected Polypseudorotaxanes. **Macromolecules**, v. 41, n. 16, p. 6027–6034, 2008.

LIU, R. Water-insoluble drug formulation. Boca Raton: **CRC Press**, p. 507-509, 2000.

LIU, Y.; CHIA-HER, L.; BAO-TSAN, K.; RONG-MING, H.; Ring-Opening Polymerization of  $\epsilon$ -Butyrolactone Catalyzed by Efficient Magnesium and Zinc Complexes Derived from Tridentate Anilido-Aldimine Ligand. **J. Polymer Science**. v. 48, p. 5339–5347, 2010.

LIU, Y.; WANG, F.; TAN, T. W. Cyclic Resolution of Racemic Ibuprofen via Coupled Efficient Lipase and Acid-Base Catalysis. **Chirality**, v. 21, n. 3, p. 349-353, 2009.

LLORENS, E.; VALLE, L.J.; DÍAZ, A.; CASAS, M.T.; PUIGGALÍ, J. Polylactide Nanofibers Loaded with Vitamin B6 and Polyphenols as Bioactive Platform for Tissue Engineering. **Macromolecular Research**, v. 21, n. 7, p 775-787, 2013.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D. Determination of aqueous solubility by heating and equilibration: a technical note. **AAPS Pharm Sci Tech**, v.7, n.1, 2006.

LOH, W. Block copolymer micelles. **Encyclopedia of Colloid and Surface Science**, 2001.

LUO, J.; SUN, J.; HUANG, J.; LIU, X. Preparation of water-compatible molecular imprinted conductive polyaniline nanoparticles using polymeric micelle as nanoreactor for enhanced paracetamol detection. **Chemical Engineering Journal**, v. 283, p.1118– 1126, 2016.

LUO, S.H.; WANG, Q.F.; XIONG, J.F.; WANG, Z.Y. Synthesis of biodegradable material poly(lactic acid-co-sorbitol) via direct melt polycondensation and its reaction mechanism. **J. Polym Res.**, v. 19, p. 9962, 2012.

LUONG-VAN, E.; GRØNDAHLA, L.; CHU, K.N.; LEONG, K.W.; NURCOMBE, V.; COOL, S.M. Controlled release of heparin from poly(e-caprolactone) electrospun fibers. **Biomaterials**, v. 27, p. 2042–2050, 2006.

MADHAIYAN, K.; SRIDHAR, R.; SUNDARRAJAN, S.; VENUGOPAL, J.R.; RAMAKRISHNA, S. Vitamin B12 loaded polycaprolactone nanofibers: A novel transdermal route for the water soluble energy supplement delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 444, p. 70–76, 2013.

MAGASANIK, B.; BOWSER, H.R. The degradation of histidine by *Aerobacter aerogenes*. **J. Biol. Chem.**, v. 213, n. 2, p. 571-80, 1955.

MANIRUZZAMAN, M.; PANG, J.; MORGAN, D.J.; DOUROUMIS, D. Molecular Modeling as a Predictive Tool for the Development of Solid Dispersions. **Mol. Pharmaceutics**, v.12, n. 4, p.1040–1049, 2015.

MANO, E. B.; MENDES, L. C. Identificação de plásticos, borrachas e fibras. 1. ed. São Paulo: **Edgard Blücher**, p. 224, 2000.

MANSOUR, A.; ABDEL-FATTAH, A.A.; SOLIMAN, Y.S. Gamma radiation-induced effects on riboflavina EPR investigation and spectroscopic analyses. **J. Drug Del. Sci. Tech.**, v. 24, n. 1, p. 105-110, 2014.

MARIA, O.; SANTOS, M.; LAURA, A.; SANTOS, A.; PEREIRA, G.R.; BONFILIO, R. A dissolution test for finasteride in immediate-release capsules. **Dissolution Technol.**, v.20, n. 3, p. 25–33, 2013.

MARQUES, L. Ibuprofeno: Um fármaco com Sucesso, Departamento e Centro de Química da Universidade de Évora, 2009. [Em linha]. Disponível em:

<[http://www.videos.uevora.pt/quimica\\_para\\_todos/qpt\\_ibuprofeno.pdf](http://www.videos.uevora.pt/quimica_para_todos/qpt_ibuprofeno.pdf)>. Acessado no dia 27 de setembro de 2016, as 18h.

MARQUEZ, L.; NISHI, U.M.; BARROS, L.E.; CERDEIRA, R.M.F.C; PENTEADO, T.M.C.C, CAMARGO, M.V. Estudo da composição química de flocos de cereais com ênfase nos teores de fenilalanina. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.17, n.3, 1997.

MARTINDALE, W. H. The extra pharmacopoeia, 30. ed. London: **Pharmaceutical Press**, v. 1, 1941.

MARTINEZ, C.A.; NORTHRUP, H.; LIN, J.I.; MORRISON, A.C.; FLETCHER, J.M.; TYERMAN, G.H.; et al. Genetic association study of putative functional single nucleotide polymorphisms of genes in folate metabolism and spina bifida. **Am J Obstet Gynecol.**, v. 201, n. 4, p. 394-411, 2009.

MASSEY, V. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 28, p. 283, 2000.

MATOS, A.P.S. **Estudos de compatibilidade fármaco-excipiente e sua importância no desenvolvimento de formulações farmacêuticas.** Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas) – Fundação Oswaldo Cruz Farmanguinhos, Rio de Janeiro, 2013.

MATTHEWS, J.A.; WNEK, G.E.; SIMPSON, D.G.; BOWLIN, G.L. Electrospinning of Colagem Nanofibers. **Biomacromolecules**, v.3, p. 232-238, 2002.

MCGUIRE, M.; CLEARY, B.; SAHM, L.; MURPHY, D.J. Prevalence and predictors of periconceptional folic acid uptake - prospective cohort study in an Irish urban. **Hum Reprod.**, v. 25, n. 2, p. 535-43, 2010.

MEDEIROS J.; KANIS, L. A. Avaliação do efeito de polietilenoglicóis no perfil de extratos de Mikania glomerata Spreng., Asteraceae, e Passiflora edulis Sims, Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p.796-802, 2010.

MEGELSKI, S.; STEPHENS, J.S.; CHASE, D.B.; RABOLT, J.F. Micro and Nanostructured Surface Morphology on Electrospun Polymer Fibers. **Polymer**, p. 8456-8466, 2002.

MEI, Y.; KUMAR, A.; GAO, W., GROSS, R.; KENNEDY, S.B.; WASHBURN, N.R.; AMISB, E.J.; ELLIOTT, J.T. Biocompatibility of sorbitol-containing polyesters. Part I: Synthesis, surface analysis and cell response in vitro. **Biomaterials**, v. 25, p. 4195–4201, 2004.

MELO, C.P.; E PIMENTA, M. Nanociência e Nanotecnologia. **Parcerias Estratégicas**, v. 18, n. 13, 2004.

MENDES, F.M. **Produção e caracterização de bioplásticos a partir de amido de batata**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, 2009.

MERIANI, F.; COCEANI, N.; SIROTTI, C.; VOINOVICH, D.; GRASSI, M. Characterization of a quaternary liquid system improving the bioavailability of poorly water soluble drugs. **J Colloid Interface Sci.**, v. 263, p. 590-6, 2003.

MILKPOINT, 07-03-2005 < <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/leite-saude/riboflavina-vitamina-b2-e-saude-22870n.aspx> > Acessado no dia 27 de setembro de 2016.

MILLER-KEANE. Enciclopédia & Dicionário Médico Para Enfermeiros & Outros Profissionais da Saúde. 6ª edição. Pág. 47. **ROCA**. 2003.

MITTERMAYR, R.; KALMAN, A.; TRISCONI, M.J.; HEUDI, O. Determination of vitamin B5 in a range of fortified food products by reversed-phase liquid chromatography-mass spectrometry with electrospray ionisation. **J. Chromatogr. A.**, v.1032, p.1-6, 2004.

MIYATA, K.; CHRISTIE, R. J.; KATAOKA, K.; **React. Funct. Polym.**, v. 71, p. 227, 2011.

MIZUTA, H.; ODA, S. Bottom-Up Approach to Silicon Nanoelectronics. **Microeletronics J.**, v. 39, n. 2, p. 171-176, 2007.

MOGHIMI, S.M.; HUNTER, A.C.; MURRAY, J.C. Nanomedicine: current status and future prospects. **The FASEB Journal**, v. 19, n. 3, p. 311-330, 2005.

MOHAMMED, A.R; BRAMWELL, V.W.; COOMBES, A.G.A.; PERRIE, Y. Lyophilisation and sterilisation of liposomal vaccines to produce stable and sterile products. **Methods**. v. 40, n. 1, p. 30–38, 2006.

MOKHLESI, B. et al. Adult toxicity in critical care. Part II: specific poisonings. **Chest.**, v. 123, p. 897-922, 2003.

MONSALVE, M.; CONTRERAS, J.M.; LAREDO, E.; LÓPEZ, F. Ring-opening copolymerization of (*R,S*)- $\beta$ -butyrolactone and  $\epsilon$ -caprolactone using sodium hydride as initiator. **eXPRESS Polymer Letters**, v.4, n. 7, p. 431–441, 2010.

MOREIRA, E.M.R. **Determinação da riboflavina por voltametria com adsorção**. Dissertação (Mestre em Química) - Departamento de Química Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 1999.

MORESCHI, E.C.P; MURADIAN, L.B.A. Comparação de métodos de análise para o ácido pantotênico em alimentos. **Revista Bras. Cienc. Farmacêuticas**, v.43. n. 2, 2007.

MORRISON, R.T.; BOYD, R.N. **Química Orgânica**, 11 ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

MORSLED, R. A.; CHENG, Y.; AUFFINGER, B.; WEGSCHEID, M.L.; LESNIAK, M. S. The potential of polymeric micelles in the context of glioblastoma therapy. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, 2013.

MOURYA, V.K.; INAMDAR, N.; NAWALE, R.B.; KULTHE, S. S. Polymeric Micelles: General Considerations and their Applications. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 45, n. 2, p. 128-138, 2011.

MULLER, H. M.; SEEBACH, D. Poly(hydroxyalkanoates): A Fifth Class of Physiologically Important Organic Biopolymers. **Angew. Chem. Ed. Engl.**, v. 32, p. 477-502, 1993.

MUNNÉ, P. et al. Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. **Anais do Sistema Sanitario de Navarra, Espanha**, v. 26, p. 65-97, 2003.

MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYER, P.A.; RODWELL, V.W.; Harper's Illustrated Biochemistry, 26th Ed., **McGraw-Hill Medical**, p. 14-60, 2003.

NA, X.; NIANZHI, J. Formation of polyhydroxyalkanoate in aerobic anoxygenic phototrophic bacteria and its relationship to carbon source and light availability. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, p. 7445–7450, 2011.

NAKAMICHI, K.; NABE, K.; YAMADA, S.; TOSA, T.; CHIBATA, I. L-Phenylalanine formation from acetamidocinnamic acid by newly isolated bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 2, p. 100–105, 1984.

NASCIMENTO, J. F. **Estudo da processabilidade e da caracterização do poli(ácido 3-hidroxibutírico)- PHB obtido a partir da cana-de-açúcar**. 58p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

NASCIMENTO, L.C. **Avaliação do processo de extração de fenilalanina com Adogen 464 pela técnica de membranas líquidas surfactantes**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006.



NEKEL, J.C. **Anemia carencial em idosos por deficiência de ferro ácido fólico e vitamina B12**. Artigo de Conclusão de Pós-Graduação em Hematologia Laboratorial - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, Rio Grande do Sul, 2013.

NEL, A. et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. **Science**, v. 311, p. 622-627, 2006.

NEVES, E. **Obtenção de material Vitrocerâmico a partir de cinza pesada de carvão mineral**. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

NEWTON, A. M. J.; INDANA, V. L.; KUMAR, J. Chronotherapeutic drug delivery of Tamarind gum, Chitosan and Okra gum controlled release colon targeted directly compressed Propranolol HCl matrix tablets and in-vitro evaluation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 290-299, 2015.

NGUYEN, T.H.A; NGUYEN, V.C. Formation of nanoparticles in aqueous solution from poly( $\epsilon$ -caprolactone)–poly(ethylene glycol)–poly( $\epsilon$ -caprolactone). **Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.**, p. 025012, 2010.

NOZAKI, Y.; TANFORD, C. The solubility of amino acid and related compounds in aqueous urea solutions. **J. Biological Chemistry**, v. 238, n. 12, p. 4074-4081, 1963.

OATES, J.A. Fármacos anti-hipertensivos e terapia farmacológica da hipertensão”, em “Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. (J.G. Hardman, L.E. Limbird, P.B. Molinoff, R.W. Ruddon & A.G. Gilman, ed. **Editores Guanabara Koogan S.A.**, Rio de Janeiro, cap 29, págs. 501-22, 1996.

O'DONNELL, P. B.; MCGINITY, J. W. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 28, n. 1, p. 25-42, 1997.

OLEDZKA, E.; SLIWERSKA, P.; SOBCZAK, M.; KRASKA, B.; KAMYSZ, W.; NALECZ-JAWECKI, G.; KOLODZIEJSKI, W. Peptide Dendrimer Functionalized with Amphiphilic Triblock copolymers: Synthesis and Characterization. **Macromol. Chem. Phys.**, v. 216, p. 1365–1375, 2015.

OLIVEIRA, R.M. **Equilíbrio de fases de sistemas aquosos bifásicos compostos por polietilenoglicol, sulfato de zinco, sulfato de cobre e citrato de sódio sob diferentes temperaturas.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2006.

OLIVEIRA, V.S. **Influência do processamento em ultrassom no licopeno e vitamina E e B.** Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, 2014.

OSSEYI, E.S.; WEHLING, R.L.; ALBRECHT, JULIE. A. Liquid chromatographic method for determining added folic acid in fortified cereal products. **Journal of Chromatography A**, v. 826, n. 2, p. 235–240, 1998.

OSSWALD, WALTER, Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas, **Manual de Farmacologia e Farmacoterapia**, 4ª edição, Porto Editora, Porto, 2001.

OTTAWAY, P.B. The technology of vitamins in food. **Blackie Academic & Professional**, p. 265, 1993.

PADERMSHOKE, A.; KATSUMOTO, Y.; SATO, H.; EKGASIT, S.; NODA, I. Surface melting and crystallization behavior of polyhydroxyalkanoates studied by attenuated total reflection infrared spectroscopy. **Polymer**, v. 45, p. 6547-6554, 2004.

PARMAR, A.; PAREKH, P.; BAHADUR, P. Solubilization and Release of a Model Drug Nimesulide from PEO–PPO–PEO Block Copolymer Core–Shell Micelles: Effect of Size of PEO Blocks. **J Solution Chem**, v. 42, p. 80–101, 2013.

PATEL, A. K.; CHAPPLE, C. R. Benign prostatic hyperplasia: Treatment in primary care. **British Medical Journal**, v. 333, n. 7567, p. 535-539, 2006.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. Introduction to Spectroscopy: a guide for students of organic chemistry. **Sunders College Publishing**, New York, 1996.

PEREIRA, A.G.B. **Blenda de poli (óxido de etileno) com diferentes amidos: avaliação da miscibilidade e da velocidade de crescimento de esferulitos.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, 2008.

PERINNA, D.P. **Sorbitol na alimentação de leitões recém- desmamados.** Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, 2012.

PERVEEN, S.; YASMIN, A.; KHAN, K. M. Quantitative Simultaneous Estimation of Water Soluble Vitamins, Riboflavin, Pyridoxine, Cyanocobalamin and Folic Acid in Nutraceutical Products by HPLC. **The Open Analytical Chemistry Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2009.

PETROVA, S.; KOLEV, I.; MILOSHEV, S.; MATEVA, R. Amphiphilic pcl-b-peo diblock copolymers: synthesis and characterization. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 47, n. 2, p. 139-146, 2012.

PIAO, L.; DAI, Z.; DENG, M.; CHEN, X.; JING, X. Synthesis and characterization of PCL/PEG/PCL triblock copolymers by using calcium catalyst. **Polymer**, v. 44, 2025–2031, 2003.

PINTO, A.L.N. **Anti-histamínicos H3: uma nova classe terapêutica em potencial.** Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 2012.

POLIÓIS

<[http://aditivosingredientes.com.br/upload\\_arquivos/201601/2016010952517001454073482.pdf](http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201601/2016010952517001454073482.pdf)> Acessado no dia 22 de setembro de 2016, às 21,5h.

POLÖNEN, I.; VAHTERISTO, L.T.; TANHUANPÄÄ, E.J. Effect of Folic Acid Supplementation on Folate Status and Formate Oxidation Rate in Mink (*Mustela vison*). **Journal of Animal Science**, v.75, p.1569-1574, 1997.

PONTES, A.V. **Estudo de equivalência farmacêutica dos fármacos captopril e cloridrato de propranolol comercializados no programa farmácia popular do Brasil**. 144 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009.

PORTO, L.C. **Estudo de filmes finos e de nanopartículas obtidos pela auto-associação de copolímeros em bloco e sua interação com um oligo/polissacarídeo**. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 2011.

POWELL, G. M., Handbook of Water-Soluble Gums and Resins - **Polyethylene Glycol, cap. 18, Mc-Graw Hill Book Co**. New York, 1980.

POWERS, J. H.; **Am. J. Nutr.**, v. 77, p. 1352, 2003.

PRABHAKARAN, P.; AZZARITO, V.; JACOBS, T.; HARDIE, M.J.; KILNER, C.A.; EDWARDS, T.A.; WARRINER, S.L; WILSON, A.J. Conformational properties of O-alkylated benzamides. **Tetrahedron**, v. 68, n. 23, p. 4485-4491, 2012.

PRAHALADA, S.R; RHODES, L.; GROSSMAN, S.J.; HEGGAN, D.; KEENAN, K.P.; CUKIERSKI, M.A.; HOE, C.M.; BERMAN, C.; VAN ZWIETEN, M.J. Morphological and hormonal changes in the ventral and dorsolateral prostatic lobes of rats treated with Finasterida, a 5-alpha reductase inhibitor. **The Prostate**, v. 35, p. 157-164, 1998.

PUPE, C.G. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas nanoestruturados a base de ciclodextrinas de liberação de fármacos e suas aplicações terapêuticas**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

QI, M.; LI, X.; YANG, Y.; ZHOU, S. Electrospun fibers of acid-labile biodegradable polymers containing ortho ester groups for controlled release of paracetamol. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 445–452, 2008.

QINGHUI, H.; LI, F.; LI, Q.; LI, Y., JIA, L.; YANG J., et al.; Preparation and crystallization kinetics of new structurally well-defined star-shaped biodegradable poly(L-lactide)s initiated with diverse natural sugar alcohols. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 4, p. 2236-47, 2005.

QUAGLIA, F.; OSTACOLO, L.; NESSE, G.; CANCEILLO, M.; UNGARO, R.G.; PALUMBO, R.; ROTONDA, M.I, MAGLIO, G. Micelles based on amphiphilic PCL-PEO triblock and star-shaped diblock copolymers: Potential in drug delivery applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. v., 87, n.3, p. 563-564, 2008.

QUAMME, G.A. Loop diuretics. In: DIRKS, J.H.; SUTTON, R.A.L. Diuretics: physiology, pharmacology and clinical use. **Philadelphia: Saunders**, cap.5, p.86-116, 1986.

QUINQUENET, M.; OLLIVON, C.; GRABIELLE-MADELMONT, C. N. R. S. Polymorphism of hydrated sorbitol. **Organisation MolPculaire et Macromolkdaire. Thermochemica Actu**, v. 125, p.125-140, 1988.

RAINSFORD, K.D. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. **Inflammopharmacology**, v. 17, n. 6, p. 275-342, 2009.

RAMAKRISHN, S.; FUGIHARA, K.; TEO, W.E.; LIM. T.C.; MA, Z. An Introduction to Electrospinning and nanofibers. **World Scientific**, 2005.

RAMASESHAN, R., SUNDARRAJAN, S., JOSE, R., RAMAKRISHNA, S. Nanostructured ceramics by electrospinning. **Journal of Applied Physics**, v. 102, n. 11, p. 111101-111101-17, 2007.

RAMKUMAR, A.; LI, X.; LI, J. 2002. Synthesis and biodegradation of tri-block polymer of PEG-*b*-PHB-*b*-PEG.

[http://staff.science.nus.edu.sg/~scilooe/srp2002/sci\\_paper/IMRE/research\\_paper/Ais\\_hworiya1.pdf](http://staff.science.nus.edu.sg/~scilooe/srp2002/sci_paper/IMRE/research_paper/Ais_hworiya1.pdf). Acessado no dia 14 de outubro de 2016 as 20h.

RAMSDEN, J. Nanotechnology: **An Introduction. Elsevier**, p. 1-13, 2011.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. Substâncias antiinflamatórias e imunossupressoras. **Farmacologia**, 5 ed., p. 277-97, 2004.

RANGANATH, S.H.; WANG, C. Biodegradable microfiber implants delivering paclitaxel for post-surgical chemotherapy against malignant glioma. **Biomaterials**, v. 29, p. 2996–3003, 2008.

RAZEM, D.; KATUSIN-RAZEM, B. The effects of irradiation on controlled drug delivery/controlled drug release systems. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 77, 288–344, 2008.

RCM Nimed 100mg 27/06/2007 [em linha].  
<[http://www.infarmed.pt/informed/download\\_ficheiro.phpmed\\_id=6104&tip\\_doc=rcm](http://www.infarmed.pt/informed/download_ficheiro.phpmed_id=6104&tip_doc=rcm).>  
> Acessado no dia 05 de outubro de 2016, as 13h.

REFAT, M. S., et al. Spectroscopic and thermal degradation behavior of Mg(II), Ca(II), Ba(II) and Sr(II) complexes with paracetamol drug. **Arabian Journal of Chemistry**, p. 1-12, 2013.

REPASKE, R.; REPASKE A. C. Quantitative requirements for exponential growth of *Alcaligenes eutrophus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 32, p. 585-591, 1976.

ROA, J. P. B. et al. Síntese e caracterização do copolímero poli(3-hidroxi-butilato-co- $\epsilon$ -caprolactona) a partir de poli(3-hidroxi-butilato) e poli( $\epsilon$ -caprolactona). **Polímeros**, v. 20, n 3, p. 221-226, 2010.

ROA, JUAN PEDRO BRETAS. **Síntese e Caracterização do Copolímero P(HB-co-CL) em Diferentes Condições Catalíticas** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São João Del Rei, Minas Gerais, 2008.

RODRIGUES, P. O.; STULZER, H.K.; CRUZ, A.P.; FOPPA, T.; CARDOSO, T.M.; SILVA, M.A.S. Equivalência farmacêutica entre comprimidos de propranolol comercializados no mercado nacional. **Infarma** **3**, v.18, n. 5/6, 2006.

ROESEL, R.A.; BLANKENSHIP, P.A.; HOMMES, F.A. HPLC assay of phenylalanine and tyrosine in blood spots on filter paper. **J. Clinica Chimica Acta.**, v. 156, n. 1, p. 91-96, 1986.

ROSEN, S. L. Fundamental principles of polymeric materials. 2a. Ed. **Wiley-Interscience**, p. 420, 1993.

RUCKER, R.B.; BAUERLY, K.; Pantothenic acid. In: ZEMPLINI, J.; RUCKER, R.B.; MCCORMICK, D.B.; SUTTIE, J.W. Handbook of Vitamins. New York, NY: **CRC Press**; p. 289-305, 2007.

RULAND, W. X-ray determination of crystallinity and diffuse disorder scattering, **Acta Crystallogr**, v.14, p.1180, 1961.

RUPP, C.; STECKEL, H.; MÜLLER, B.W. Solubilization of poorly water-soluble drugs by mixed micelles based on hydrogenated phosphatidylcholine. **Int J Pharm.**, v. 395, n.1-2, p. 272-80, 2010.

RUSSO, G.; LAMBERTI, G. Electrospinning of Drug-Loaded Polymer Systems: Preparation and Drug Release. **J Appl. Polym. Sci.**, v. 122, p. 3551–3556, 2011.

SAITO, M.; INOUE, Y.; YOSHINE, N. Cocrystallization and phase segregation of blends of poly (3-hydroxybutyrate) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). **Polymer**, v.42, p.5573-5580, 2001.

SALLES, T.H.C. **Eletrofição de nanofibras de blendas de gelatina/pvp a partir de soluções de água e ácido acético**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2013.

SALVADOR, U. **Química Orgânica 3**. Ed. Saraiva, 2000.

SANDA, F.; SANADA, H.; SHIBASAKI, Y.; ENDO, TAKESHI. Star Polymer Synthesis from  $\epsilon$ -Caprolactone Utilizing Polyol/Protonic Acid Initiator. **Macromolecules**, v. 35, p. 680-683, 2002.

SANTOS, C.A.; MAZZOLA, P.G.; POLACWIECZ, B.; KNIRSCH, M. C.; CHOLEWA, O.; PENNA, T.C.V. Stability of furosemide and aminophylline in parenteral solutions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 1, 2011.

SANTOS, G.A. **Produção de compósitos à base de polihidroxibutirato e hidroxiapatita para a aplicação como biomateriais**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Juazeiro, Bahia, 2013.

SANTOS, G.G.; MARINHO, S.M.O.C; MIGUEL, F.B. Polímeros como biomateriais para o tecido cartilaginoso Polymers as biomaterials for cartilaginous tissue. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, v.12, n.3, p.367-373, 2013.

SANTOS, R.F.S. **Estabilização radiolítica do polímero biodegradável poli(hidroxibutirato) (PHB)**. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2007.

SARNI, R. Temas de nutrição em pediatria. **Departamento de Nutrição da Sociedade Brasileira em Pediatria**, v 1, 2004.

SCHAFFAZICK, S.R; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.



SCHINDLER, M.; AHMED, I.; KAMAL, J.; NUR-E-KAMAL, A.; GRAFE, T. H.; CHUNG, H. Y., MEINERS, S. **Biomaterials**, v. 26-28, p. 5624, 2005

SCHUEREN, L.V.; MOLLET, T.; CEYLAN, Ö.; CLERCK, K.D. The development of polyamide 6.6 nanofibres with a pH-sensitive function by electrospinning. **European Polymer Journal**, v. 46, p. 2229–2239, 2010.

SEABRA, C.I.R. **Farmacocinética do Ibuprofeno**. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 2015.

SEBASTINE, I. M.; WAKEMAN, R. J. Consumption and environmental hazards of pharmaceutical substances in the UK. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 81 (B4), p. 229-235, 2003.

SEBBEN, V.C.; LUGOCH, R.W.; SCHLINKER, C.S.; ARBO, M.D.; VIANNA, R.L. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica do paracetamol. **Rev. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 46, n. 2, p. 143-148, 2010.

SELMIN, F.; PUOCI, F.; PARISI, O.I.; FRANZÉ, S.; MUSAZZI, U.M.; CILURZO, F. Caffeic Acid-PLGA Conjugate to Design Protein Drug Delivery Systems Stable to Irradiation **J. Funct. Biomater.**, v. 6, p. 1-13, 2015.

SHARMA, R.; RAY, A. R. V.; **Macromol. Chem. Phys.** C35, 327, 1995.

SHUAI, X.; HE, Y.; ASAKAWA, N.; INOUE, Y. Miscibility and Phase Structure of Binary Blends of Poly(L-lactide) and Poly(vinyl alcohol). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 81, p. 762–772, 2001.

SHUAI, X.T.; JEDLINSKI, Z.; LUO, Q.; FARHOD, N. Synthesis of novel block copolymers of poly (3-hidroxi butyric acid) with poly (ethylene glycol) through anionic polymerisation. **Chinese Journal of Polymer Science**, v.18, n. 1, p. 19-23, 2000.

SILL, T.J.; RECUM, H. A. Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. **Biomaterials**, v. 29, p.1989-2006, 2008.

SILVA, F.M. **Desenvolvimento, caracterização e estudo pré-clínico de dispositivos implantáveis biocompatíveis baseados no polímero 64 poli(ε - caprolactona)**. 143p. Doutorado. Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SILVA, P. Farmacologia. 4. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 697, 1994.

SILVA, T.H.A. **Modelagem molecular com o auxílio do computador**. Prática III.3 – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006.

SILVEIRA, G.S; SILVA, L.D; MOSQUEIRA, V.C.F.; SOUZA, J. Estudo biofarmacotécnico comparativo entre medicamentos referência, genérico, similar e magistral contendo furosemida, um fármaco de baixa solubilidade e baixa permeabilidade. **Rev. Bras. Farm.**, v. 92, n. 3, p. 306-313, 2011.

SILVEIRA, M.M.; JONAS, R. The biotechnological production of sorbitol. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v. 59, p. 400-8, 2002.

SINHA, V. R. et al. Poly-ε-caprolactone microspheres and nanospheres an overview. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 1-23, 2004.

SOUSA, J.P.B.; FURTADO, N.A.J.C.; JORGE, R.; SOARES, A.E.E.; BASTOS, J.K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Rev Bras Farmacogn.**, v. 17, p. 85-93, 2007.

SOUZA, A.C.S.D. et al. Riboflavina: uma vitamina multifuncional. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 887-891, 2005.

SOUZA, A.C.S.; FERREIRA, C.V.; JUCÁ, M.B.; AOYAMA, H. Riboflavina: uma vitamina multifuncional. **Quim. Nova**, v. 28, n. 5, p. 887-891, 2005.

SRIKANTH, M.V.; RAM, B.J.; SUNIL, S.A.; RAO, N.S.; MURTHY, K.V. R. Development and validation of HPLC method for estimation of propranolol HCl in human plasma. **Journal of Scientific & Industrial Research J Sci Ind Res.**, v. 71, p. 120-123, 2012.

STANZIONE, M.; LONGO, M.; PETILLO, P.; RICCITIELLO, O., CALARCO.A.; VALAREZO,E.; NAPOLI. F.; VITTORIA, V.; PELUSO, G. Enhanced in vitro antitumor activity of a titanocene complex encapsulated into Polycaprolactone (PCL) electrospun fibers. **J Appl Biomater Funct Mater**, v. 11, n. 1, p. 61 – 70, 2013.

SUDESH, K.; ABE, H.D.Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. **Progress in Polymer Science.**, v. 25, p.1503-55, 2000.

SWEETMAN, S. C., Ed. Martindale Guía completa de consulta farmacoterapéutica. **Barcelona: Pharma Editores**, p.2721, 1 ed. 2003.

SWEETMAN, S.C. Dose adjustment in renal impairment, **British Medical Journal**, v.331, n. 7511, p. 292-293, 2005.

TADA, E. S. **Blendas com poli(3-hidroxibtirato) (PHB) e copolímeros aleatórios: comportamentos de fases e cinética de cristalização**. 247f., Tese (Doutorado em ciências), Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TAGLIATI, C. A. Antiinflamatórios. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 2008.

TAHILIANI, A.G.; BEINLICH, C.J. Pantothenic acid in health and disease. **Vitam Horm.**, v. 46, p. 165-228, 1991.

TAMBOLI, V.; MISHRA, G.P.; MITRA, A.K. Novel pentablock copolymer (PLA-PCL-PEG-PCL-PLA) based nanoparticles for controlled drug delivery: Effect of copolymer compositions on the crystallinity of copolymers and in vitro drug release profile from nanoparticles. **Colloid Polym Sci.**, v. 291, n. 5, p. 1235–1245, 2013.

TAO, W.; ZENG, X.; LIU, T.; WANG, Z.; XIONG, Q.; OUYANG, C.; HUANG, L.; MEI, L. Docetaxel-loaded nanoparticles based on star-shaped mannitol-core PLGA-TPGS diblock copolymer for breast cancer therapy. **Acta Biomaterialia**, v. 9, p. 8910–8920, 2013.

TATEDA, N.; MATSUHISA, K.; HASEBE, K.; KITAJIMA, N.; MIURAC, T. High-performance liquid chromatographic method for rapid and highly sensitive determination of histidine using postcolumn fluorescence detection with o-hthaldialdehyde. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 718, n. 2, p. 235–241, 1998.

TAVARES, R. **Apostila de práticas – Físico-Química**. Universidade Federal do Ceará. Disponível em: [http://www.labufc.com.br/arqs/Apostila\\_FQII.pdf](http://www.labufc.com.br/arqs/Apostila_FQII.pdf). Acessado em 22 de setembro de 2016.

TAYLOR, G. I. **Proceedings of the Royal Society of London Series A**, v. 280, p. 383, 1964.

TEIXEIRA, M.J.; BIELA, L.; TEIXEIRA, W.G.J.; ANDRADE, D.C.A. **Rev. Méd.** v. 80, p. 179-244, 2001.

TEIXEIRA, R.S. **Nimesulida: uso do medicamento pelos utentes da Farmácia Comunitária**. Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal, 2009.

TENG, L.; NIE, W.; ZHOU, Y.; CHEN, P. Synthesis and characterization of star-shaped poly(Lactide) s with an erythritol core and evaluation of their rifampicin-loaded microspheres for controlled drug delivery. **Polym. Bull.**, v. 73, p. 97–112, 2016.

TENG, L.; NIE, W.; ZHOU, Y.; SONG, L.; CHEN, P. Synthesis and characterization of star-shaped PLLA with sorbitol as core and its microspheres application in controlled drug release. **J. Appl. Polym. Sci.** 2015.

TONHI, E.; COLLINS, K.E.; JARDIM, I.C.S.F.; COLLINS, C.H. fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (clae–fr) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Quim. Nova**, v. 25, n. 4, p. 616-623, 2002.

TORCHILIN, V. P.; **Pharm. Res.**, v. 24, p. 1, 2007.

TORRIE, G.M.; VALLEAU, J.P. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free energy estimation: umbrella sampling. **J. Comput Phys.**, v. 23, p.187-99, 1977.

TSAI, P. P.; SCHREUDER-GIBSON, H.; GIBSON, P. Different electrostatic methods for making electret filters **J. Electrostat.**, v. 54, n. 3-4, p.333-341, 2002.

UPPAL, R.; RAMASWAMY G.N.; ARNOLD, C.; GOODBAND R.; WANG, Y. **Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials**, v. 97B, p. 20-29, 2011.

VALENTE, L.M.M.; ALVES, F.F.; BEZERRA, G.M.; ALMEIDA, M.B.S.; ROSARIO, S.L.; MAZZEI, J.L.; D'AVILA, L.A.; SIANI, A.C. Desenvolvimento e aplicação de metodologia por cromatografia em camada delgada para determinação do perfil de alcalóides oxindólicos pentacíclicos nas espécies sul-americanas do gênero *Uncaria*. **Rev Bras Farmacogn.**, v. 16, p. 216-223, 2006.

VALIZADEH, A.; FARKHANI, S.M. Electrospinning and electrospun nanofibres. **Nanobiotechnol.**, v. 8, p. 83, 2014.

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

VILLELA, G. G.; HARGREAVES, A. B. Estudos sobre a dosagem microbiológica das vitaminas do complexo B - I. Riboflavina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 167-176, 1945.

WADE, M.A.; TUCKER, H.N. Antioxidant characteristics of L-histidine. **J. Nutr. Biochem.**, v. 9, n.6, p. 308-15, 1998.

WANG, S.S.; QIAO, F.Y.; FENG, L.; LV J.J. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome in China. **J. Zhejiang Univ Sci B.**, v. 9, n. 2, p. 93-9, 2008.

WEBB, M.E.; SMITH, A.G.; ABELL, C. Biosynthesis of pantothenate. **Nat Prod Rep.**, v. 21, p. 695-721, 2004.

WÉMEAU-STERVINO, L., et al. L'allergie au paracétamol. **Revue française d'allergologie**, v. 51, p. 332–335, 2011.

WILLIAMS, K.; DAY, R.; KNIHINICKI, R.; DUFFIELD, A. The stereoselective uptake of ibuprofen enantiomers into adipose-tissue. **Biochemical Pharmacology**, v. 35, n. 19, p. 3403-3405, 1986.

WILLIAMS, R.J. Pantothenic acid – a vitamin. **Science**, v. 89, p. 486, 1939.

WILSON, R.D.; JOHNSON, J.A.; WYATT, P.; ALLEN, V.; GAGNON, A.; LANGLOIS, S.; BLIGHT, C.; AUDIBERT, F.; DÉSILETS, V.; BROCK, J.A.; KOREN, G.; GOH, Y.I.; NGUYEN, P.; KAPUR, B.; Genetics Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada and The Motherisk Program. Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. **J. Obstet Gynaecol Can.**, v. 29, n. 12, p. 1003-26, 2007.

WOODRUFF, M. A.; HUTMACHER, D. W. The Return of forgotten Polymer Polycaprolactone. **Progress in Polymer Science**, v. 35, p. 1217–1256, 2010.

WOOLLARD, D.C.; INDYK, H.E.; CHRISTIANSEN, S.K. The analysis of pantothenic acid in milk and infant formulas by HPLC. **Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 201–208, 2000.

XIE, J.; WANG, C. Electrospun Micro- and Nanofibers for Sustained Delivery of Paclitaxel to Treat C6 Glioma in Vitro. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 8, 2006.

XU, X.; CHEN, X.; WANG, Z.; JING, X. Ultrafine PEG–PLA fibers loaded with both paclitaxel and doxorubicin hydrochloride and their in vitro cytotoxicity. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, p. 18–25, 2009.

YANG, Y.Q.; ZHAO, B.; LI, Z.D.; LIN, W.J.; ZHANG, C.Y.; GUO, X.D.; WANG, J.F.; ZHANG, L.J. pH-sensitive micelles self-assembled from multi-arm star triblock copolymers poly(e-caprolactone)-b-poly(2-(diethylamino)ethyl methacrylate)-b-poly(poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate) for controlled anticancer drug delivery. **Acta Biomaterialia**, v. 9, p. 7679–7690, 2013.

YEH, M. K. The stability of insulin in biodegradable microparticles based on blends of lactide polymers and polyethylene glycol. **J. Microencapsulation**, v.17, n. 6, p. 743–756, 2000.

YONG, W.C.; JAEHWI, L.; SANG, C.L.; KANG, M.H.; KINAM, P.; Hydrotropic agents for study of in vitro paclitaxel release from polymeric micelles, **Journal of Controlled Release**. v. 97, p. 249– 257, 2004.

YOUM, I.; MUROWCHICK, J.B.; YOUAN, B.C. Entrapment and release kinetics of furosemide from pegylated nanocarriers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 94, p. 133– 142, 2012.

YOUM, I.; YOUAN, B.C. Uptake mechanism of Furosemide-loaded pegylated nanoparticles by cochlear cell lines. **Hearing Research**, v. 304, p. 7-19, 2013.

YOUNG, J. S.; WOO, J. K.; HYUK, S. Y. Therapeutic applications of electrospun nanofibers for drug delivery systems. **Archives of Pharmacal Research**, v. 37, n. 1, p. 69–78, 2014.

YU, L.; HU, H.; CHEN, L.; BAO, X.; LI, Y.; CHEN, L.; XU, G.; YEB, X.; DING, J. Comparative studies of thermogels in preventing post-operative adhesions and corresponding mechanisms. **Biomater. Sci.**, v. 2, p. 1100–1109, 2014.

YU, Y.; KONG, L.; LI, L.; LI, N.; YAN, P.; YU et al. Antitumor Activity of Doxorubicin-Loaded Carbon Nanotubes Incorporated Poly(Lactic-Co-Glycolic Acid) Electrospun Composite Nanofibers Nanoscale. **Research Letters**, v.10, p. 343, 2015.

ZALIPSKY, S.; GILON, C.; ZILKHA, A. Attachment of Drugs to Polyethylene Glycols, **European Polymer Journal**, vol. 19, p. 11 183,1983.

ZEMPLANI, J.; GALLOWAY, J.R.; MCCORMICK, D.B. Pharmacokinetics of orally and intravenously administered riboflavin in healthy humans. **Am J Clin Nutr.**, v. 63, p.54-66, 1996.

ZENG, J.; YANG, L.; LIANG, Q.; ZHANG, X.; GUAN, H.; XU, X.; CHEN, X.; JING, X. Influence of the drug compatibility with polymer solution on the release kinetics of electrospun fiber formulation. **Journal of Controlled Release**, v. 105, p. 43–51, 2005.

ZHANG, L. L.; GOH, S. H.; LEE, S. Y.; HEE, G. R. **Polymer**, v. 41. p. 1429-1439, 2000.

ZHANG, L.; HE, Y.; MA, G.; SONG, C.; SUN, H. Paclitaxel-loaded polymeric micelles based on poly( $\epsilon$ -caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly( $\epsilon$ -caprolactone) triblock copolymers: in vitro and in vivo evaluation. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v.8, p. 925–934, 2012.

ZHANG, Y.; LIM, C.T.; RAMAKRISHNA, S. Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. **Journal of Materials Science: materials in medicine**, v. 16, p. 933 – 946, 2005.



ZHANG, Y.; CHEN, J.; ZHANG, G.; LU, J.; YAN, H.; LIU, K. Sustained release of ibuprofen from polymeric micelles with a high loading capacity of ibuprofen in media simulating gastrointestinal tract fluids. **Reactive & Functional Polymers**, v.72, p. 359–364, 2012.

ZHOU, J.; CAO, C.; MA, X.; LIN, J. Electrospinning of silk fibroin and collagen for vascular tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 47, n 4, p. 514–5191, 2010.

ZHOU, S.; DENG, X.; YANG, H. Biodegradable poly( $\epsilon$ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system. **Biomaterials**, v. 24, p. 3563–3570, 2003.

ZILLMER, T.A.; VARELLA, R.F.; ROSSETE, A.N. Avaliação de algumas características físico-químicas da água do Ribeirão Salgadinho, Nova Xavantina-MT. **Holos Environment**, v.7, n.2, p. 123, 2007.

**ANEXO A (RESUMO DA 1ª PATENTE)****NANO OU MICROFIBRAS POLÍMERICAS BIODEGRADÁVEIS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS**

O relatório desenvolvido traz a fabricação de nanofibras ou microfibras de polímeros biodegradáveis pela técnica de eletrofição. Um método simples e de baixo custo, que permite a incorporação de drogas de polaridades diversas, úteis para novos dispositivos nanoestruturados de liberação controlada de drogas. Os resultados obtidos mostram boa integração de substâncias de naturezas diversas às fibras eletrofiadas, preservando características físico-químicas das matrizes aplicadas. Adicionalmente, a resistência radiolítica destas matrizes possibilitou o uso de radiação gama, em doses até duas vezes superior à necessária para promover esterilização de artefatos médicos.

## MICELAS DE COPOLÍMEROS EM BLOCO BIODEGRADÁVEIS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

O relatório desenvolvido traz a síntese de copolímeros anfífilicos constituídos por domínio do poliéster, e uma parte hidrofílica, podendo ser um polímero hidrofílico ou um açúcar-álcool. A síntese desses originou copolímeros tribloco e em estrela, os quais foram caracterizados por RMN, FT-IR e DR-X. Posteriormente os copolímeros foram matérias-primas para confecção de micelas biodegradáveis, que serão usadas para liberação controlada de fármacos. A fabricação dessas micelas foi através de um processo simples, de baixo custo e de tempo de produção relativamente reduzido, sendo considerando também que houve uma diminuição na utilização de uma gama de excipientes, comumente encontradas nas formas convencionais de liberação controlada. As micelas foram caracterizadas pelo tamanho, cujos valores foram inferiores a 1  $\mu\text{m}$  e através da estabilidade, em que micelas formadas por copolímero estrela demonstraram maior estabilidade. As micelas ainda passaram pela radioesterilização e não foram detectadas presença de subprodutos de radiólise. Esses resultados mostram-se promissores para aplicações destes materiais na indústria farmacêutica, como dispositivos de liberação controladas de fármacos radioesterilizáveis por radiação gama  $^{60}\text{Co}$ .



TAPETES POLIMÉRICOS MICROFIBRILARES BIODEGRADÁVEIS  
RADIOESTERILIZÁVEIS COMO SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE  
AMINOÁCIDOS E VITAMINAS PARA SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL

O dispositivo microfibrilar radiosterilizável reivindicado no relatório, tem por finalidade a liberação controlada de vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais, sendo trabalhado com as vitaminas B2, B5 e B9 e os aminoácidos L-fenilalanina e L-histidina. As fibras têm como público alvo prisioneiros de guerras, pacientes com graves distúrbios metabólicos e países com baixo índice nutricional. Em foco no desenvolvimento desse dispositivo foram realizados determinados métodos, tais como as imagens por microscopia eletrônica de varredura, indicando a presença de fibras em escala micrométrica; a difratometria de raio-X, que confirmou as interações cristalinas e indicou o grau de cristalinidade. Sendo realizados também o DSC por meio da variação de entalpia de fusão, fornecendo dados de apoio a determinação do grau de cristalinidade de cada fibra, e análises térmicas TGA, em que as substâncias bioativas adicionadas não alteraram a temperatura de degradação da matriz polimérica. Os resultados dos testes *in vitro* realizados, mostraram lixiviação na matriz polimérica na degradação hidrolítica, principalmente as que continha a vitamina B5; na taxa de liberação das cargas bioativas das fibras, essas retiveram em sua maioria as cargas, como também demonstraram um percentual superior a 95% de eficiência de incorporação. Finalmente, os tapetes microfibrilares radioesterilizados com doses de 25 kGy não apresentaram subprodutos pós radiação gama.