

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

SIMONE DE FÁTIMA MEDEIROS GUEDES BABONI

**Síntese e Caracterização do Copolímero Poli(N-vinilcaprolactama-co-
Ácido acrílico) quanto à Temperatura Crítica Inferior de Solubilização
(LCST) tendo em vista sua Utilização na Encapsulação de Princípios
Ativos**

Lorena - SP

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SIMONE DE FÁTIMA MEDEIROS GUEDES BABONI

**Síntese e Caracterização do Copolímero Poli(N-vinilcaprolactama-co-Ácido
acrílico) quanto à Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) tendo em
vista sua Utilização na Encapsulação de Princípios Ativos**

Dissertação de Mestrado apresentada à Escola de
Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Mestre em Engenharia
Química.

Área de Concentração: Novos Materiais e Química Fina
Orientadora: Dr^a. Jayne Carlos de Souza Barboza

Lorena - SP
2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

SIMONE DE FÁTIMA MEDEIROS GUEDES BABONI

Síntese e Caracterização do Copolímero Poli(N-vinilcaprolactama-co-Ácido acrílico) quanto à Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) tendo em vista sua Utilização na Encapsulação de Princípios Ativos

Dissertação de Mestrado apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Novos Materiais e Química Fina

Orientadora: Dr^a. Jayne Carlos de Souza Barboza

Aprovada em 24 de agosto de 2006

Banca Examinadora

Dr^a. Jayne Carlos de Souza Barboza – Presidente da Banca/Escola de Engenharia de Lorena

Dr^a. Maria Inês Ré/IPT

Dr. Amilton Martins dos Santos/Escola de Engenharia de Lorena

**Dedico este trabalho aos meus pais,
que foram as pessoas que mais lutaram
para que eu chegasse até aqui, sempre
me apoiando e incentivando a alcançar
meus ideais e objetivos.**

Agradecimentos

A Deus, em primeiro lugar.

A minha família, pela compreensão e apoio durante a realização deste trabalho.

A minha orientadora Profa. Dra. Jayne Carlos de Souza Barboza, pela orientação, incentivo e dedicação.

Ao Prof. Dr. Amilton Martins dos Santos, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos professores, Gilberto Marques da Cruz, Messias Borges Silva, Marivone Roma e António Aarão Serra, pelos conhecimentos adquiridos nas disciplinas cursadas.

À Profa. Dra. Heizir Ferreira de Castro e às amigas Larissa e Ana Beatriz, pelas análises de UV/visível.

Ao Prof Pedro, pela ajuda na correção dos trabalhos submetidos a eventos científicos.

Ao Prof Durval Rodrigues Jr, Prof Paulo Suzuki e funcionários do Laboratório de Microscopia da EEL/USP.

Aos funcionários e amigos dos laboratórios de Química Fina e de Polímeros da EEL/USP.

A Profa. Dra. Maria Inês Ré, do Instituto de Pesquisas Tecnológicas, pela disponibilização de todos os equipamentos do Laboratório de Tecnologia de Partículas.

Aos funcionários do IPT Shirley e Pierre, pelo auxílio nos ensaios de encapsulação realizados no Laboratório de Tecnologia de Partículas.

A CAPES, pelo apoio financeiro e à FAPESP, pela utilização do equipamento de RMN ^1H , adquirido através de projeto financiado pela instituição.

Aos amigos e companheiros da EEL, Daniella, Paulo, Fátima, Raul e Luciana.

A todos os amigos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

Resumo

BABONI, S. F. M. G. **Síntese e Caracterização do Copolímero Poli(N-vinilcaprolactama-co-ácido acrílico) quanto à Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) tendo em vista sua Utilização na Encapsulação de Princípios Ativos.** 2006. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena.

Polímeros sensíveis são aqueles que, em solução aquosa, respondem, com mudanças em suas propriedades, a estímulos que podem ser temperatura, pH, pressão, entre outros. Poli(N-vinilcaprolactama) (PNVCL) é um exemplo de polímero termosensível que possui LCST (Temperatura Crítica Inferior de Solubilização) próxima à temperatura fisiológica (30-40°C), apresentando mudança de fase, de um estado solúvel para insolúvel, no qual as cadeias se encontram na forma de aglomerados. Além disso, é esperado que PNVCL seja mais biocompatível, ou seja, cause menos distúrbios no organismo vivo, do que alguns outros polímeros do gênero. Esta combinação de propriedades (termosensibilidade e biocompatibilidade) faz com que este polímero encontre aplicação em sistemas de liberação de fármacos. Atualmente, estão sendo estudados alguns tipos de copolímeros que respondem a mais de um estímulo, por exemplo, temperatura e pH (grupos carboxílicos). Um fator importante nesta combinação é a possibilidade de mudar a LCST da PNVCL através da incorporação de comonômeros com grupos hidrofóbicos (diminuição da LCST) ou hidrofílicos (aumento da LCST), em sua cadeia polimérica. Poli(ácido acrílico) (PAA) é um polímero que apresenta sensibilidade ao pH. O ácido acrílico (AA) é um comonômero que promove a funcionalização da PNVCL, conferindo ao copolímero sensibilidade ao pH, e também aumento da LCST, devido à sua hidrofilicidade. A síntese do Poli(NVCL-co-AA) tem como objetivo tanto a combinação das propriedades de termosensibilidade e sensibilidade ao pH, quanto ocasionar um aumento da LCST, quando comparado ao homopolímero PNVCL, aumentando, assim, sua estabilidade para aplicação *in vivo*, uma vez que a temperatura de transição será elevada para um valor acima de 37°C, ou seja, superior à temperatura fisiológica (~ 36,5°C). Este trabalho de mestrado consiste, portanto, na síntese dos homopolímeros PNVCL e PAA, via radical livre, utilizando AIBN, como iniciador e ácido 3-mercaptopropiônico, como agente de transferência de cadeia, cuja finalidade é funcionalizar a extremidade da cadeia polimérica, e na síntese do copolímero Poli(NVCL-co-AA), via radical livre, partindo-se de diferentes composições monoméricas a fim de estudar a influência da proporção de AA na transição de fase do copolímero por meio de análises UV/visível. Realizou-se um estudo cinético das polimerizações através de análises de RMN ¹H. Nas polimerizações, empregou-se solventes prótico e aprótico para estudar como a polaridade do solvente influi na cinética de reação. Após a obtenção de copolímeros Poli(NVCL-co-AA), com temperatura de transição superior a 37°C, realizou-se a microencapsulação de um agente ativo genericamente conhecido como Cetoprofeno, por *spray-dryer* e pelo método de difusão em sistema de pseudo-emulsão e estudou-se a liberação *in vitro* desta droga das micropartículas de copolímero obtidas por *spray-dryer*. Nestes ensaios estudou-se a influência da concentração de polímero e droga nas partículas, a influência do pH do meio de liberação, utilizando-se pH 1,2 e 7,4, simulando o fluido gastro-intestinal e, finalmente, estudou-se a influência da temperatura, realizando-se os ensaios em 37°C e 38°C.

Palavras-chave: N-vinilcaprolactama, Ácido acrílico, copolimerização, LCST, composição monomérica, microencapsulação.

Abstract

BABONI, S. F. M. G. **Synthesis and Characterization of the Copolymer Poly(N-vinylcaprolactam-co-acrylic acid) about the Lower Critical Solution Temperature (LCST) for its use in the Encapsulation of active principles.** 2006. 113f. Dissertation (Master of Science in Chemical Engineering) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena.

Sensitive polymers are polymers that respond with changes in properties to stimuli that can be temperature, pH, pressure and others. Poly(N-vinylcaprolactam) is an example of thermo-responsive polymer that possess LCST (lower critical solution temperature) next to the physiological temperature (30-40°C), presenting phase transition, changing from a soluble state to a non-soluble state, which chains presents the complex form. Moreover, PNVCL is expected to be a more biocompatible polymer, e. g., it causes less riots in the alive organism, than others thermo-responsive polymers. This combination of properties (thermosensibility and biocompatibility) makes this polymer meets the requirements for applications in drug release systems. Nowadays, some types of copolymers that respond for more than one stimulus for example, temperature and pH (carboxylic groups) have been studied. An important factor in this combination is the possibility to change the LCST of PNVCL through the incorporation of comonomers that possess hydrophobic groups (reduction of LCST) or hydrophilic groups (increase of LCST) in their polymeric chains. Poly(acrylic acid) (PAA) is a pH responsive polymer. Acrylic acid is a comonomer that promotes the functionalization of the PNVCL, giving to the copolymer pH sensibility and promoting an increase of the LCST due to its hydrophilicity. The main objective of the synthesis of Poly(N-vinylcaprolactam-co-acrylic acid) is to combine the pH- and thermo-responsive properties as well as to increase the LCST, in comparison with the homopolymer PNVCL, also increasing its stability for "in vivo" application, once the transition temperature will be increased to a value above 37°C, e g., above the physiological temperature (36,5°C). Therefore, this master's work consists on the synthesis of the homopolymers PNVCL and PAA by free radical polymerization, using AIBN as initiator and 3-mercaptopropionic acid as chain transfer agent, whose objective is to functionalize the extremity of the polymeric chain, and on the synthesis of the copolymers Poly(NVCL-co-AA), with different monomeric compositions in order to study the influence of the AA amount in the phase transition of the copolymer by UV/visible analyses. A kinetic study of the polymerizations was conducted by ¹H NMR analyses. In the polymerizations, it was used protic and unprotic solvents in order to study their influence on the polymerization kinetic. After the achievement of Poly(NVCL-co-AA), with transition temperature above 37°C, it was performed the microencapsulation of an active agent, generically known as Ketoprofen, by spray-dryer and by diffusion method in pseudo-emulsion system, and it was conducted a study "in vitro" of the drug release from the copolymer microparticles gotten by spray-dryer. On those assays, it was studied the influence of the polymer and drug concentration into the particles, the influence of pH of the release medium, using pH 1,2 an pH 7,4 in order to simulate gastrointestinal fluids and, finally, it was studied the influence of the temperature, at 37°C and 38°C.

Key-words: N-vinylcaprolactam, Acrylic acid, copolymerization, LCST, monomeric composition, microencapsulation.

Lista de Figuras

<i>Figura 1-1 Estrutura da Poli(N-vinilcaprolactama)</i>	24
<i>Figura 1-2 Estrutura do Poli (ácido acrílico)</i>	27
<i>Figura 1-3 Possíveis respostas de vias de administração de um princípio ativo: (a) dose oral; (b) overdose oral; (c) intravenosa e (d) liberação controlada ideal.</i>	31
<i>Figura 1-4 Representação do sistema constituído por polímero termosensível e droga em temperaturas abaixo da LCST(a) e acima da LCST(b).</i>	34
<i>Figura 1-5 Transporte do complexo polímero-droga na corrente sanguínea e sua precipitação nas células doentes devido à diferença de temperatura</i>	35
<i>Figura 1-6 Representação do sistema constituído pelo Poli(NVCL-co-AA)/droga em pH ácido(a) e acima do pH de transição de fases, meio ligeiramente básico(b).</i>	36
<i>Figura 1-7 Estrutura do Bronopol</i>	37
<i>Figura 1-8 Estrutura do “Prodan”</i>	41
<i>Figura 2-1 Transferência de cadeia ao CTA na síntese da PNVCL via radical livre.</i> ..	47
<i>Figura 2-2 Sistema de polimerização utilizado.</i>	48
<i>Figura 2-3 Espectro de RMN ¹H do meio de copolimerização da NVCL com o AA e estrutura química geral dos monômeros, onde “a” representa o próton, cujo sinal foi utilizado na integração dos espectros de RMN ¹H.</i>	52
<i>Figura 2-4 Estrutura do Cetoprofeno</i>	52
<i>Figura 2-5 Mini “spray-dryer” utilizado na encapsulação de Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA)</i>	54
<i>Figura 2-6 Esquema de encapsulação de um agente ativo por “spray-dryer”</i>	54
<i>Figura 2-7 Banho utilizado nos ensaios de liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA)</i>	58
<i>Figura 2-8 Curva de calibração para o Cetoprofeno em pH 1,2</i>	60
<i>Figura 2-9 Curva de calibração para Cetoprofeno em pH 7,4.</i>	61
<i>Figura 3-1 Espectro de RMN ¹H da NVCL purificada por destilação a vácuo.</i>	64
<i>Figura 3-2 Espectro de RMN ¹H do AA purificado por destilação a vácuo.</i>	64
<i>Figura 3-3 Curva de conversão de NVCL em PNVCL em função do tempo nas homopolimerizações.</i>	69
<i>Figura 3-4 Curva de conversão do AA em PAA em função do tempo nas homopolimerizações.</i>	70
<i>Figura 3-5 Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) determinada por transmitância a 570nm, [PNVCL] = 5g/L</i>	71

<i>Figura 3-6 Curva de conversão de NVCL em função do tempo nas reações de copolimerização.....</i>	<i>74</i>
<i>Figura 3-7 Curva de conversão do AA em função do tempo nas reações de copolimerização.....</i>	<i>74</i>
<i>Figura 3-8 Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) do Poli(NVCL-co-AA) determinada por transmitância a 540nm, [Poli(NVCL-co-AA)] = 5g/L.....</i>	<i>76</i>
<i>Figura 3-9 Imagem obtida por microscopia ótica, com ampliação de 40X do produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.....</i>	<i>78</i>
<i>Figura 3-10 Imagem obtida por microscopia ótica, com ampliação de 40X, produto seco da amostra com composição polímero/droga 2:1.....</i>	<i>78</i>
<i>Figura 3-11 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 50X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 3-12 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 10000X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 3-13 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 20000X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.....</i>	<i>79</i>
<i>Figura 3-14 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 200X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 2:1.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 3-15 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 20000X.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 3-16 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 20000.....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 3-17 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 700X, para a amostra de Cetoprofeno puro.....</i>	<i>81</i>
<i>Figura 3-18 Imagens obtidas por microscopia ótica do meio, com ampliação de 40X (a) e (b) e de 100X (c) e (d), no instante da adição da solução contendo o sistema polímero/droga em DMF, à solução aquosa.....</i>	<i>82</i>
<i>Figura 3-19 Imagens obtidas por microscopia ótica, com ampliação de 40X (a), (b) e (c), do meio após 17 horas, sob agitação mecânica.....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 3-20 Micrografia obtida por MEV do produto da microencapsulação de Cetoprofeno utilizando o método de difusão do solvente em pseudo-emulsão, com ampliação de 50X(a) e 450X(b).....</i>	<i>84</i>
<i>Figura 3-21 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 46X(a) e 450X(b), do aglomerado de Cetoprofeno.....</i>	<i>84</i>
<i>Figura 3-22 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, nas temperaturas de 37 e 38°C, em pH 1,2.....</i>	<i>86</i>
<i>Figura 3-23 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, nas temperaturas de 37 e 38°C, em pH 7,4.....</i>	<i>86</i>

<i>Figura 3-24 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro, não encapsulado, para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, em pH 1,2 e pH 7,4, na temperatura de 37°C.....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 3-25 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro, não encapsulado, para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, em pH 1,2 e pH 7,4, na temperatura de 38°C.....</i>	<i>88</i>
<i>Figura 3-26 Micrografia obtida por MEV da amostra com composição polímero/droga 1:1 após decorridas 24h de ensaio de liberação em pH 1,2 e nas temperaturas de 37°C(a) e 38°C(b).....</i>	<i>89</i>
<i>Figura 3-27 Micrografia obtida por MEV da amostra com composição polímero/droga 2:1 após decorridas 24h de ensaio de liberação em pH 1,2 e nas temperaturas de 37°C(a) e 38°C(b).....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 3-28 Difratoograma de Raios X da amostra de Cetoprofeno puro.....</i>	<i>91</i>
<i>Figura 3-29 Difratoograma de Raios X da amostra das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA/Cetoprofeno) com composição polímero/droga 1:1(a) e 2:1(b).</i>	<i>91</i>

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1-1 Condições de síntese e peso molecular de oNIPAAm e oNVCL com grupos carboxílicos terminais.....</i>	<i>26</i>
<i>Tabela 2-1 Composições polímero/droga utilizadas na encapsulação do Cetoprofeno</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 2-2 Formulação e condições de processo para a preparação de micropartículas de Poli(NVCL-co-AA)/Cetoprofeno pelo método de difusão do solvente em pseudo-emulsão.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabela 2-3 Amostra, massa, pH e temperatura para cada ensaio de liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA)</i>	<i>57</i>
<i>Tabela 2-4 Concentrações das soluções de Cetoprofeno em pH 1,2 e leituras de Absorbância no UV/visível.</i>	<i>59</i>
<i>Tabela 2-5 Concentrações das soluções de Cetoprofeno em pH 7,4 e leituras de Absorbância no UV/visível.</i>	<i>60</i>
<i>Tabela 3-1 Dados experimentais das homopolimerizações da NVCL via radical livre</i>	<i>65</i>
<i>Tabela 3-2 Dados experimentais das homopolimerizações do AA via radical livre..</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 3-3 Conversões parciais da NVCL em função do tempo nas homopolimerizações.</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 3-4 Conversões parciais do AA em função do tempo na homopolimerização.</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 3-5 Dados experimentais das copolimerizações realizadas variando-se a composição monomérica.</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 3-6 Conversões parciais da NVCL em função do tempo nas copolimerizações.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 3-7 Conversões parciais do AA em função do tempo nas copolimerizações.</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 3-8 LCST obtidas para os produtos das reações com diferentes composições monoméricas.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabela 3-9 Massas, diâmetro de partícula e polidispersidade de diâmetro de partículas, das amostras com diferentes composições polímero/droga.</i>	<i>78</i>

Lista de Símbolos

<i>ACE</i>	Acenafteno
<i>AIBN</i>	2,2'-azo-bis-isobutironitrila
<i>AA</i>	Ácido Acrílico
A_0	Área do deslocamento do próton da dupla ligação no tempo zero
A_t	Área do deslocamento do próton da dupla ligação num determinado tempo
<i>β-CD</i>	Beta-ciclodextrina
<i>CTA</i>	Agente de Transferência de Cadeia utilizado nas sínteses
<i>DMAEMA</i>	Metacrilato de dimetilamina
<i>DMF</i>	Dimetilformamida
<i>DMSO</i>	Dimetilsulfóxido
<i>DOX</i>	Doxorubicina
<i>DP</i>	Diâmetro de partículas
<i>DSC</i>	Calorimetria exploratória diferencial
<i>GPC</i>	Cromatografia de Permeação em Gel
<i>HEMA</i>	Metacrilato de 2-hidroetil
H_{PI}	Número de Prótons do Padrão Interno
<i>IPT</i>	Instituto de Pesquisas Tecnológicas
<i>LCST</i>	Temperatura Crítica Inferior de Solubilização
<i>LDH</i>	Dehidrogenase lactato
<i>MAA</i>	Ácido metacrílico

<i>MEV</i>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<i>MM_{CTA}</i>	Massa Molar do CTA
<i>MM_M</i>	Massa Molar do Monômero
<i>MPA</i>	Ácido 3-mercaptopropiônico
<i>MM</i>	Massa Molecular Teórica
<i>MTT</i>	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5difeniltetrazólio
<i>N_M</i>	Número de Moles do Monômero
<i>N_{PI}</i>	Número de Moles do Padrão Interno
<i>NVCL</i>	N-vinilcaprolactama
<i>oNIPPA_m</i>	Oligômeros de N-isopropilacrilamida
<i>oNVCL</i>	Oligômeros de N-vinilcaprolactama
<i>PAA</i>	Poli(Ácido Acrílico)
<i>PCL</i>	Poli(ϵ -caprolactona)
<i>PDP</i>	Polidispersidade de diâmetro de partículas
<i>PEG</i>	Poli(etileno glicol)
<i>PEO</i>	Poli(óxido de etileno)
<i>PET</i>	Poli(tereftalato de etileno)
<i>PI</i>	Padrão Interno
<i>PMAA</i>	Poli(Ácido Metacrílico)
<i>PNIPAA_m</i>	Poli(N-isopropilacrilamida)
<i>PNVCL</i>	Poli(N-vinilcaprolactama)
<i>PPC</i>	Calorimetria de pressão de perfusão
<i>PPS</i>	Polidispersidade do tamanho de partículas

<i>PS</i>	Tamanho de partículas
<i>PVA</i>	Poli(álcool vinílico)
<i>PVP</i>	Poli(vinilpirrolidona)
<i>RDX</i>	Difratometria de Raios X
<i>RMN ¹H</i>	Ressonância Magnética Nuclear de Próton
<i>RMN ¹³C</i>	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>SDS</i>	Dodecil sulfato de sódio
<i>SHPβ-CD</i>	Succinil-2-hidroxiopropil beta-ciclodextrina
<i>TC</i>	Terapia de Câncer
<i>TRAMS</i>	Medidas de anisotropia com tempo de resolução
<i>TS</i>	Teor de Sólidos
<i>TS_{máx}</i>	Teor de Sólidos Máximo
<i>x (%)</i>	Conversão parcial dos monômeros na Reação de Polimerização
<i>X (%)</i>	Conversão global da Reação de Copolimerização
<i>[M]₀</i>	Concentração molar de monômero no tempo igual a zero

Sumário

Introdução	17
Considerações iniciais	17
Justificativa e importância do tema	19
Objetivo da pesquisa	20
Conteúdo da Dissertação de Mestrado	22
1. Revisão Bibliográfica	23
1.1. Propriedades Sensíveis dos Polímeros	23
1.2. Transporte e Liberação Controlada de Princípios Ativos	30
1.3. Citotoxicidade dos polímeros	32
1.4. Princípio da Encapsulação/Liberação Controlada de Agentes Ativos	34
1.5. Sistemas de Liberação Controlada de Drogas na Terapia contra o Câncer	37
1.6. Microencapsulação de Agentes Ativos	38
1.7. Cinética de Liberação de Agentes Ativos	44
2. Materiais e Métodos	45
2.1. Materiais	45
2.1.1. Reagentes.....	45
2.1.2. Equipamentos, Acessórios e Vidrarias.....	45
2.2. Métodos	46
2.2.1. Purificação da N-vinilcaprolactama (NVCL).....	46
2.2.2. Purificação do Ácido Acrílico (AA).....	46
2.2.3. Purificação do 2,2'-azo-bis-isobutironitrila (AIBN).....	46
2.2.4. Secagem do 1,4-dioxano.....	47
2.2.5. Polimerizações	47
2.2.6. Determinação da Massa de Padrão Interno	48
2.2.7. Purificação dos Polímeros.....	49
2.2.7.1. Purificação da PNVCL	49
2.2.7.2. Purificação do Poli(NVCL-co-AA).....	49

2.2.8. Determinação da LCST.....	50
2.2.9. Estudo da Cinética de Polimerização por RMN ¹ H.....	51
2.2.10. Microencapsulação de Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA) por "spray-dryer"	52
2.2.11. Microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) utilizando o método de difusão do solvente em sistema de pseudo-emulsão.....	55
2.2.12. Liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA).....	57
<i>Construção da curva de calibração de Cetoprofeno em pH 1,2 e 7,4..</i>	59
2.2.13. Características morfológicas das micropartículas de Cetoprofeno encapsuladas no Poli(NVCL-co-AA).....	61
2.2.14. Medidas de Difração de Raios X.....	61
3. Resultados e Discussão.....	63
3.1. Influência da purificação do monômero.....	63
3.2. Homopolimerizações via radical livre	65
3.2.1. Estudo cinético das homopolimerizações.....	68
3.2.2. Determinação da LCST da PNVCL.....	70
3.3. Síntese do copolímero Poli(NVCL-co-AA)	71
3.3.1. Estudo Cinético da Copolimerização	73
3.3.2. Determinação da LCST do Poli(NVCL-co-AA)	75
3.3.3. Microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) por "spray-dryer"	77
3.3.4. Microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) utilizando o método de difusão do solvente em pseudo-emulsão.....	81
3.3.5. Liberação "in vitro" de Cetoprofeno das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA)	85
3.3.6. Medidas de difração de Raios X	90
4. Conclusões.....	93
<i>Sugestões para futuros trabalhos.....</i>	95
<i>Referências.....</i>	96
<i>I. Anexo I - Estudo da cinética da homopolimerização da NVCL... 102</i>	
<i>II. Anexo II - Estudo da cinética da homopolimerização do AA..... 107</i>	
<i>III. Anexo III - Estudo da cinética da copolimerização da NVCL e</i>	
AA. 110	

Introdução

Introdução

Considerações iniciais

A resposta a estímulos é um processo básico de sistemas vivos. Baseado nisso, materiais que respondem a estímulos externos como temperatura, pH, luz, campo elétrico, resistência química ou iônica, considerados polímeros "inteligentes", têm sido amplamente estudados em liberação de fármacos. Estas respostas são manifestadas com mudanças dramáticas na forma, características de superfície, solubilidade, etc. Compreender a relação estrutura-propriedade é essencial para o desenvolvimento de novos materiais que atendam a estas especificações (JEONG e GUTOWSKA, 2002).

O fator mais importante no estudo desses sistemas poliméricos é a temperatura (JEONG e GUTOWSKA, 2002). Em particular, o efeito da temperatura sobre os biopolímeros está diretamente relacionado ao funcionamento de sistemas vivos (VERBRUGGHE et al, 2003).

Polímeros termosensíveis são macromoléculas que se dissolvem em água fria porém, precipitam-se com o aquecimento da solução aquosa à temperaturas acima da LCST (Temperatura Crítica Inferior de Solubilização) (VIHOLA et al, 2002), ou seja, o aumento da temperatura da solução aquosa acima da LCST causa transição de um estado onde as cadeias se encontram abertas e são denominadas de "coils", para um estado onde as cadeias se encontram na forma de aglomerados e são denominadas de glóbulos. Esta transição é seguida de separação de fases e é explicada pelo balanço de interações físicas entre as macrocadeias poliméricas e as moléculas de água (PENG e WU, 2001). Assim, em temperaturas abaixo da temperatura de transição, as moléculas de água estão contidas nas macrocadeias do polímero porém, o fornecimento de energia para o meio tende a aumentar as forças de atração entre estas macrocadeias, causando aproximação entre elas e,

conseqüentemente, expulsão das moléculas de água, que são, então, liberadas (KUCKLING et al, 2000).

Esta transição de fases é o foco principal do estudo destes materiais poliméricos como agentes de encapsulação de princípios ativos, uma vez que determinará a incorporação e/ou liberação da droga no organismo vivo.

Outra característica importante que os polímeros precisam apresentar para serem utilizados em sistemas de transporte/liberação controlada de princípios ativos é a biocompatibilidade (capacidade de não causar distúrbios no sistema biológico) (DIMITRIU, 1993).

Poli(N-vinilcaprolactama) (PNVCL) é um exemplo de polímero termosensível. Possui a LCST próxima à temperatura do corpo (~32 - 37°C) (PICH et al, 2003), (LOOS et al, 2003). Devido a este comportamento encontra inúmeras aplicações biomédicas, como o transporte e liberação controlada de drogas e a microencapsulação de enzimas ou células (VIHOLA et al, 2002; LEBEDEV et al, 2001; LOOS et al, 2003). Além disso, é esperado que PNVCL seja mais biocompatível que outros polímeros do gênero (VIHOLA et al, 2002).

O controle cinético e termodinâmico da transição de "coils" para aglomerados de cadeias pode ser obtido através de mudanças na composição e topologia do polímero (JEONG e GUTOWSKA, 2002).

A LCST de homopolímeros termosensíveis como PNVCL, por exemplo, é fortemente influenciada pela natureza dos comonômeros utilizados, em reações de copolimerização. Compostos hidrofóbicos diminuem a LCST. Por outro lado, compostos hidrofílicos promovem um aumento da LCST, devido à formação de pontes de hidrogênio entre as macromoléculas e a água. A copolimerização de monômeros que dão origem a polímeros termosensíveis com monômeros que possuem um grupo carboxílico torna possível a mudança da hidrofobicidade do polímero pela alteração do valor do pH, resultando em mudança na LCST (SCHILD e TÍRREL, 1990; SCHILD e TÍRREL, 1991).

Portanto, a síntese de copolímeros que combinem diferentes propriedades sensíveis é uma tarefa de considerável interesse. Propriedades de homopolímeros termosensíveis, como a LCST da Poli(N-vinilcaprolactama) e da Poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm), podem ser modificadas pela adição de

comonômeros que apresentem sensibilidade ao pH, como os ácidos acrílico (AA) e metacrílico (MAA) (OKHAPKIN et al, 2003).

A incorporação de comonômeros hidrofílicos na síntese de polímeros termosensíveis, além de lhes conferir sensibilidade ao pH, promove um aumento das interações físicas entre as macromoléculas poliméricas e as moléculas de água. Assim, maior energia é requerida para a ruptura dessas interações e, conseqüentemente, para a liberação das moléculas de água. Dessa forma, consegue-se elevar a temperatura de transição do polímero.

Justificativa e importância do tema

A forma de administração convencional de princípios ativos requer dosagens periódicas. Isso acontece porque as drogas, quando ingeridas, circulam por toda parte do corpo e a concentração do agente ativo atinge altos níveis declinando, então, devido à excreção e/ou conversão metabólica. Para conseguir efeito mais prolongado, altas doses são necessárias.

Uma vez que pode-se ultrapassar o nível de toxicidade do princípio ativo, se altas doses forem administradas de uma só vez, a sua administração deve dar-se, então, em intervalos pequenos de tempo, mantendo-se, assim, uma concentração constante do agente ativo no organismo.

Porém, os métodos convencionais não garantem a liberação localizada do princípio ativo, ou seja, ele agirá nas células doentes, mas, por outro lado, surtirá efeito também nas células sadias, ocasionando os efeitos colaterais. À medida que mais doses são necessárias mais pronunciados vão se tornando os efeitos.

Assim, a síntese de polímeros, que agem como agentes de transporte e liberação controlada de princípios ativos, através da encapsulação do agente ativo na estrutura polimérica, tem como objetivo a preservação das células sadias do organismo, uma vez que a liberação da droga acontecerá ao ser atingida a transição de fases do polímero.

Sabe-se que, em organismos vivos, existem regiões com diferentes valores de pH, e que, em tumores e tecidos inflamados ou compartimentos endossomais, encontra-se um pH menor que o de um tecido normal. Quanto à diferença de

temperatura, esta pode ser conseguida, propositalmente, por meio de aquecimento do local onde será feito o tratamento.

Dessa forma, a importância deste estudo consiste no aumento do conforto do paciente ao realizar um tratamento com um princípio ativo, tendo em vista a diminuição das dosagens dos medicamentos e a conseqüente redução na ocorrência dos efeitos colaterais causados por eles.

Na atualidade os efeitos colaterais causados na terapia de câncer provocam tanto desconforto aos pacientes que, em muitos casos, chegam a interromper o tratamento. Assim, a síntese de polímeros que promovam a liberação controlada e localizada de princípios ativos e que possam ser utilizados na terapia de câncer poderá reduzir os efeitos negativos dos tratamentos quimioterápicos convencionais.

Portanto, nosso principal objetivo, no estudo destes sistemas poliméricos, está voltado para a amenização dos efeitos negativos de tratamentos em que os níveis de efeitos colaterais são mais pronunciados e, conseqüentemente, se tornam prejudiciais ao paciente, como os tratamentos quimioterápicos, por exemplo.

Objetivo da pesquisa

Neste trabalho, estão sendo estudados dois monômeros, a N-vinilcaprolactama (NVCL) e o Ácido acrílico (AA). A polimerização da NVCL dá origem a cadeias poliméricas com propriedades termosensíveis, enquanto o AA confere a sensibilidade ao pH.

Assim, o objetivo principal deste trabalho é estudar a introdução de um comonômero com um grupo hidrofílico, AA, na polimerização da NVCL, com o propósito de conferir a sensibilidade ao pH e aumentar a LCST do seu respectivo copolímero para um valor acima de 37°C, ou seja, acima da temperatura fisiológica (~36,5°C). Este aumento acima da temperatura fisiológica significa maior estabilidade para aplicação "*in vivo*", aumentando a margem de segurança e tornando possível a utilização deste copolímero como agente de encapsulação de princípios ativos, uma vez que, ao incorporar uma droga às cadeias poliméricas, ela não será liberada até que atinja a temperatura de transição do polímero. Este sistema, então, circulará pelo organismo até encontrar uma região com temperatura superior à temperatura de transição, que pode ser propositalmente

conseguida através do aquecimento da região onde há a necessidade de tratamento. Dessa forma, pode-se conseguir o transporte e liberação controlada do princípio ativo, uma vez que a liberação da droga só se inicia no momento em que o sistema se encontra em uma região de temperatura superior à Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) do polímero. O mesmo comportamento é esperado com relação ao pH.

A síntese destes sistemas poliméricos visa, portanto, a redução dos efeitos colaterais causados por medicamentos, pois fornece liberação gradativa e localizada da droga, atingindo, assim, somente as células doentes e preservando as sadias, diminuindo também as dosagens, devido ao maior período de ação da droga no organismo.

Eventualmente, copolímeros que apresentem sensibilidade à temperatura e ao pH poderão ser utilizados para conferir a liberação controlada não somente pela variação de temperatura, como também pela variação de pH. Assim, podem ser aplicados na liberação de drogas em tumores, tecidos inflamados ou compartimentos endossomais, onde é encontrado um pH menor que o de um tecido normal.

Para alcançar este objetivo foram realizadas homopolimerizações da NVCL, via radical livre, utilizando AIBN (2,2'- azo-bis-isobutironitrila) como iniciador e ácido 3-mercaptopropiônico como agente de transferência de cadeia, cuja finalidade é funcionalizar a extremidade da cadeia polimérica; e homopolimerizações do AA, com o objetivo de estudar a influência de diversos parâmetros, como concentração de iniciador, tipo de solvente e presença de agente de transferência de cadeia, na cinética das polimerizações.

Partindo-se deste estudo, foram, então, realizadas copolimerizações de NVCL com o AA, variando-se a composição monomérica, com o objetivo de combinar diferentes propriedades de sensibilidade, temperatura e pH, e promover elevação da LCST, quando comparada ao homopolímero de NVCL.

Finalmente, com o objetivo de estudar a possibilidade de utilização deste copolímero como agente de transporte e liberação controlada de drogas realizou-se a encapsulação de um anti-inflamatório, genericamente conhecido como Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA), assim como testes de liberação "in vitro" deste fármaco em diferentes temperaturas e pH.

Conteúdo da Dissertação de Mestrado

O presente trabalho de dissertação de mestrado encontra-se dividido da seguinte forma:

- **Introdução.** Onde são apresentados: a justificativa e importância do tema, o objetivo da pesquisa e o conteúdo da dissertação com a descrição dos capítulos.
- **Capítulo 1.** Revisão Bibliográfica. Apresentação do estado da arte dos polímeros e dos métodos empregados.
- **Capítulo 2.** Mostra os materiais e métodos empregados nesta pesquisa.
- **Capítulo 3.** Apresenta os resumos dos resultados e suas respectivas análises e discussão.
- **Capítulo 4.** São apresentadas, de forma sucinta, as conclusões sobre os estudos e resultados obtidos através do trabalho de pesquisa em laboratório.
- **Sugestões para futuros trabalhos.** Apresenta um resumo dos estudos que ainda podem ser desenvolvidos sobre o tema, a partir dos resultados já adquiridos.
- **Referências.** Relaciona as origens dos artigos, normas e outros documentos consultados e mencionados na dissertação.
- **Anexo I.** Apresenta os espectros das análises do estudo cinético da homopolimerização RHN5 da NVCL obtidos por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H) (Figuras 1 a 9).
- **Anexo II.** Apresenta os espectros das análises do estudo cinético da homopolimerização RHA3 do AA obtidos por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H) (Figuras 1 a 5).
- **Anexo III.** Apresenta os espectros das análises do estudo cinético da copolimerização RCC1 da NVCL com o AA obtidos por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H) (Figuras 1 a 7).

Capítulo 1

1. Revisão Bibliográfica

1.1. Propriedades Sensíveis dos Polímeros

Alguns polímeros são solúveis em água a baixas temperaturas, porém se separam destas soluções quando a temperatura é aumentada acima de um determinado valor, a qual é denominada temperatura de transição de fases ou temperatura de separação de fases. Estes polímeros têm atraído muita atenção devido à sua ampla faixa de aplicações como transportadores para liberação controlada de drogas e em biotecnologia (YANUL et al, 2001).

Um exemplo conhecido de polímero que apresenta temperatura crítica inferior de solubilização (LCST) é a Poli(N-vinilcaprolactama) (PNVCL). Sua transição entre dissolução e precipitação em água a temperaturas próximas à temperatura fisiológica (30-40°C), abre perspectivas para aplicação em bioquímica e medicina (YANUL et al, 2001).

PNVCL é composta de segmentos moleculares que lhe rendem o caráter hidrofílico em temperaturas abaixo da LCST (WALLACE et al, 2002). A definição de polímero hidrofílico é baseada na quantidade de vapor de água absorvida pelo polímero a 100% de umidade relativa. Polímeros hidrofílicos são capazes de absorver mais que 10% em massa de água (SINGH et al, 2003).

O interesse no estudo do comportamento físico da PNVCL se origina na sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e, diferentemente das polialquilacrilamidas, à ausência de pequenas moléculas amida como produto da degradação na hidrólise. Quando o polímero de NVCL sofre transição de fases em meio aquoso à temperatura crítica, ou LCST, a solução apresenta-se turva sob condições semi-diluídas, logo duas fases distintas são formadas, sendo uma fase mais rica em polímero que a outra (CHEE et al, 2006).

O monômero inicial para a preparação da PNVCL é a N-vinilcaprolactama (NVCL), substância organo-solúvel que dissolve tanto em meio orgânico polar como não-polar (LOZINSKY et al, 2000). PNVCL possui grupos amida com estrutura similar à da Figura 1-1 (LAU e WU, 1999):

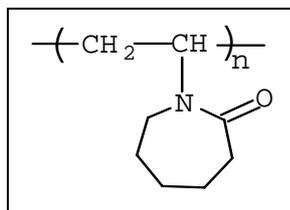


Figura 1-1 Estrutura da Poli(N-vinilcaprolactama)

Lau e Wu (1999) utilizaram medidas de espalhamento de luz para determinação da LCST da PNVCL. Verificaram um valor de 31°C, enquanto Laukkanen et al (2004) sugeriram uma dependência da temperatura crítica com o peso molecular quando investigaram amostras com peso molecular (M_w) variando entre 21000 a 1500000 g/mol. Notaram uma faixa de temperatura crítica, variando entre 31°C, para a amostra com maior peso molecular e 38°C, para a amostra com peso molecular menor.

Chee et al (2006), utilizaram técnicas de fluorescência, em particular, medidas de anisotropia com tempo de resolução, TRAMS, para confirmar que as cadeias de PNVCL sofrem transição conformacional de um estado de "coil" expandido para glóbulo compacto à temperatura crítica inferior de solubilização, LCST. Medidas TRAMS e da temperatura de transição de fases, revelaram que o começo da transição é a 38°C. A natureza da mudança conformacional para PNVCL é distinta de outros polímeros termosensíveis, como Poli(N-isopropilacrilamida) PNIPAAm. A descontinuidade na dependência térmica da velocidade de movimento macromolecular ocorre em uma faixa de, aproximadamente, 15°C para a PNVCL, enquanto que para PNIPAAm esta faixa compreende entre 31 e 33°C. Além disso, ocorre redução na magnitude da mudança conformacional de PNVCL, quando comparada com PNIPAAm. Experimentos de dissolução de pireno fornecem suporte para um modelo para PNVCL acima da LCST, consistindo de uma estrutura globular com um núcleo hidrofóbico, o qual é estabilizado por unidades mais hidrofílicas na superfície. A N-vinilcaprolactama foi copolimerizada com Acenafteno (ACE) em dioxano a 60°C usando AIBN como iniciador.

Laukkanen et al (2005) prepararam copolímeros termosensíveis de NVCL e óxido de etileno, enxertados com macromônômeros alquil metacrilato, com diferentes proporções do composto enxertado. A associação dos polímeros em soluções aquosas diluídas foi estudada abaixo e acima de LCST usando espalhamento de luz estático e dinâmico, microcalorimetria, calorimetria de pressão de perfusão (PPC), e experimentos de investigação de fluorescência. Devido à anfifilicidade dos enxertos, o polímero mais densamente enxertado forma estruturas intrapoliméricas enquanto o menos enxertado acumula misturas de associações intra e interpoliméricas a temperaturas abaixo da LCST. Estas associações solubilizam substâncias como pireno. Sob aquecimento, os copolímeros enxertados sofrem agregação em água e formam nanopartículas. As partículas formadas por aquecimento são excepcionalmente estáveis contra futuras agregações e a diluição das soluções não tem efeito no tamanho ou forma das partículas. Os copolímeros foram preparados em benzeno, a 70°C utilizando AIBN como iniciador.

Lequieu et al (2005), prepararam Poli(tereftalato de etileno) (PET), recobertos em sua superfície com o termosensível PNVCCL, empregando um método de imobilização fotoquímica. Primeiramente, um grupo fotoreativo azidofenil foi incorporado nas cadeias termosensíveis de PNVCCL. Em seguida, os polímeros foram colocados na membrana de PET seguido por irradiação com luz UV. A caracterização por espectroscopia de fotoelétrons com Raios X e FT-ATR-IR demonstrou que as cadeias do polímero termosensível são efetivamente enxertadas na superfície da membrana. Através de microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica nas membranas do compósito seco foi possível demonstrar que o tamanho do diâmetro dos poros e a aspereza aumentou com o aumento da quantidade de polímero enxertado. Investigou-se a permeação de água e de moléculas de dextrano, com peso molecular compreendendo entre 6000 e 2000000 g/mol, em função da temperatura, através das membranas do compósito. Verificou-se que a permeação aumenta drasticamente quando a temperatura de transição de fases, das cadeias de PNVCCL enxertadas, é atingida e que a permeabilidade de moléculas de dextrano é controlada tanto pelo peso molecular das macromoléculas individuais, como também, fortemente, pela temperatura. Como uma última observação, é possível o uso das mesmas membranas para a separação de misturas macromoleculares sob ampla faixa de peso molecular.

Inoue et al (1997), estudaram a síntese de hidrogéis contendo dois diferentes oligômeros, que apresentam LCST, oligo(N-isopropilacrilamida) (oNIPAAm) e oligo(N-vinilcaprolactama) (oNVCL), enxertados em sua estrutura. Prepararam os oligômeros, com grupos carboxílicos nas extremidades das cadeias, através de polimerização via radical livre, utilizando AIBN como iniciador e ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) como agente de transferência de cadeia. As reações foram conduzidas em ampolas fechadas, a 60°C, em 25mL de t-butanol. Após a reação, os oligômeros foram precipitados em éter dietílico. O precipitado foi filtrado e lavado novamente em éter dietílico e, então, seco a vácuo. As condições de síntese, assim como os resultados de conversão e peso molecular dos polímeros, estão apresentados na Tabela 1-1

Tabela 1-1 Condições de síntese e peso molecular de oNIPAAm e oNVCL com grupos carboxílicos terminais

Oligômero com LCST	Razão molar MPA/monômero	Monômero ^a	MPA ^b	AIBN ^c	Tempo de reação (min)	Conversão (%)	Peso Molecular ^d
oNIPAAm	0,04	0,0796	3,184	0,796	40	65	4540
oNIPAAm	0,06	0,0796	4,776	0,796	50	54	2720
oNIPAAm	0,08	0,0796	6,368	0,796	70	83	1840
oNVCL	0,04	0,0647	2,590	0,647	50	28	6040
oNVCL	0,06	0,0647	3,880	0,647	50	48	4810
oNVCL	0,08	0,0647	5,180	0,647	50	35	3370
oNVCL	0,16	0,0647	10,350	0,647	60	34	2120
oNVCL	0,24	0,0647	15,530	0,647	120	28	1250
oNVCL	0,36	0,0647	23,290	0,647	240	21	830
oNVCL	0,48	0,0647	31,060	0,647	300	11	650

^aTodas as concentrações em mol/25mL de t-butanol.

^bácido 3-mercaptopropiônico

^c2,2'-azobisisobutironitrila.

^dOs pesos moleculares dos oligômeros foram determinados por titulação dos grupos terminais.

Assim, pode-se perceber que, neste estudo, em geral, baixas conversões foram obtidas na síntese dos oligômeros de NVCL e que, à medida que aumenta a quantidade de agente de transferência de cadeia, os resultados são comprometidos, destacando-se a última reação onde conversão de apenas 11% foi atingida após 300 minutos de reação.

Lozinsky et al (2000), realizaram a síntese de PNVCL em uma mistura DMSO/água com concentração de 10% v/v, utilizando par persulfato/amina

terciária como iniciador redox, em temperaturas de 20°C, abaixo da LCST do polímero, a 65°C, acima da LCST e criogenicamente, a -20°C. Verificaram que a distribuição de pesos moleculares, tendência à formação de segregados da solução e formação de uma fase concentrada de polímero dependem da composição do solvente e da temperatura de polimerização. Para a PNVCL, sintetizada a 65°C, verificou-se maior quantidade de cadeias poliméricas com alto peso molecular. Parâmetros termodinâmicos da transição de fases dos polímeros foram determinados por um equipamento de calorimetria diferencial (DSC), de alta sensibilidade. Concluíram, portanto, através das análises, que a massa molar do polímero (PS), a distribuição de massas molares (PPS), o comportamento térmico, bem como os parâmetros termodinâmicos, são dependentes da quantidade de solvente orgânico utilizado. Quanto à temperatura, observaram que, a 65°C, a reação terminou em apenas 3 horas, enquanto que a 20°C, foram necessárias 15 horas.

Polímeros sensíveis ao pH, como Poli(ácido acrílico) (PAA), um polieletrólito aniônico que contém grupos ionizáveis (YOO et al, 1997), constituem outra classe de polímeros com propriedades de sensibilidade (OKHAPKIN et al, 2003), (Figura 1-2).

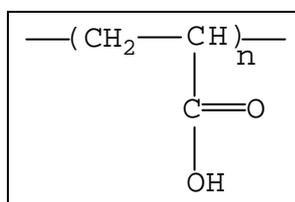


Figura 1-2 Estrutura do Poli (ácido acrílico)

Considerando a variação de pH em nosso corpo, a região gastrointestinal é, também, uma importante área de aplicação de polímeros sensíveis ao pH. O pH gástrico é ~ 2, ao passo que o pH intestinal é ~7,4 a 7,8 (JEONG e GUTOWSKA, 2002). BASAN et al (2002), incorporaram diclofenaco de sódio, um anti-inflamatório, dentro de sistemas monolíticos preparados pela polimerização do 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), pela copolimerização com formação de reticulados do 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) com ácido acrílico (AA) e com dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA). A incorporação da droga foi feita antes da polimerização e reticulação. Discos contendo polímero e droga, com aproximadamente 10mm de diâmetro e 3,0mm de espessura foram obtidos. Estudos de liberação "in vitro"

foram realizados em uma simulação de fluido gástrico por três horas seguido de uma simulação de fluido intestinal, a 37°C. A velocidade de liberação de diclofenaco de sódio foi controlada por mudanças da composição da matriz polimérica e pela espessura dos discos. A porção da droga foi entre 5 e 33mg/disco. Os resultados indicam que, para o Poli(HEMA-AA) no pH mais baixo (estômago), o grau de inchamento dos géis contendo AA é baixo e menos que 5% da droga foi liberada durante as três primeiras horas. Mas, no intestino, o pH alto causa um aumento do grau de inchamento dos discos contendo AA, permitindo que quase toda a droga seja liberada. No entanto, para Poli(HEMA) e Poli(HEMA-DMAEMA), um comportamento oposto foi observado. Este resultado era esperado devido a ausência de AA nestes últimos. AA apresenta alto grau de inchamento em pH 7,5 e estudos anteriores já mostraram que a liberação da droga depende deste inchamento na estrutura polimérica.

Foss et al (2004), sintetizaram nanopartículas compostas por cadeias de ácido metacrílico reticuladas com Poli(etileno glicol) (PEG) e nanoesferas de ácido acrílico reticuladas com PEG para uso como dispositivos orais de liberação de insulina. As nanoesferas do copolímero foram sintetizadas via radical livre em suspensão. O tamanho médio das nanoesferas em gel do copolímero a vários valores fisiologicamente relevantes de pH foi caracterizado utilizando espectroscopia de foto-correlação. O tamanho das nanoesferas variou de 200nm em pH=2,0 para 2 μ m em pH de aproximadamente 6,0. A quantidade de insulina incorporada dentro do copolímero variou entre 9,33 e 9,54mg, por 140mg de amostra sólida. Estudos "*in vitro*" foram realizados para avaliar a passagem das amostras do sistema insulina-copolímero pelo trato gastrointestinal. A insulina ficou retida em pH baixo (pH=3,0), mas foi liberada em pH neutro (pH=7,0). Estudos em animais foram realizados para investigar as habilidades das amostras do sistema insulina-copolímero de influenciar os níveis de glicose nos ratos. Em estudos com ratos diabéticos, o nível de glicose foi menor do que os valores de controle para os animais que receberam o sistema insulina-copolímero e continuaram por pelo menos seis horas. A insulina incorporada às nanoesferas do copolímero causou uma significativa redução de glicose com respeito ao controle animal.

Estes polímeros que sofrem transição reversível de fases em resposta a um estímulo externo, como temperatura, pH, campo elétrico, íons ou espécies químicas são chamados polímeros inteligentes. A maioria dos polímeros inteligentes, já estudados, é sensível a apenas um tipo de estímulo, no entanto, polímeros que

apresentam sensibilidade a mais de uma variável, em particular, temperatura e pH, têm sido investigados recentemente. Sistemas sensíveis ao pH e à temperatura são polímeros hidrofílicos que possuem componentes sensíveis ao pH e componentes sensíveis à temperatura. Da mesma forma que polímeros termosensíveis possuem temperatura crítica inferior de solubilização (LCST), em soluções aquosas, polímeros sensíveis ao pH contém grupos ionizáveis que levam à dependência do pH na transição de fases. É importante notar que, existe uma influência mútua entre os estímulos, pH e temperatura, na transição de fases, assim como uma influência individual do pH e da temperatura (YOO et al, 1997).

Yoo et al (1997), sintetizaram copolímeros de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) e AA e estudaram o efeito da formação de complexos, entre as unidades monoméricas, na LCST, quando comparada à do PNIPAAm. Estudaram a influência da presença de unidades de AA na LCST de copolímeros sensíveis tanto à temperatura quanto ao pH, em uma faixa de pH que compreendeu entre 2 e 12. Para isso, introduziram um componente sensível ao pH, AA, no polímero termosensível de NIPAAm. Quando um polieletrólito que ioniza abaixo do pK_b é misturado em uma solução de um polieletrólito aniônico, um complexo é formado por atração eletrostática entre os dois polieletrólitos (BEKTUROV e BIMENDINA, 1981; TSUCHIDA e ABE, 1982). Portanto, é esperado que a LCST do PNIPAAm, incorporado com um componente sensível ao pH, seja afetada pelo complexo polieletrólito de acordo com a variação de pH. Assim, para a soluções aquosas dos copolímeros, verificou-se que a LCST foi fortemente afetada pelo pH, com a presença de AA no Poli(NIPAAm-co-AA) e, também foi dependente da concentração de unidades de AA. Estes resultados foram obtidos através de análises de Absorbância X Temperatura, medidas usando um espectrofotômetro UV/visível num comprimento de onda constante de 450nm, em valores de pH iguais a 2,2, 3,9, 4,2, 4,5, 6,4 e 9,2. Observaram que uma drástica mudança na medida de absorbância ocorreu em pH 4,2. A LCST do Poli(NIPAAm-co-AA) decresce no estado não ionizado das unidades de AA e, no entanto, aumenta no estado ionizado, em comparação com o homopolímero PNIPAAm.

Okhapkin et al (2003), estudaram a síntese de copolímeros de Poli(N-vinilcaprolactama-co-ácido metacrílico) (PNVCL-co-MAA) e a influência da complexação de unidades de monômeros nas propriedades de sensibilidade à temperatura e ao pH destes polímeros. Prepararam copolímeros com diferentes composições de monômeros utilizando uma mistura DMSO/água como solvente e

concluíram que estes formam complexos macromoleculares insolúveis em água em pH baixo devido a ligações de hidrogênio entre unidades de NVCL e MAA. Os copolímeros mostraram propriedades de sensibilidade ao pH e à temperatura e, em meio ácido, verificou-se a ocorrência de agregação intermacromolecular. Medidas de espectroscopia de Infra-Vermelho mostraram que a agregação é devida à formação de complexos macromoleculares insolúveis. Esses complexos também se formam na mistura de homopolímeros de NVCL e MAA. Discutiu-se o efeito do pH na termosensibilidade dos copolímeros. Em meio ligeiramente ácido, existe uma faixa de pH, próximo ao pH de agregação, na qual a propriedade termosensível dos copolímeros é menos pronunciada e a intensidade de espalhamento de luz, para as soluções a altas temperaturas, é menor que em pH básico. Portanto, existe um intervalo de pH no qual o grau efetivo de ionização dos copolímeros é baixo e a sensibilidade à temperatura é reduzida. Também estudaram o efeito de um surfatante, dodecil sulfato de sódio (SDS), na propriedade termosensível dos copolímeros contendo, aproximadamente, 40% de ácido metacrílico em pH 3 e 7 e verificaram que, na presença do surfatante, os copolímeros são termosensíveis em ambos os valores de pH estudados. A temperatura de transição é maior do que a do copolímero sintetizado sem a presença de surfatante.

1.2. Transporte e Liberação Controlada de Princípios Ativos

Nos últimos anos, polímeros “inteligentes”, bem como sistemas poliméricos para uso biomédico, têm sido objeto de intenso estudo como sistemas de liberação controlada de drogas (MAKHAEVA et al, 2003; KIRSH et al, 2002; KURKURI e AMINABHAVI, 2004; RAVICHANDRAN et al, 1997; PEN e WU, 2001).

Convencionalmente, agentes ativos são mais freqüentemente administrados por um sistema periódico. Em tratamentos médicos, drogas são introduzidas em intervalos pequenos de tempo, através da ingestão de pílulas, líquidos ou por injeção. Estas drogas circulam por toda parte do corpo e a concentração do agente ativo aumenta até altos níveis declinando, então, devido à excreção e/ou conversão metabólica. Assim, para conseguir um efeito mais prolongado, altas doses são necessárias. A Figura 1-3 apresenta possíveis respostas de várias vias de administração de uma droga. Por este gráfico pode-se perceber que a condição ideal seria a liberação controlada e gradativa da droga (d), numa concentração alta,

porém abaixo do nível tóxico, permanecendo constante por um longo intervalo de tempo (DIMITRIU, 1993):

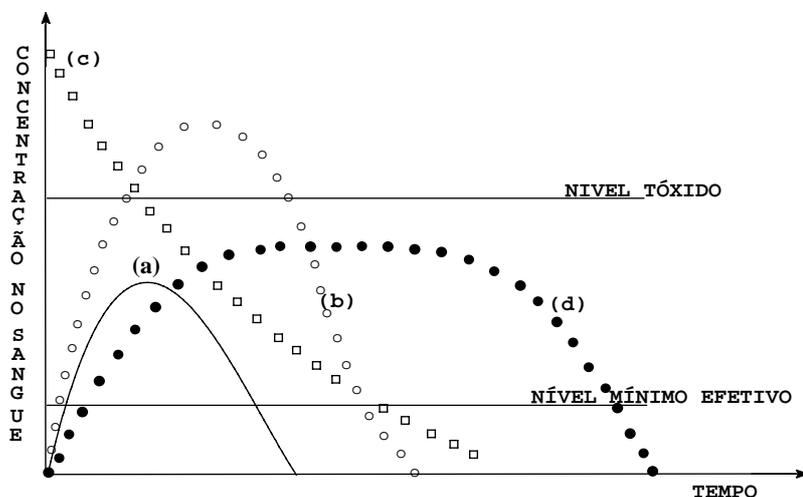


Figura 1-3 Possíveis respostas de vias de administração de um princípio ativo: (a) dose oral; (b) overdose oral; (c) intravenosa e (d) liberação controlada ideal.

Estes sistemas estão sendo alvo de pesquisas para uma grande variedade de drogas, incluindo drogas para combate de glaucoma, angina, dependência de narcóticos, câncer, diabetes, malária, alergias, cáries dentárias, hipertensão e sintomas de gripe comum (DIMITRIU, 1993).

A liberação controlada de drogas apresenta grandes vantagens:

- prolongamento do tempo de liberação a uma velocidade constante;
- conveniência de menor número de administrações;
- redução dos efeitos colaterais, devido às doses não excederem níveis tóxicos;
- facilidade de manipulação das drogas pela sua permanência nos órgãos-alvo em quantidades e tempo suficientes;
- potencialização da atividade por união de um ou mais tipos de drogas no mesmo polímero;
- melhor interação com a parede celular bacteriana e viral;

- menor toxicidade, dependendo do princípio ativo e do polímero;
- redução nos efeitos colaterais, como náuseas, vômitos, muito comuns em sistemas convencionais de administração de drogas;
- liberação localizada da droga para uma região particular do corpo;
- aumento do conforto do paciente;
- duração estendida da atividade a níveis constantes de agente ativo.

Estas vantagens dão a estes sistemas uma larga variedade de aplicações em medicina, biotecnologia, e farmacologia (DIMITRIU, 1993).

1.3. Citotoxicidade dos polímeros

Polímeros termosensíveis, que possuem temperatura crítica inferior de solubilização, LCST, e seu uso em aplicações biomédicas vêm sendo investigados atualmente. Ao atingir uma temperatura superior a LCST, os polímeros sofrem transição de fases e formam agregados. Este fenômeno é reversível e, assim, ao diminuir-se a temperatura, os polímeros tornam-se solúveis novamente (VIHOLA et al, 2005).

Poli(N-isopropilacrilamida), PNIPAAm, é o polímero termosensível mais extensivamente estudado para aplicações terapêuticas. PNIPAAm tem sido usado, por exemplo, como agente de transporte e liberação de drogas em tumores sólidos, com hipertermia local (MEYER et al, 2001; CHILKOTI et al,2002). No entanto, Poli(N-vinilcaprolactama) também vem sendo estudada para aplicações terapêuticas. Este polímero é bastante utilizado em cuidados com o cabelo e aplicações em cosméticos. PNVCL possui características similares ao PNIPAAm e é um análogo químico de Poli(vinilpirrolidona), PVP, o qual é bastante conhecido e amplamente utilizado para fins farmacêuticos. No entanto, evidências mostram a dependência da toxicidade com a dosagem e o tempo. A biocompatibilidade de polímeros sintéticos tem sido melhorada através do enxerto de cadeias hidrofílicas ou anfifílicas, em polímeros hidrofóbicos. O enxerto cria repulsão estérica, em contraste com a adsorção de proteína e, assim, leva ao aumento da biocompatibilidade do polímero (VIHOLA et al, 2005).

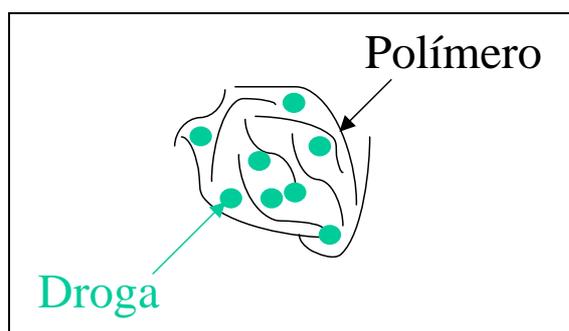
Vihola et al (2005), estudaram a citotoxicidade “*in vitro*” de PNVCCL com diferentes pesos moleculares, PNVCCL enxertada com cadeias anfifílicas contendo segmentos de Poli(óxido de etileno) PEO, PNIPAAm e dos correspondentes monômeros. Realizou-se um estudo comparativo entre os diferentes monômeros e os seus respectivos polímeros. O efeito da separação de fases na citotoxicidade foi determinado. Os testes foram realizados a 23 e 37°C, ou seja, abaixo e acima dos valores de LCST dos polímeros. A citotoxicidade foi determinada utilizando-se duas diferentes culturas de células: células intestinais Caco-2 e células pulmonares Calu-3, as quais agem como modelos epiteliais para liberação de drogas oral e pulmonar, respectivamente. A citotoxicidade dos polímeros foi avaliada por dois métodos: testes com brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5difeniltetrazólio (MTT) e testes com desidrogenase lactato (LDH), que indicam a sobrevivência e perda da membrana celular, respectivamente. Os testes foram realizados em função do tempo de incubação e concentração do polímero. A sobrevivência (MTT) e perda (LDH) das células mostraram ser dependentes das propriedades de superfície dos polímeros, hidrofiliicidade ou hidrofobicidade. Tanto PNVCCL hidrofílico, com pesos moleculares de 330000, 1300000 e 1500000 g/mol, quanto PNVCCL enxertada com PEO, com peso molecular de 300000, foram bem toleradas em todas as concentrações do polímero estudadas (0,1-10,0mg/mL) depois de 3 horas de incubação a temperatura ambiente e a temperatura de 37°C. Em concentrações abaixo de 5mg/mL nenhum dos polímeros de NVCL com diferentes pesos moleculares foram tóxicos nos testes LDH. Não foi observada grande diferença, com relação à citotoxicidade, para a PNVCCL com diferentes pesos moleculares, no entanto o menor valor de citotoxicidade foi encontrado para a PNVCCL com menor peso molecular. O polímero mais hidrofóbico, PNIPAAm, com peso molecular de 156000, produziu, claramente, maior citotoxicidade celular a 37°C. Os monômeros N-isopropilacrilamida, N-vinilcaprolactama e o macromonômero de PEO mostraram valores dramaticamente maiores de citotoxicidade, comparados aos valores obtidos para os respectivos polímeros. Finalmente, a perda celular foi diretamente dependente da concentração, temperatura e tempo de incubação. Os polímeros foram sintetizados utilizando-se como solventes, água, benzeno e dioxano, e AIBN como iniciador, a 70°C.

1.4. Princípio da Encapsulação/Liberação Controlada de Agentes Ativos

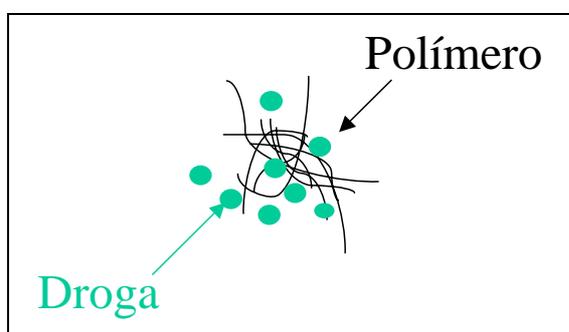
Existem algumas maneiras de incorporar agentes ativos numa estrutura polimérica. Uma delas consiste na adsorção do agente ativo na superfície funcionalizada das nanopartículas poliméricas.

Uma outra maneira consiste na encapsulação do princípio ativo e, neste caso, várias metodologias podem ser utilizadas. Como mencionado anteriormente, PNVCCL apresenta transição dissolução/precipitação em água a temperaturas próximas à fisiológica (30-40°C) (VERBRUGGHE et al, 2003).

A Figura 1-4 apresenta uma ilustração do comportamento do complexo constituído pelo sistema polímero termosensível e droga em valores de temperatura abaixo e acima da LCST do polímero.



a



b

Figura 1-4 Representação do sistema constituído por polímero termosensível e droga em temperaturas abaixo da LCST(a) e acima da LCST(b).

Assim, em temperaturas abaixo da LCST, os complexos constituídos por sistemas polímero-droga possuem estabilidade na corrente sanguínea, permitindo sua circulação por um período de tempo prolongado. À medida em que atingem a região doente, que normalmente é mais aquecida, ou, se necessário, faz-se um aquecimento do local para atingir a LCST do polímero, precipitam sobre as células doentes, onde ocorre a liberação da droga, como se observa no esquema apresentado na Figura 1-5.

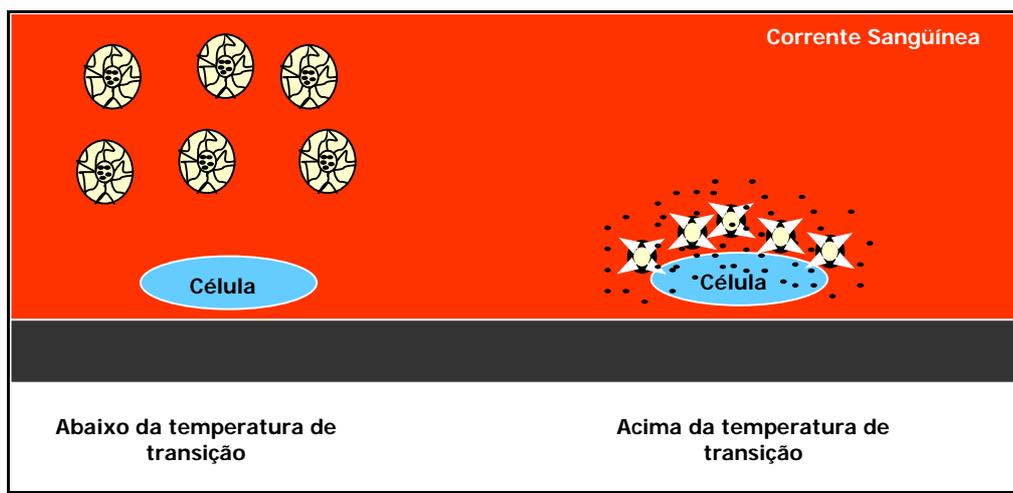
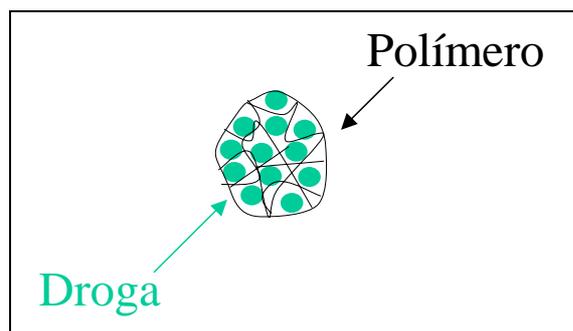
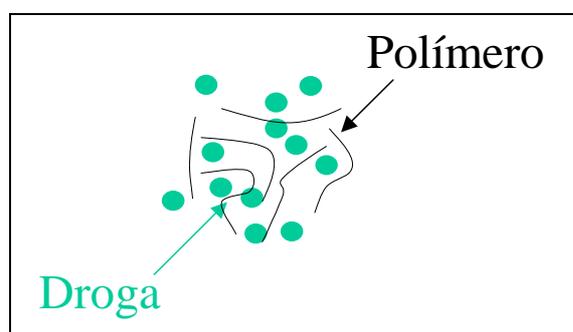


Figura 1-5 Transporte do complexo polímero-droga na corrente sanguínea e sua precipitação nas células doentes devido à diferença de temperatura

No entanto, em copolimerizações, onde utilizam-se um monômero que dá origem a um polímero termosensível e outro, que possui um grupo carboxílico em sua estrutura, ou seja, possui sensibilidade ao pH, como é o caso do AA, comportamento oposto é observado. Em baixo pH, o ácido acrílico encontra-se em estado não ionizado e a formação de pontes de hidrogênio entre as unidades do ácido e o grupo amida da NVCL levam à formação de agregados, encapsulando o princípio ativo no interior das partículas. Em pH alto, a geração de cargas negativas nas unidades do AA resulta em repulsão eletrostática com os grupos amida da NVCL e, conseqüentemente, em um aumento do volume hidrodinâmico das partículas, promovendo a liberação do princípio ativo (JEONG et al, 2002). A Figura 1-6 ilustra o comportamento do complexo constituído pelo sistema Poli(NVCL-co-AA)/droga em pH ácido e pH ligeiramente básico, acima do pH de transição de fases.



a



b

Figura 1-6 Representação do sistema constituído pelo Poli(NVCL-co-AA)/droga em pH ácido(a) e acima do pH de transição de fases, meio ligeiramente básico(b).

Davidenko et al (2002), estudaram a utilização do 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol (bronopol), cuja estrutura está apresentada na Figura 1-7, para estabilizar uma matriz polimérica de PNVCL, com o objetivo de obter complexos constituídos de polímero-enzima proteolítica com atividade antimicrobial. Observaram que as enzimas, protease C e protease alcalina, quando imobilizadas na PNVCL estabilizada por bronopol, apresentaram ação prolongada, maior estabilidade durante a estocagem e em variação de pH ácido. A inclusão de bronopol no polímero foi maior a 37°C e em pH 5,0-6,0. Por meio de análises de RMN ¹³C e Infravermelho, verificou-se que a inclusão de bronopol na PNVCL se deve a dois fatores: (1) formação de pontes de hidrogênio entre grupos carbonila de unidades de N-vinilcaprolactama e grupos hidroxila de bronopol; (2) o desprendimento de água da matriz polimérica resultando em um polímero mais denso.

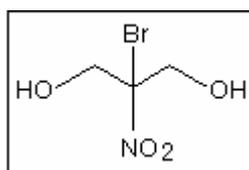


Figura 1-7 Estrutura do Bronopol

1.5. Sistemas de Liberação Controlada de Drogas na Terapia contra o Câncer

Formulações seguras e não tóxicas de uma droga complexada com um polímero, sua liberação em locais específicos e ativação específica de ativos biologicamente citotóxicos em tecidos e células cancerígenas constituem grande foco de pesquisas na Terapia de Câncer (TC). Diferenças na estrutura e comportamento de tecidos normais e cancerígenos podem ser usadas para construção de sistemas de liberação específica de drogas, facilitando sua liberação no tumor (ULBRICH e SUBR, 2004).

Ulbrich et al (2004), estudaram a utilização de Poli[N-(hidroxipropil)-metacrilamida] (PHPMA) e Poli(etileno glicol) (PEG), para o transporte e liberação de uma droga anticâncer, doxorubicina (DOX), em tecidos e células cancerígenas. Foram preparados conjugados formados pelos polímeros e a droga ligados através de oligopeptídeos biodegradáveis "Gly-Phe-Leu-Gly". Concluíram que este é um eficiente método para tratamento de câncer em humanos, uma vez que, sua ação, específica nos tecidos e células cancerígenas, causa diminuição dos efeitos colaterais, muito pronunciados nos tratamentos quimioterápicos.

Complexos constituídos por sistemas polímero-droga são utilizados por apresentarem estabilidade na corrente sanguínea, o que permite que eles circulem por um período maior de tempo do que a droga sozinha. Devido ao maior peso molecular do sistema polímero-droga, o sistema entra na célula somente por endocitose, processo no qual o lisossomo digere o que a membrana plasmática permea. O complexo constituído por sistemas polímero-droga se acumula em grande extensão nas células cancerígenas, pois estas possuem maior porosidade que as células saudáveis (MOSES et al, 2003).

Sistemas anticâncer baseados em complexos constituídos por sistemas polímero-droga liberam a droga em lugares específicos e em doses altas, porém abaixo do nível tóxico e por um período prolongado de tempo. Sistemas convencionais de terapia contra o câncer atingem não somente as células cancerígenas como também as células saudáveis. Como, freqüentemente, são necessárias várias sessões de quimioterapia, o paciente acaba sofrendo uma série de efeitos colaterais, o que lhe causa um grande desconforto. A liberação localizada da droga nas células cancerígenas significa a preservação das células saudáveis do paciente, causando grande redução dos efeitos desconfortáveis dos tratamentos quimioterápicos (JACKSON et al, 2004).

Ravichandran et al (1997), sintetizaram terpolímeros de Poli(N-vinilpirrolidona-ácido acrílico-polietilenoglicol) para uso em liberação controlada e localizada de drogas. Estudaram a incorporação de uma droga anticâncer, 5-FU, na matriz polimérica. Os terpolímeros foram caracterizados por espectros de Infravermelho. Testes de liberação "in vitro" da droga anticâncer mostraram que em 24 horas, cerca de 65% da droga havia sido liberado.

1.6. Microencapsulação de Agentes Ativos

A incorporação de um agente ativo em estruturas poliméricas consiste em tarefa de grande interesse para sistemas de liberação controlada de drogas. Cada droga possui uma faixa de concentração que promove ótimo efeito terapêutico. Quando a concentração da droga é superior ou inferior a esta faixa, pode causar efeitos tóxicos ou tornar-se terapeuticamente ineficaz. Portanto, a liberação da droga de uma estrutura polimérica torna-se desejável, pois esta promove liberação de maneira controlada e mantém a concentração do agente ativo dentro da faixa de efeito ótimo. Polímeros podem ser proteções para inúmeras drogas frágeis, como proteínas e peptídeos, contra hidrólise e degradação. Além disso, sistemas de liberação controlada podem aumentar o conforto do paciente reduzindo a freqüência da administração (WANG et al, 2006).

Microesferas poliméricas para liberação controlada de drogas têm atraído significativa atenção devido à sua flexibilidade na administração. Microesferas menores que 10 μ m são apropriadas para administração intravenosa. Quando o tamanho das partículas é inferior a 5 μ m, elas podem ser administradas por inalação. Para liberação controlada de drogas, microesferas poliméricas usualmente

têm estrutura ou de matriz ou de microencapsulado. Na estrutura de matriz, a droga é uniformemente dispersa na matriz polimérica, no entanto, uma microcapsula é composta por partículas de droga circundadas por um filme polimérico. Seja para matriz ou para microcapsula, a liberação da droga ocorre ou por difusão ou por degradação, ou por ambos. A liberação por difusão ocorre quando uma droga incorporada passa através dos poros poliméricos ou através das cadeias poliméricas. Este sistema de liberação controlada pode ser obtido usando um polímero inteligente, no qual a permeabilidade é dependente de condições ambientais, como pH, temperatura, força iônica, etc. Por exemplo, pH é um estimulante para um hidrogel ácido ou básico e temperatura é um estimulante para polímeros termosensíveis, como Poli(N-isopropilacrilamida) e Poli(N-vinilcaprolactama). A liberação por degradação ocorre quando um polímero degrada dentro do corpo humano, como resultado de um processo biológico natural, como a hidrólise. Neste tipo de sistema de liberação controlada a seleção do polímero é bastante crítica, uma vez que a degradação é fortemente dependente da estrutura química e peso molecular do polímero (WANG et al, 2006).

Muitos métodos são avaliáveis para a preparação de sistemas de liberação controlada. Os métodos mais utilizados para encapsulação de fármacos dependem basicamente da solubilidade da droga no material polimérico e são, essencialmente, baseados em métodos de evaporação do solvente e separação de fases.

Microesferas contendo polímero-droga podem ser preparadas por técnicas de evaporação da emulsão, separação de fases (coacervação), "spray-drying", "freeze-drying" e polimerização interfacial. Alguns, destes métodos, envolvem a dissolução do polímero e da droga em um solvente orgânico ou solução aquosa, outros a dispersão da droga na solução polimérica sob forte agitação mecânica ou estabilização sob certas condições de temperatura e pH, entre outros (WANG et al, 2006).

Em geral, os métodos de evaporação do solvente usam um sistema de emulsão. Neste sistema, a droga é, inicialmente, dissolvida, dispersa ou emulsificada na solução polimérica, a qual é, então, emulsificada em uma solução aquosa ou em uma fase composta por óleo. Com a remoção do solvente por evaporação, a droga e o polímero são precipitados na forma de gotas, originando as microesferas. No método de separação de fases, o polímero é precipitado na superfície da droga, que encontra-se dispersa. Essa precipitação é possível através

da adição de um não solvente ou de um polímero incompatível ou da mudança de temperatura. Este método resulta na formação de microcápsulas.

Ré e Biscans (1999), utilizaram um método de pseudo-emulsão com evaporação do solvente para preparar microesferas de Cetoprofeno com um polímero acrílico. O solvente e a concentração da droga na fase contínua foram determinados experimentalmente sob diferentes condições de processo, com o objetivo de investigar o mecanismo de formação das microesferas. Verificou-se que a velocidade de difusão do solvente na fase contínua e a distribuição do tamanho de partículas foram afetadas por fatores como razão polímero/droga, diferença de temperatura entre as fases e razão solvente/não solvente. Os resultados da investigação a respeito dos perfis de morfologia e dissolução do Cetoprofeno foram obtidos através de estudos de dissolução "*in vitro*". A diferença na dureza e superfície das microesferas em emulsão resultou em diferenças na velocidade de liberação da droga. Concluiu-se, portanto, que a solidificação ou retirada de água são processos comprometedores durante a formação das microesferas, podendo até, dependendo do caso, dominar o processo. O aumento da quantidade de polímero, incorporado à solução orgânica, pode levar a um valor de viscosidade crítica. Além disso, a transferência de massa é afetada e a solidificação das microesferas é retardada. A estrutura das microesferas pode ser modificada pela maior quantidade de água retirada, o que pode induzir à formação de estruturas mais porosas ou ao aparecimento de alguns defeitos na superfície da partícula. Mudanças na estrutura da partícula são, provavelmente, capazes de facilitar a penetração do meio de dissolução das microesferas, explicando, assim, o retardamento menos efetivo da liberação da droga. Utilizou-se, neste estudo o polímero Eudragit S100 para a microencapsulação do Cetoprofeno.

Banerjee et al (2006), estudaram a encapsulação do "*Prodan*" (N,N-dimetil-6-propionil-2-naftilamina), cuja estrutura está apresentada na Figura 1-8, em dois diferentes oligosacarídeos: beta-ciclodextrina (β -CD) e seu derivado sintético, succinil-2-hidroxipropil beta-ciclodextrina (SHP β -CD), usando absorção eletrônica e espectroscopia de fluorescência. Ciclodextrinas são interessantes veículos capazes de encapsular uma ampla variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. Estes são oligosacarídeos com uma superfície hidrofílica e uma cavidade central hidrofóbica. Em soluções aquosas, são capazes de formar complexos com uma variedade de moléculas hidrofóbicas, como fármacos. A encapsulação do "*Prodan*" em β -CD levou a mudanças pronunciadas, com relação à emissão de sinais, em

espectroscopia de fluorescência, em comparação às ciclodextrinas puras. Análises detalhadas de fluorescência com relevantes dados espectroscópicos de absorção indicam que o "Prodan" realmente penetra nas cavidades hidrofóbicas das esferas de β -CD e de SHP β -CD, obtidas via métodos que utilizam mecanismos moleculares, indicando que o grupo dimetilamina do "Prodan" parece estar predominantemente orientado em direção à maior cavidade das esferas de ciclodextrina.

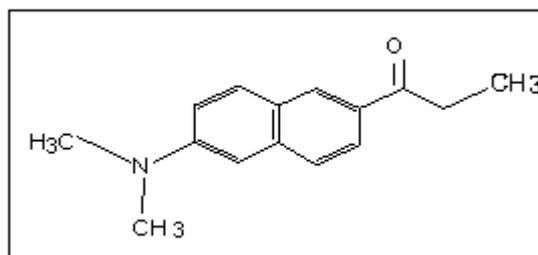


Figura 1-8 Estrutura do "Prodan"

Müller-Schulte e Schmitz-Rode (2006), preparam micro e nanopartículas de formato esférico compostas por Poli(N-isopropilacrilamida), usando uma nova técnica de polimerização em suspensão inversa, a qual permite a formação de gotas dentro de minutos. Em consequência disso, produz uma efetiva plataforma para encapsulação de colóides magnéticos e simultâneos fármacos análogos. A presença de colóides magnéticos permite um aquecimento indutivo das partículas usando um campo magnético alternativo acima da temperatura de transição do polímero, ou seja, acima de 35°C. Isto resulta no desinchamento das partículas acompanhado da liberação da substância encapsulada. O potencial desta tecnologia como um novo método de liberação controlada de drogas é demonstrado usando rodamina B e azul de metileno como substâncias análogas a drogas. Os resultados mostraram que, com aquecimento induzido por magnetismo, a liberação das substâncias foi bem mais rápida, quando comparada à liberação sem aquecimento induzido por magnetismo.

Forrest et al (2006), prepararam uma formulação injetável de rapamicina usando micelas compostas de copolímero em bloco de etileno glicol e ϵ -caprolactona (PEG-PCL). As micelas compostas por polímero e droga foram preparadas através da técnica de extração do solvente, resultando em micelas com diâmetro médio de 100nm e contendo uma porcentagem em peso de rapamicina variando de 7 a 10% ou superior a 1mg/mL. A rapamicina foi liberada das micelas por vários dias. Ao incorporar-se alfatocoferol e vitamina E nas micelas de PEG_PCL

aumentou a eficiência de encapsulação de rapamicina. A adição de alfatocoferol também mostrou que 50% da rapamicina foi liberada das micelas de PEG-PCL em 39 horas, na presença de soro albumina, ao passo que, na ausência de alfatocoferol, a liberação de 50% da rapamicina aconteceu em 31 horas.

Em preparações para liberação de fármacos, as microcapsulas oferecem a vantagem de que as partículas revestidas podem ser amplamente distribuídas ao longo do trato gastrointestinal. Isto melhora potencialmente a absorção da droga e reduz os efeitos colaterais relacionados à liberação da droga na mucosa gastrointestinal, que causam irritação (RÉ e BISCANS, 1999).

No campo farmacêutico, sistemas polímero-droga, obtidos através de técnicas de revestimento, são largamente empregados para liberação controlada através de administração oral, assim como para proteger a droga contra inativação ou proteger a mucosa gastrointestinal contra efeitos prejudiciais causados pela droga (BECK et al, 2005).

Em geral, processos de revestimento são utilizados na preparação de sistemas empregados sob forma de dosagem única, como comprimidos e cápsulas. No entanto, muitos trabalhos na literatura mostram as vantagens que o revestimento de micropartículas apresenta, em comparação com os sistemas de dosagem única, como, por exemplo, maior facilidade no transporte pelo sistema gastrointestinal, maior biodisponibilidade, maior uniformidade de difusão no trato gastrointestinal e redução da irritação local. Dentre os métodos mais comumente utilizados para a preparação de micropartículas revestidas está o método "spray-drying" (BECK et al, 2005).

Sistemas de revestimentos que usam solventes orgânicos oferecem algumas vantagens como baixo calor de vaporização, estabilidade de drogas hidrofílicas e pequeno tempo de processamento. No entanto, precauções de segurança, poluição ambiental e vantagens econômicas favorecem o uso de sistemas que utilizam água como solvente (BECK et al, 2005).

A técnica "spray-drying" é um método fácil de obtenção de micropartículas, amplamente utilizado em processos industriais, para a preparação de produtos farmacêuticos convencionais ou nutricionais. Consiste em um importante método para o desenvolvimento de novos sistemas microparticulados em escala

experimental, que permite fácil transposição para escala industrial. A maior vantagem desta técnica é a ausência de solvente orgânico (BECK et al, 2005).

Beck et al (2005), prepararam micropartículas com revestimento nanoestruturado, constituído de Eudragit S100, contendo diclofenaco sódico, empregando a técnica "spray-drying". Estas micropartículas foram caracterizadas, apresentando rendimento de 80% e taxa de encapsulação de 83%. A análise morfológica (MEV) permitiu a visualização de nanoestruturas adsorvidas à superfície das micropartículas. A liberação "*in vitro*" do fármaco em pH 5,0 e 7,4 mostrou eficiência de dissolução de, respectivamente, 34% e 78% (núcleo), 74% e 83% (mistura física) e 58% e 85% (micropartículas nanorevestidas). A modelagem matemática mostrou os modelos biexponencial (pH 5,0) e monoexponencial (pH 7,4) como aqueles que melhor descreveram os perfis de liberação. Na tolerância digestiva, os índices lesionais totais foram de $156,1 \pm 48,5$ para a solução de diclofenaco sódico, de $132,4 \pm 45,7$, para o núcleo, de $109,1 \pm 35,8$, para a mistura e de $29,9 \pm 12,1$, para as micropartículas, demonstrando o efeito protetor destas micropartículas frente à toxicidade do diclofenaco. Dessa forma, concluíram que esta estratégia de revestimento apresenta um emprego potencial no desenvolvimento de sistemas de administração oral de fármacos.

Industrialmente, principalmente na indústria alimentícia, a técnica "spray-drying" é comumente utilizada para encapsulação de alguns ingredientes. SHU et al (2006), prepararam microcapsulas de Licopeno por este método, utilizando um sistema constituído de gelatina e sucrose. Neste trabalho, investigou-se os efeitos de parâmetros tecnológicos, incluindo a proporção do material do núcleo e dos materiais de revestimento, pressão de homogeneização, temperatura e pureza do Licopeno no rendimento e na eficiência de encapsulação. As microcapsulas obtidas foram caracterizadas quanto à isomerização do Licopeno, estabilidade de armazenamento, tamanho de partículas, distribuição de tamanho de partículas, entre outros parâmetros. Os resultados mostraram que o rendimento e a eficiência de encapsulação foram significativamente afetados por estes parâmetros. A condição ótima determinada foi: razão gelatina/sucrose de 3:7, razão de material do núcleo/material do revestimento de 1:4, temperatura de alimentação de 55°C e temperatura interna de 190°C, pressão de homogeneização de 40Mpa, e pureza de Licopeno igual ou superior a 52%. Nestas condições o Licopeno encapsulado mostrou alguma isomerização mas boa estabilidade de armazenamento. Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difratometria de Raios X (DRX)

mostraram que as microcapsulas de Licopeno possuem formato esférico regular com tamanho médio de partículas de 5 μ m, distribuição de tamanho de partículas de 2-15 μ m e superfície lisa. Em experimentos sem a utilização de sucrose, não verificou-se estas características.

1.7. Cinética de Liberação de Agentes Ativos

A modelagem da liberação "*in vitro*" de drogas, a partir de sistemas constituídos por microcapsulas, está entre os principais estudos desta forma de administração. Assim, para um entendimento da cinética de liberação é necessário definir condições experimentais e variáveis do processo, no desenho e produção das microcapsulas com comportamento desejado de liberação. A cinética de liberação da droga das microcapsulas, em geral, depende de características físicas das moléculas da droga e da morfologia das microcapsulas. A cinética de liberação de populações polidispersas de microcapsulas pode seguir diferentes modelos.

Mecanismos de liberação são comumente deduzidos com base nos efeitos do solvente, velocidade de agitação, entre outras variáveis. Os dados resultantes são interpretados em termos de cinética de ordem zero, primeira ordem ou equação de difusão de Higuchi. É esperado que a velocidade de liberação da droga das microcapsulas varie de acordo com a espessura, porosidade e tamanho do núcleo constituído pela droga, entre outros fatores. Outro fator que interfere na velocidade de liberação é o estado de dispersão da droga. Microcapsulas podem ser constituídas de partículas com núcleos dispersos ou aglomerados, parcialmente ou totalmente revestidos pelo material polimérico. Estudos da cinética de sistemas de liberação constituídos de microcapsulas são usualmente feitos usando populações de microcapsulas com caráter de distribuição indefinido e a heterogeneidade não é considerada um fator (ARSHADY, 1999).

Capítulo 2

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

2.1.1. Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes: ácido 3-mercaptopropiônico (CTA) (99%) (Aldrich), 2,2'-azo-bis-isobutironitrila - AIBN (BASF), N-vinilcaprolactama (Aldrich), ácido acrílico (Rhodia-Brasil), trioxano (99%) (Aldrich) e os solventes 1,4-dioxano (Vetec), etanol absoluto, isopropanol e t-butanol (Synth). Para a purificação dos polímeros utilizou-se hexano (Isofar) e para a diluição utilizou-se dimetilformamida (DMF) (Vetec). Para a caracterização dos polímeros por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H) foram utilizados clorofórmio deuterado (99,8%) (Aldrich) e água deuterada (99,9%) (Aldrich).

2.1.2. Equipamentos, Acessórios e Vidrarias

Foram utilizados os seguintes equipamentos e vidrarias: bomba de alto vácuo da marca Edwards modelo E2M18, balança analítica da marca Chyos modelo JK200, placa de agitação e aquecimento da marca Quimis modelo M25006, agitador magnético, banho termostático da marca Optherm modelo V, reatores encamisados de capacidade para 50 e 250mL, respectivamente, filtros para solventes orgânicos e aquosos com membrana PTFE modificada 0,45 μm (Millipore). Espátula metálica, seringa, balão de fundo redondo, condensador, béckeres e tubos de ensaio.

A cinética das polimerizações foi estudada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) empregando um equipamento da marca Varian, modelo Mercury 300 MHz, locado no Laboratório de Espectroscopia da EEL/USP e por espectrofotometria de Ultra-Violeta, empregando um equipamento da marca Varian modelo Cary 50 CONC, locado no Laboratório de Biocatálise da EEL/USP.

A encapsulação de Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA) foi realizada em um mini "spray-dryer" marca BÜCHI modelo 190. As viscosidades das soluções aquosas dos polímeros foram medidas em um viscosímetro da marca Brookfield modelo DV-II. Os diâmetros médios e polidispersidade de diâmetro das partículas foram medidos em equipamento da marca Malvern Zetasizer modelo 1000. Os ensaios de liberação de Cetoprofeno foram realizados em um dissolutor marca Nova Ética, modelo 299/6 e as leituras de absorvância foram obtidas por espectrofotômetro UV/visível, marca GBC, modelo Cintra 10/20/40. Todos estes equipamentos estão locados no Laboratório de Tecnologia de Partículas do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT)

As características físico-químicas das micropartículas foram obtidas por um equipamento de microscopia eletrônica de varredura da marca LEO modelo 1450VP, locado no Laboratório de Microscopia Eletrônica da EEL/USP e um difratômetro de Raios X da marca Rich Seifert modelo ISSO-DEBYFLEX 1001, locado no Laboratório Difractometria de Raios X da EEL/USP.

2.2. Métodos

2.2.1. Purificação da N-vinilcaprolactama (NVCL)

A NVCL foi purificada por destilação a vácuo na temperatura de 95°C.

2.2.2. Purificação do Ácido Acrílico (AA)

O AA foi purificado por destilação a vácuo na temperatura de 75°C.

2.2.3. Purificação do 2,2'-azo-bis-isobutironitrila (AIBN)

O AIBN foi purificado por recristalização em etanol absoluto, de acordo com a seguinte metodologia: 7 g de AIBN foram dissolvidos em 70mL de etanol absoluto e colocados sob agitação e refluxo por 30 minutos a uma temperatura de 45°C, em seguida a solução foi resfriada e após 1 hora, os cristais foram filtrados em filtro de

vidro sinterizado (Porosidade 0) e secos sob vácuo durante 11 horas a temperatura ambiente.

2.2.4. Secagem do 1,4-dioxano

O 1,4-dioxano foi primeiramente mantido sob refluxo na presença de hidreto de lítio e alumínio (AlLiH_4) por 30 minutos e posteriormente destilado, ainda na presença deste hidreto, para remoção da água.

2.2.5. Polimerizações

Nas polimerizações via radical livre, foi utilizado o ácido 3-mercaptopropiônico (CTA) como agente de transferência de cadeia, cuja finalidade é funcionalizar a extremidade da cadeia polimérica, porém os polímeros sintetizados na presença deste CTA não se caracterizam por ter massa molar controlada. A Figura 2-1 apresenta a reação de transferência de cadeia ao CTA, via radical livre.

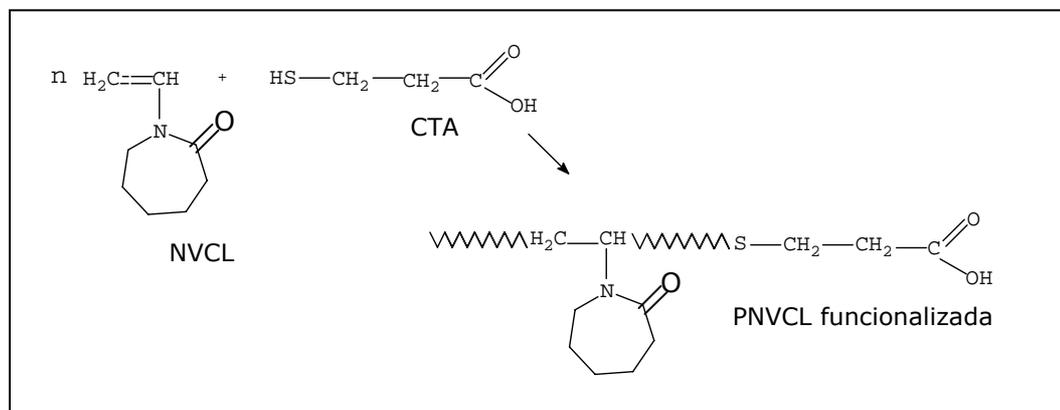


Figura 2-1 Transferência de cadeia ao CTA na síntese da PNVCL via radical livre.

As polimerizações foram realizadas em um reator encamisado, de capacidade igual a 50mL, como mostrado na Figura 2-2.

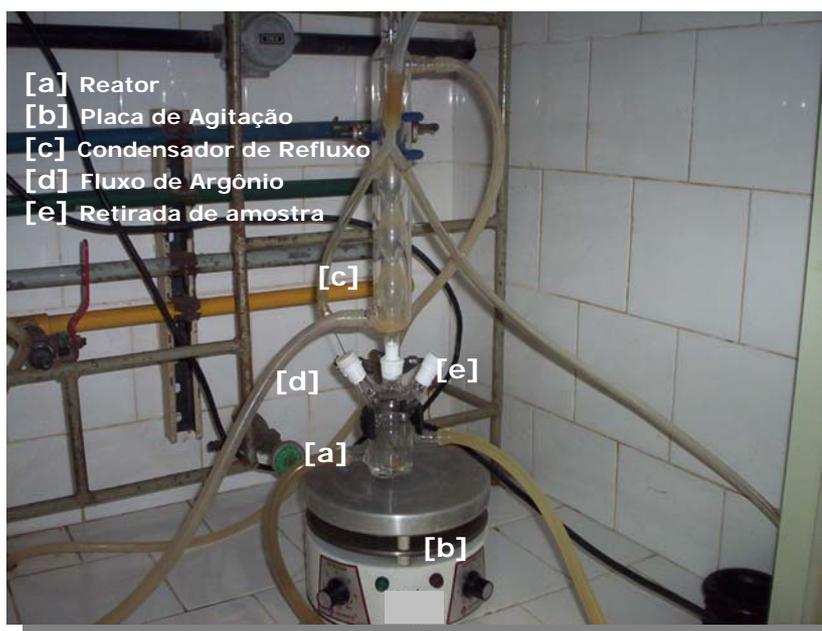


Figura 2-2 Sistema de polimerização utilizado.

As reações foram conduzidas sob atmosfera de argônio e com agitação magnética a uma temperatura previamente definida 70°C.

Primeiramente o reator foi carregado com o monômero, o CTA e o padrão interno (trioxano). Em seguida, foi adicionado aproximadamente 75% do volume total de solvente e purgou-se o sistema com gás inerte (argônio) durante 20 minutos. Enquanto isso, o iniciador (AIBN) foi pesado separadamente e solubilizado nos 25% restantes do volume total de solvente e purgado com o gás inerte durante 20 minutos. Atendida a temperatura desejada, a reação foi então iniciada pela adição da solução de iniciador ao meio reacional. As formulações e condições experimentais empregadas nas sínteses dos polímeros estão apresentadas no capítulo 3.

2.2.6. Determinação da Massa de Padrão Interno

A massa de padrão interno, utilizada nas reações, foi determinada em função do número de moles do monômero e do número de prótons do padrão interno, para uma equivalência de área de picos nos espectros de RMN ^1H , conforme Equação 2-1 (D'AGOSTO et al, 2002).

$$N_{PI} = \frac{N_M}{H_{PI}} \quad \text{Equação 2-1}$$

onde

N_{PI} = Número de moles do padrão interno;

N_M = Número de moles do monômero;

H_{PI} = Número de prótons do padrão interno (6 para o trioxano)

Exemplo:

Para uma massa de NVCL de 3,6025g ($2,5881 \times 10^{-2}$ mol), teremos:

Número de moles de trioxano = $2,5881 \times 10^{-2}$ mol / 6 (número de prótons do trioxano) = $4,3135 \times 10^{-3}$ mol

Massa de trioxano = $4,3135 \times 10^{-3}$ (mol) x 90,08 (g/mol) = 0,3885 g

2.2.7. Purificação dos Polímeros

2.2.7.1. Purificação da PNVCL

Os homopolímeros de NVCL foram purificados precipitando-se algumas gotas das soluções poliméricas em um bécker contendo 10mL de água destilada sob agitação magnética, aquecida a 45°C. Após a sedimentação do polímero, a água foi retirada utilizando-se uma pipeta. Em seguida, os polímeros foram dissolvidos em 2mL de água destilada gelada, sendo essa solução novamente gotejada em água destilada aquecida a 45°C. Este procedimento foi repetido duas vezes e, finalmente, os polímeros foram secos em estufa a vácuo na temperatura de 45°C até peso constante (aproximadamente 24 horas).

2.2.7.2. Purificação do Poli(NVCL-co-AA)

Devido às fortes interações entre segmentos de NVCL e AA no Poli(NVCL-co-AA), não foi possível utilizar o método descrito no item 2.2.7.1 para purificação destes copolímeros, uma vez que ao precipitá-los em água a 45°C, estas interações não permitiram posterior solubilização dos polímeros em água gelada. Mesmo em solução tampão pH 9,0 abaixo da LCST, a solubilização foi bastante demorada, inviabilizando o processo.

Dessa forma, para purificação do Poli(NVCL-co-AA), utilizou-se um outro método, que consiste no gotejamento dos copolímeros em 3mL de hexano gelado, no qual o copolímero é insolúvel, havendo, então, formação de um precipitado branco, que foi separado através da retirada da solução sobrenadante. Este precipitado foi, então, dissolvido em gotas de isopropanol. Esta solução foi novamente gotejada em 3mL de hexano gelado. Este procedimento foi repetido duas vezes. Em seguida os copolímeros foram secos em estufa a vácuo na temperatura de 45°C até peso constante (aproximadamente 24 horas).

2.2.8. Determinação da LCST

Depois de purificados, os homopolímeros foram diluídos em água e os copolímeros, em solução tampão pH 9,0, ambos à concentração de 5g/L. Estas soluções poliméricas de PNVL e Poli(NVCL-co-AA) foram, então, caracterizadas quanto à Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) por espectrofotometria de UV/Visível.

Determinou-se, inicialmente, a LCST de duas amostras (RHN2 e RHN5) do homopolímero de N-vinilcaprolactama (PNVL). A LCST das soluções poliméricas (5g/L) foi estabelecida como sendo o valor correspondente a um decréscimo superior a 50% da transmitância óptica inicial das soluções (CHUNG et al, 1999). As transmitâncias ópticas das soluções poliméricas foram medidas em um comprimento de onda constante de 570nm, para um intervalo de temperatura entre 28 e 42°C.

Com o objetivo de verificar a alteração da LCST, quando comparada à da PNVL, pela incorporação de unidades de AA nas cadeias poliméricas, os copolímeros de NVCL e AA também foram submetidos a análises no UV/visível e a LCST das soluções poliméricas (5g/L) foi novamente estabelecida como sendo o valor correspondente a um decréscimo superior a 50% da transmitância óptica inicial das soluções (CHUNG et al, 1999). Para a determinação da LCST dos copolímeros, estes foram, após purificados, dissolvidos em solução tampão pH 9,0, pois em baixos valores de pH os copolímeros são insolúveis em água, devido à formação de pontes de hidrogênio entre as unidades de AA e os grupos amida da NVCL. As transmitâncias ópticas das soluções poliméricas foram medidas em um comprimento de onda constante de 540nm, num intervalo de temperatura entre 28 e 42°C.

2.2.9. Estudo da Cinética de Polimerização por RMN ^1H

A cinética das reações de polimerização foi estudada empregando-se a técnica de RMN ^1H , através de amostras coletadas em diferentes tempos de reação. Ao serem retiradas das reações, as amostras foram introduzidas em banho de gelo e, pequenas alíquotas destas amostras, foram solubilizadas em um solvente adequado e submetidas às análises.

Nos espectros de RMN ^1H , o sinal referente ao deslocamento correspondente ao padrão interno Trioxano (5,2 ppm) foi integrado e à sua área foi atribuído o valor 1,00. Com este valor de área como referência, foram integrados os sinais correspondentes aos deslocamentos dos prótons da dupla ligação dos monômeros, como mostrado na Figura 2-3 (7,2 ppm para a NVCL e 6,2 ppm para o AA). Os valores das áreas obtidas por integração dos prótons da dupla ligação diminuem ao longo da reação, indicando assim o consumo dos monômeros e formação dos polímeros. Dessa forma foi possível calcular a conversão da reação, utilizando a Equação 2-2 (D'AGOSTO et al, 2003).

$$X(\%) = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100 \quad \text{Equação 2-2}$$

onde

$X(\%)$ = conversão da reação de polimerização;

A_0 = Área do sinal referente ao deslocamento correspondente ao próton da dupla ligação no tempo zero (0);

A_t = Área do sinal referente ao deslocamento correspondente ao próton da dupla ligação num tempo conhecido (t).

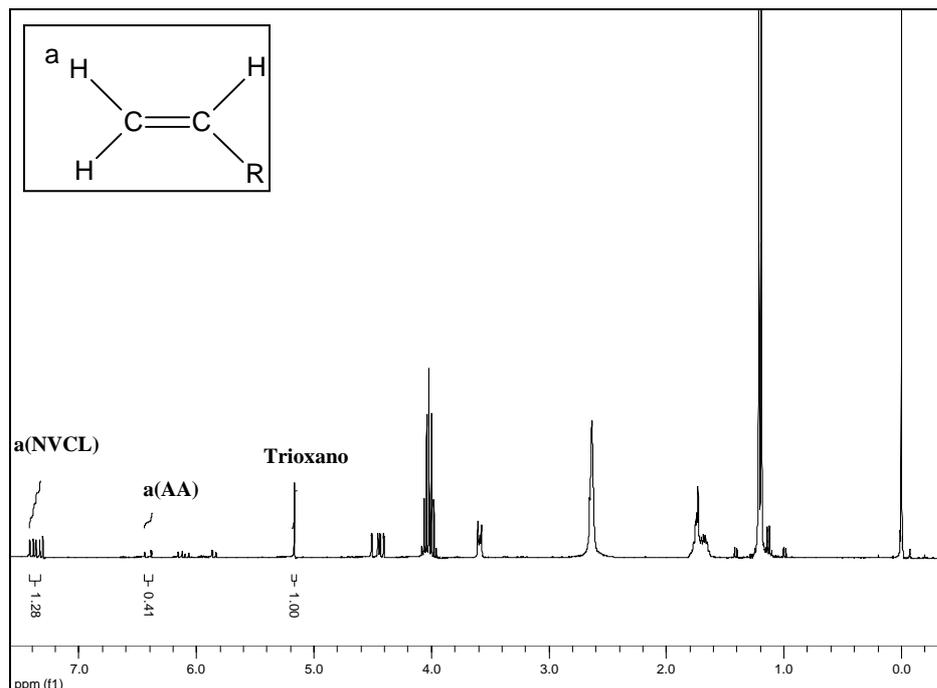


Figura 2-3 Espectro de RMN ^1H do meio de copolimerização da NVCL com o AA e estrutura química geral dos monômeros, onde "a" representa o próton, cujo sinal foi utilizado na integração dos espectros de RMN ^1H .

2.2.10. Microencapsulação de Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA) por "spray-dryer"

Poli(NVCL-co-AA), com temperatura de transição de entre 37°C e 40°C, obtido na reação RCC8 (Capítulo 3) foi utilizado para a encapsulação de agente ativo anti-inflamatório, genericamente conhecido como Cetoprofeno. Este agente ativo é utilizado no tratamento de artrites reumatóides e osteoartrites. Consiste de um ácido racêmico α -3-benzoilfenil composto de três grupos: um grupo fenil ($-\text{C}_6\text{H}_5$), um grupo benzoil ($-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}$) e uma cadeia acética ($-\text{CH}-\text{COOH}$) cuja estrutura está apresentada na Figura 2-4.

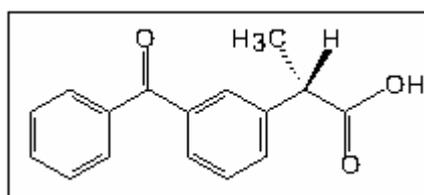


Figura 2-4 Estrutura do Cetoprofeno

A molécula é praticamente insolúvel em água, mas é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal. No entanto, esta droga possui o inconveniente de causar certa irritação ao sistema gástrico e às membranas mucosas nasais. Também possui instabilidade à luz. Dessa forma, a microencapsulação deste agente ativo consiste em uma interessante forma de reduzir estes problemas.

Para a microencapsulação de Cetoprofeno por "spray-dryer", partiu-se de duas diferentes composições polímero/droga, 1:1 e 2:1.

Para ambas as composições polímero/droga, inicialmente, 2g de Poli(NVCL-co-AA) foram pesados e dissolvidos em 40mL de solução tampão pH 9,0. Após completa dissolução do polímero, a viscosidade das soluções foi medida obtendo-se um valor de 1,54CPS para as duas. Quantidades apropriadas da droga foram adicionadas às soluções e as misturas foram, então, colocadas sob agitação mecânica (500rpm) por ~ 30 minutos para dispersão do Cetoprofeno. A Tabela 2-1 apresenta as composições polímero/droga para ambas as amostras preparadas.

Tabela 2-1 Composições polímero/droga utilizadas na encapsulação do Cetoprofeno

Solução	Poli(NVCL-co-AA)/ Cetoprofeno (m/m)	Poli(NVCL-co-AA)/solução aquosa (m/v)	Cetoprofeno/solução aquosa (m/v)
1	1:1	0,05	0,05
2	2:1	0,05	0,025

Após a dispersão da droga a mistura foi levada a um mini "spray-dryer" para evaporação da solução aquosa e formação das partículas constituídas de Cetoprofeno microencapsulado em Poli(NVCL-co-AA). A Figura 2-5 apresenta o equipamento utilizado para encapsular Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA).



Figura 2-5 Mini "spray-dryer" utilizado na encapsulação de Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA)

A secagem da solução e conseqüente microencapsulação da droga por "spray-dryer" segue o esquema apresentado na Figura 2-6.

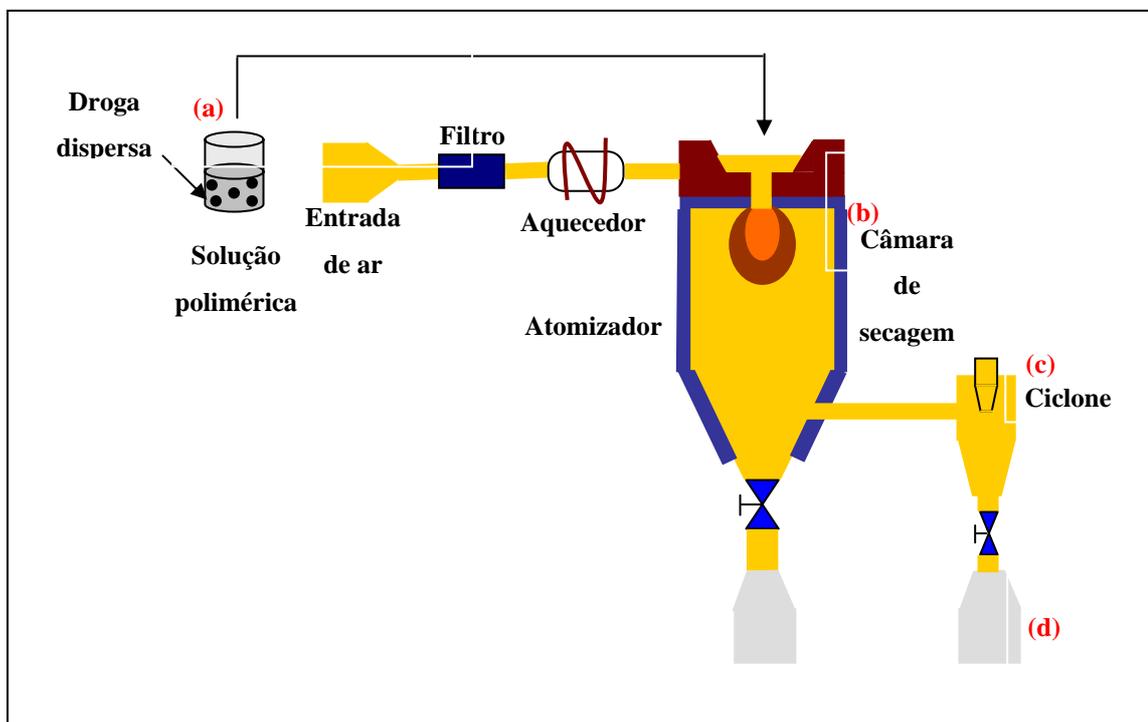


Figura 2-6 Esquema de encapsulação de um agente ativo por "spray-dryer".

No “spray-dryer”, a solução aquosa de polímero contendo a droga dispersa (a), é introduzida, através de sistema de vácuo, ao interior do equipamento (câmara de secagem) (b), que está a 120°C. Esta alta temperatura faz com que haja rápida evaporação da solução aquosa e o produto, na forma de pó, contendo as micropartículas de Cetoprofeno revestidas com Poli(NVCL-co-AA), é, então, arrastado através de um ciclone (c) e coletado em um copo de vidro (d), com temperatura de saída de aproximadamente 60°C.

Após secagem, os produtos obtidos foram pesados e submetidos à análise por Microscopia Ótica. Foram, também, realizadas medidas de diâmetro de partículas (DP) e distribuição de diâmetro de partículas (DDP) por espalhamento de luz.

Para as análises de partículas (DP) e distribuição de diâmetro de partículas (DDP) por espalhamento de luz, as amostras das micropartículas foram dispersas em aproximadamente 2,7mL de água deionizada, ligeiramente agitadas para suspensão das micropartículas e submetidas às análises.

A encapsulação de Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA) foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Partículas do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT).

2.2.11. Microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) utilizando o método de difusão do solvente em sistema de pseudo-emulsão

A microencapsulação de um agente ativo pelo método de difusão do solvente, em sistema de pseudo-emulsão, consiste na dissolução do polímero e do agente ativo em um solvente e na adição desta solução em um não-solvente. Geralmente, utiliza-se solução aquosa como não-solvente, contendo um agente emulsificante. Para a eficiência deste método o solvente deve ser miscível na solução aquosa. Dessa forma, ao adicionar a solução contendo polímero e droga, sob agitação mecânica, à solução aquosa, haverá difusão do solvente e, conseqüente, precipitação do agente ativo e do polímero. O agente ativo, geralmente mais hidrofóbico, precipita-se rapidamente em contato com a água, e o polímero, devido à sua insolubilidade, porém menor que a droga, adere à sua superfície, revestindo-a. Com a difusão do solvente para o meio aquoso, restam,

então, micropartículas compostas por um aglomerado da droga revestido pelo polímero. A solução deve, então ser removida por filtração e, posterior secagem.

Foi realizado teste de microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) utilizando o método de pseudo-emulsão. Partiu-se da composição polímero/droga de 1:20, ou seja, utilizou-se um meio saturado de Cetoprofeno. A metodologia utilizada foi a sugerida por Ré e Biscans (1999), as formulações estão apresentadas na Tabela 2-2. Poli(álcool vinílico) (PVA) foi utilizado como agente emulsificante.

Tabela 2-2 *Formulação e condições de processo para a preparação de micropartículas de Poli(NVCL-co-AA)/Cetoprofeno pelo método de difusão do solvente em pseudo-emulsão*

Poli(NVCL-co-AA)/ Cetoprofeno (m/m)	Cetoprofeno/ DMF ¹ (m/m)	Poli(NVCL-co-AA)/DMF (m/m)	DMF/água (m/m)	Veloc. Agitação (rpm)	Conc. de PVA ² (%)
1:20	0,843	0,041	0,023	500	0,5

O teste foi realizado à temperatura ambiente.

¹Foi utilizado como solvente a Dimetilformamida

²Poli(álcool vinílico)

Inicialmente, quantidades apropriadas de polímero e droga foram pesadas e dissolvidas em dimetilformamida (DMF). Em seguida, como o auxílio de uma seringa, esta solução foi ejetada na solução aquosa, contendo 0,5% de PVA, sob agitação mecânica.

O sistema foi mantido sob agitação mecânica por 17 horas. Após esse tempo, retirou-se uma amostra e submeteu-se à análise por espalhamento de luz para determinação do diâmetro médio de partículas. Imagens foram obtidas, através de microscopia ótica, para visualização do sistema no tempo zero e após 17 horas de agitação.

O produto foi removido da solução, por filtração e lavagem com água destilada. As micropartículas foram, então, secas a 50°C por ~ 24h. As amostras do produto seco foram submetidas à análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2.2.12. Liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA)

Após a microencapsulação do agente ativo, Cetoprofeno, no Poli(NVCL-co-AA) por "spray-dryer", a cinética de liberação da droga das micropartículas foi determinada usando teste de dissolução, empregando um agitador mecânico. Os ensaios de liberação "in vitro" da droga foram realizados para as amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1.

A liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA) foi estudada variando-se o pH e a temperatura do meio de liberação. Os valores de pH utilizados foram 1,2 e 7,4, simulando o fluido gastrointestinal. As temperaturas estudadas foram de 37°C e 38°C. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Para a realização dos ensaios de liberação, quantidades apropriadas das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA)/Cetoprofeno com ambas as composições 1:1 e 2:1 foram pesadas e colocadas no interior de cápsulas de gelatina. A Tabela 2-3 apresenta as massas pesadas para cada amostra, o pH e a temperatura para cada ensaio realizado.

Tabela 2-3 Amostra, massa, pH e temperatura para cada ensaio de liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA)

Ensaio	Amostra	Quantidade (mg)	pH	Temperatura (°C)
1	1:1	20,5	1,2	37°C
	1:1	50,2	7,4	37°C
	Cetoprofeno puro	32,6	7,4	37°C
2	2:1	50,1	1,2	37°C
	2:1	50	7,4	37°C
	Cetoprofeno puro	26,9	1,2	37°C
3	1:1	51	7,4	38°C
	2:1	35,1	7,4	38°C
	Cetoprofeno puro	27,5	7,4	38°C
4	1:1	50,2	1,2	38°C
	2:1	19,5	1,2	38°C
	Cetoprofeno puro	26,8	1,2	38°C

Os ensaios foram realizados em um banho contendo 6 cubas. As cápsulas de gelatina, contendo as amostras, foram adicionadas, sob agitação mecânica a 100rpm, a 500mL da solução com o respectivo valor de pH (pH 1,2 ou pH 7,4) simulando condições "in vivo". Alíquotas foram retiradas em intervalos regulares de tempo: 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 e 1440 minutos. A Figura 2-7 apresenta o banho utilizado para a realização dos ensaios de liberação.



Figura 2-7 Banho utilizado nos ensaios de liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA)

As amostras foram submetidas à análise no UV/visível a 260nm, comprimento de onda no qual o Cetoprofeno absorve a radiação ultra-violeta e a presença de Poli(NVCL-co-AA) não provoca interferência. Os resultados foram lidos sob a forma de Absorbância. Com estes resultados e de posse da curva de calibração de Cetoprofeno em pH 1,2 e 7,4, foi possível calcular a concentração do agente ativo para cada intervalo de tempo.

Os ensaios de liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA) também foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Partículas do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT).

Construção da curva de calibração de Cetoprofeno em pH 1,2 e 7,4

Para o cálculo da concentração de Cetoprofeno em diferentes intervalos de tempo, nos ensaios de liberação deste agente ativo foi necessário, fazer a curva de calibração para a droga em ambos os valores de pH, 1,2 e 7,4. Esta foi construída a partir das leituras de absorvância, obtidas no equipamento UV/visível, em um comprimento de onda constante de 260nm.

Para a construção da curva de calibração de Cetoprofeno em pH 1,2, dissolveu-se 9mg da droga em solução tampão pH 1,2. Em seguida, em 5 diferentes tubos de ensaio, adicionou-se, respectivamente, 1, 2, 3, 4 e 5mL desta solução, completando-se para 10mL com a solução tampão pH 1,2. Para cada uma destas novas soluções foi retirada uma alíquota e feita a leitura de absorvância no UV/visível, obtendo-se os resultados indicados na Tabela 2-4.

Tabela 2-4 *Concentrações das soluções de Cetoprofeno em pH 1,2 e leituras de Absorvância no UV/visível.*

Concentração (mg/mL)	Absorvância
0,00360	0,22768
0,00721	0,45990
0,01081	0,77540
0,01442	0,86990
0,01802	1,15388
0,02162	1,36878
0,03604	2,29570

Com estes valores foi possível construir a curva de calibração de Cetoprofeno em pH 1,2 e, a partir da equação da reta obtida, foi possível calcular a concentração da droga em cada intervalo de tempo nos ensaios de liberação. A Figura 2-8 apresenta a curva de calibração para o Cetoprofeno em pH 1,2.

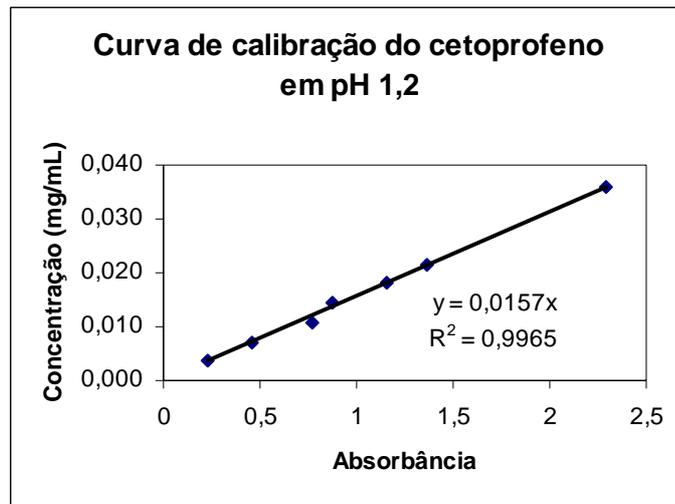


Figura 2-8 Curva de calibração para o Cetoprofeno em pH 1,2.

O mesmo procedimento foi adotado para a construção da curva de calibração para o Cetoprofeno em pH 7,4. A Tabela 2-5 apresenta as concentrações e os resultados de Absorbância obtidos, sob as mesmas condições, para pH 7,4.

Tabela 2-5 Concentrações das soluções de Cetoprofeno em pH 7,4 e leituras de Absorbância no UV/visível.

Concentração (mg/mL)	Absorbância
0,00360	0,21490
0,00710	0,42586
0,01070	0,64092
0,01420	0,85882
0,01780	1,07332
0,02140	1,28094
0,03560	2,12410

Da mesma forma, com estes valores construiu-se a curva de calibração para o Cetoprofeno em pH 7,4 e, a partir da equação da reta, calculou-se a concentração da droga para cada intervalo de tempo nos ensaios de liberação. A Figura 2-9 apresenta a curva de calibração para Cetoprofeno em pH 7,4.

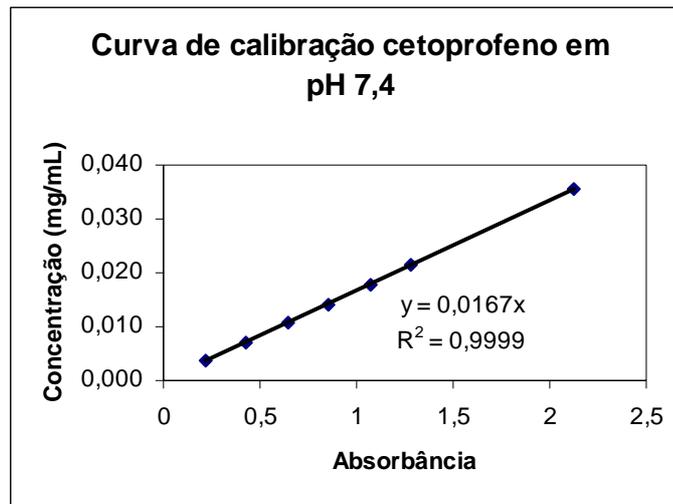


Figura 2-9 Curva de calibração para Cetoprofeno em pH 7,4.

2.2.13. Características morfológicas das micropartículas de Cetoprofeno encapsuladas no Poli(NVCL-co-AA)

Para visualização e comparação das características morfológicas entre os cristais da droga e as micropartículas, amostras de Cetoprofeno puro e das micropartículas, tanto com composição polímero droga 1:1 quanto 2:1, obtidas por "spray-dryer" foram submetidas a análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As micropartículas obtidas pelo método de difusão do solvente em sistema de pseudo-emulsão, após filtragem e secagem, foram analisadas por MEV, assim como o aglomerado de Cetoprofeno.

Amostras do produto restante, após os ensaios de liberação de Cetoprofeno das micropartículas obtidas por "spray-dryer", em pH 1,2, também foram submetidas a análises por MEV.

2.2.14. Medidas de Difração de Raios X

Estudos de Difração de Raios X (DRX) foram realizados em uma amostra de Cetoprofeno puro e duas amostras das micropartículas compostas por Poli(NVCL-co-AA) com composições polímero/droga de, respectivamente, 1:1 e 2:1. Em todas

as análises, foram obtidas medidas de Intensidade com ângulo de difração variando de 5 a 80°.

Capítulo 3

3. Resultados e Discussão

3.1. Influência da purificação do monômero

Foram realizadas duas homopolimerizações da NVCL com formulações idênticas (RHN1 e RHN2) como apresentadas na Tabela 3-1, porém em uma delas (RHN1) utilizou-se o monômero NVCL sem prévia purificação e, para reação RHN2, utilizou-se a NVCL purificada por destilação a vácuo. Os resultados mostraram que, para a reação RHN1, com NVCL sem prévia purificação, após 300 minutos, obteve-se conversão inferior (89,76%) àquela realizada com NVCL purificada por destilação a vácuo (RHN2) (97,56%). Este resultado mostra que impurezas presentes no monômero causam inibição da polimerização via radical livre e que a técnica de destilação a vácuo é eficiente, fornecendo material de alto grau de pureza.

A Figura 3-1 e Figura 3-2 apresentam, respectivamente, os espectros de RMN ^1H da NVCL e do AA purificados por destilação a vácuo.

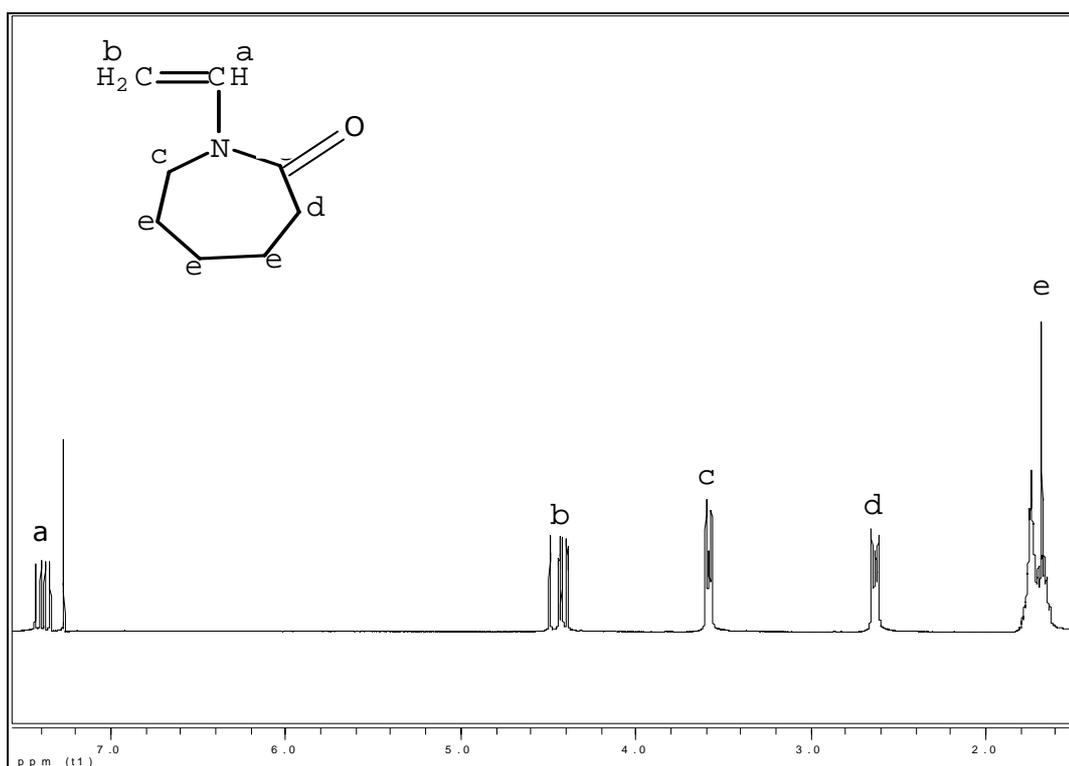


Figura 3-1 Espectro de RMN ¹H da NVCL purificada por destilação a vácuo.

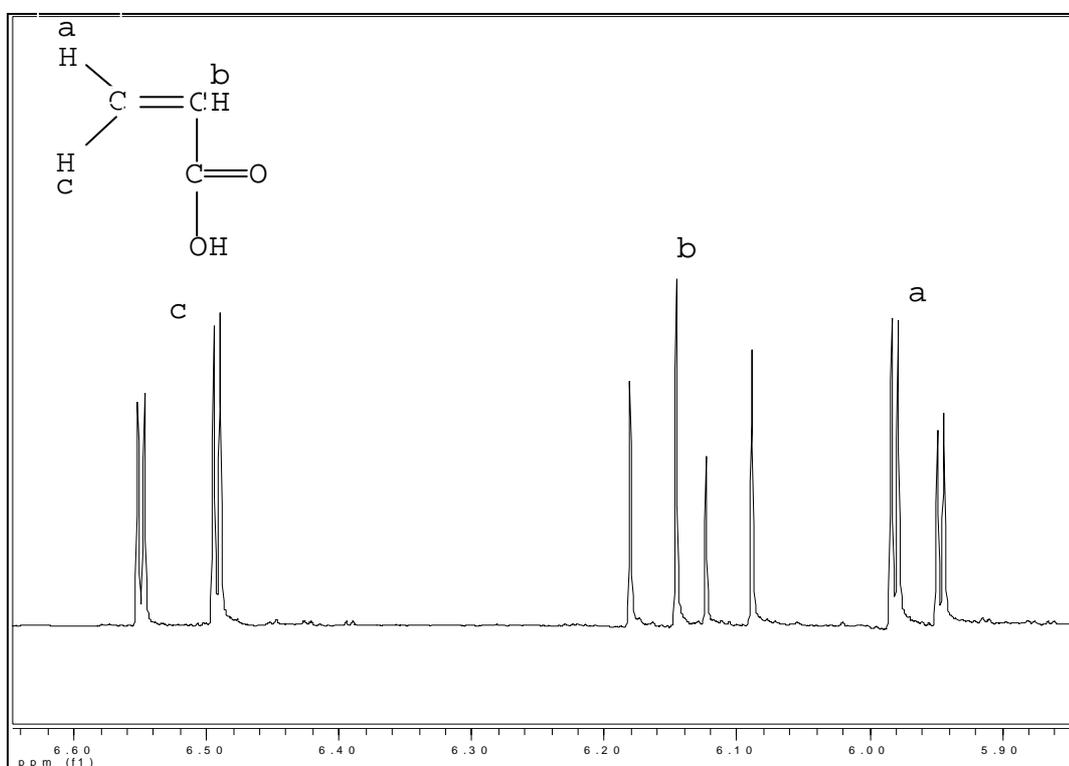


Figura 3-2 Espectro de RMN ¹H do AA purificado por destilação a vácuo.

3.2. Homopolimerizações via radical livre

Com o objetivo de realizar um estudo preliminar das condições de polimerização, foram realizadas nove homopolimerizações da NVCL e quatro AA, pelo mecanismo de polimerização via radical livre, todas, realizadas em duplicata.

Nas homopolimerizações da NVCL utilizou-se o ácido 3-mercaptopropiônico como agente de transferência, com o objetivo de funcionalizar a extremidade da cadeia polimérica, variando-se parâmetros como teor de sólidos, concentração de iniciador e polaridade do solvente, para avaliar como estes fatores influenciam na cinética das homopolimerizações. A Tabela 3-1 apresenta as formulações utilizadas, assim como os dados de conversões obtidos através das análises de RMN ^1H , por meio do consumo do monômero durante a reação.

Tabela 3-1 *Dados experimentais das homopolimerizações da NVCL via radical livre*

Reação	Formulações (g)				Solvente (mL)	TS (%)	Tempo (min)	Conv. (%)
	NVCL	Trioxano	CTA*	AIBN				
RHN1	3,6021	0,3886	0,1079	0,0425	10(1,4-dioxano)	26,5	300	89,76
RHN2	3,6073	0,3909	0,1115	0,0466	10(1,4-dioxano)	26,5	300	97,56
RHN3	7,1778	0,7701	0,2225	0,0846	15(1,4-dioxano)	35	300	97,45
RHN4	2,0547	0,2199	0,0663	0,0281	15(1,4-dioxano)	10	300	89,34
RHN5	2,9061	0,3154	0,0893	0,0531	10(1,4-dioxano)	20	300	95,31
RHN6	2,8833	0,3109	0,0897	0,0697	10(1,4-dioxano)	20	300	98,99
RHN7	2,8843	0,3115	0,0884	0,0513	10(etanol)	20	300	92,90
RHN8	2,8827	0,3115	0,0888	0,0579	10(isopropanol)	20	300	83,38
RHN9	2,8826	0,3120	0,0882	0,0543	10(t-butanol)	20	300	98,95

Temperatura = 70°C

*O CTA utilizado foi o ácido 3-mercaptopropiônico

A formulação de RHN1 foi baseada na literatura (INOUE et al, 1997), no entanto, substituiu-se o solvente pois, naquele trabalho, foi utilizado t-butanol como solvente.

Na reação de polimerização RHN1 empregou-se NVCL sem prévia purificação e, como pode-se observar, apresentou rendimento menor, se comparada com RHN2, realizada com a mesma formulação, porém com NVCL purificado.

Nas polimerizações RHN1, RHN2, RHN3 e RHN4 foi utilizada porcentagem molar de AIBN de 1% com relação ao monômero, em RHN5, porcentagem molar de 1,5 % e, finalmente, em RHN6 2%. Na reação RHN6, apesar do rendimento bastante satisfatório, devido à alta concentração de iniciador, o meio reacional tornou-se bastante viscoso com o decorrer da reação, comprometendo-se, assim, a agitação. Resultado satisfatório foi obtido com a concentração de iniciador de 1,5% com relação ao monômero, por isso, manteve-se esta concentração nas demais reações.

Ao estudar-se a influência do teor de sólidos (TS) no rendimento da reação (RHN2, RHN3, RHN4 e RHN5), verificou-se que bons resultados foram obtidos utilizando 20% de TS, evitando-se que a agitação fosse comprometida, devido à maior quantidade de monômero que leva a uma alta concentração de polímero no meio reacional. Dessa forma, este valor também foi mantido nas demais reações.

No estudo da influência da polaridade do solvente na cinética das homopolimerizações, verificou-se que quanto maior é a polaridade do solvente, maiores conversões são obtidas no mesmo intervalo de tempo, podendo-se observar que com isopropanol e t-butanol foram obtidas conversões de 83,38% e 98,95%, respectivamente, após 5 horas de reação. Este fato era esperado, pois de acordo com a literatura, quanto maior a polaridade do solvente maior será o coeficiente de propagação da reação. Porém, foi encontrada uma dificuldade quanto à utilização destes solventes, devido ao iniciador (AIBN) ser insolúvel neles à temperatura ambiente. Dessa forma, ao transferir-se o iniciador para o meio reacional, há uma perda, o que pode influenciar no resultado da reação. Portanto, para a utilização eficiente destes solventes, deve-se estudar o uso de um outro iniciador ou outra forma de transferência da solução de iniciador para o meio reacional.

Nas homopolimerizações do AA, realizou-se somente um estudo da influência da polaridade do solvente na cinética de homopolimerização, como é mostrado na Tabela 3-2. A concentração de AIBN foi mantida em 1,5%, com relação ao monômero e o teor de sólidos foi mantido em 20%.

Tabela 3-2 *Dados experimentais das homopolimerizações do AA via radical livre*

Reação	Formulações (g)				Solvente (mL)	TS (%)	Tempo (min)	Conv. (%)
	AA	Trioxano	CTA*	AIBN				
RHA1	1,9477	0,3112	0,0881	0,0516	10(1,4-dioxano)	20	300	-
RHA2	1,9483	0,3111	-	0,0523	10(1,4-dioxano)	20	300	87,86
RHA3	1,9484	0,3118	-	0,0547	10(isopropanol)	20	300	96,12
RHA4	1,9480	0,3116	-	0,0514	10(etanol)	20	300	94,15
RHA5	1,9479	0,3112	-	0,0543	10(t-butanol)	20	60	94,76

Temperatura = 70°C

*O CTA utilizado foi o ácido 3-mercaptopropiônico.

Em RHA1, utilizou-se o CTA, ácido 3-mercaptopropiônico, porém, mesmo após decorridas 5 horas de reação, as análises de RMN ^1H mostraram que não houve consumo de monômero. Este fato pode ser atribuído à presença de CTA, que pode estar inibindo a polimerização. Portanto, o agente de transferência de cadeia não foi utilizado nas demais homopolimerizações do AA, uma vez que este não promove o controle do peso molecular das cadeias poliméricas. No caso do PAA, não existe a necessidade de funcionalização devido à presença de grupos carboxílicos, provenientes das moléculas de AA, presentes ao longo das macrocadeias.

Ao estudar a influência do solvente na cinética das homopolimerizações, novamente verificou-se que, à medida que aumenta a polaridade do solvente, maiores rendimentos são obtidos, observando-se melhores resultados de conversões com isopropanol e t-butanol. Com o primeiro obteve-se conversão de 96,12%, após três horas de reação e, com o segundo 94,76%, após uma hora. Entretanto, é importante ressaltar, mais uma vez, a dificuldade em trabalhar com estes solventes utilizando AIBN, devido à sua insolubilidade.

Outro fator importante foi observado na reação RHA4. Após uma hora de reação, o meio tornou-se bastante viscoso, dificultando a agitação e a retirada de amostras, o que pode ter comprometido os resultados.

3.2.1. Estudo cinético das homopolimerizações

Para testar a eficiência do iniciador, neste caso o AIBN e a viabilidade da metodologia, foi realizado estudo cinético para a determinação da conversão das reações pela técnica de RMN ^1H . Amostras do meio reacional foram retiradas a intervalos regulares de tempo, dissolvidas em CDCl_3 e analisadas por Ressonância Magnética Nuclear de Próton, RMN ^1H .

A Tabela 3-3 apresenta os resultados do estudo cinético das reações de homopolimerização da NVCL. Estes foram obtidos a partir da diferença entre as áreas das integrais dos picos referentes ao próton da dupla ligação no tempo zero e no tempo de retirada da amostra seguinte (Figuras 1 a 9 - Anexo I, reação RHN5), de acordo com a Equação 2 – 2. A partir destes resultados verifica-se que as reações são rápidas e altas conversões podem ser obtidas em pouco tempo. Por exemplo, na reação RHN5, após uma hora, foi possível alcançar rendimento de 69,53% e após duas horas, obteve-se conversão de 85,94%.

Tabela 3-3 *Conversões parciais da NVCL em função do tempo nas homopolimerizações.*

Reação	Conversões, X (%)								
	0	15'	30'	45'	60'	75'	105'	120'	300'
RHN1	-	25,13	37,01	40,15	55,12	63,47	74,02	88,19	89,76
RHN2	-	29,27	55,28	62,60	77,24	83,74	92,68	93,50	97,56
RHN3	-	21,57	48,84	59,88	62,55	81,71	91,61	94,54	97,45
RHN4	-	20,16	34,95	54,10	60,71	66,82	70,43	79,51	89,34
RHN5	-	30,47	47,66	60,94	69,53	71,88	84,38	85,94	95,31
RHN6	-	38,98	65,17	76,49	81,15	87,52	91,47	96,05	98,99
RHN7	-	27,38	34,59	56,36	71,08	76,57	85,86	89,54	92,90
RHN8	-	21,44	51,08	63,16	71,64	76,99	77,78	79,47	83,38
RHN9	-	33,68	37,41	54,69	68,13	77,42	85,18	91,69	98,95

A Figura 3-3 apresenta a curva de conversão da NVCL em função do tempo nas homopolimerizações.

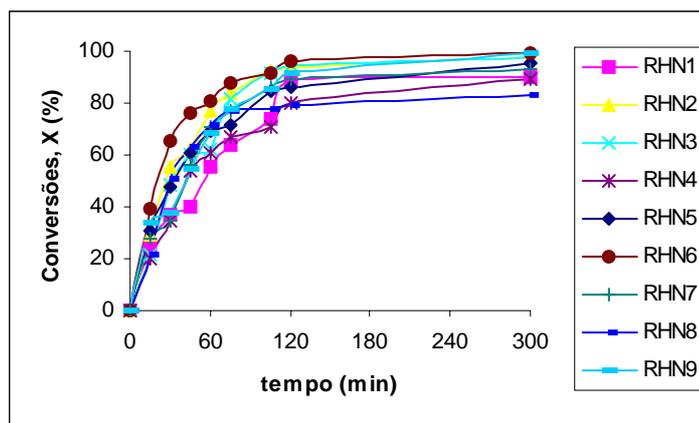


Figura 3-3 Curva de conversão de NVCL em PNVCCL em função do tempo nas homopolimerizações.

É possível notar, através da Figura 3-3, que todas as reações de homopolimerização são rápidas. Em geral, verifica-se um consumo rápido do monômero na primeira hora de reação, atingindo-se conversões superiores a 70%. A partir de primeira hora, a reação torna-se mais lenta. Para todas as reações, após 5 horas, conversões superiores a 80% foram verificadas.

A Tabela 3-4 apresenta as conversões parciais das reações de homopolimerização do AA em função do tempo, obtidas da mesma forma das conversões da NVCL, onde também observamos que a polimerização é rápida, pois na reação RHA3, por exemplo, com apenas duas horas de reação, atingiu-se conversão de 91,81% (Figuras 1 a 5 - Anexo II, reação RHA3).

Tabela 3-4 Conversões parciais do AA em função do tempo na homopolimerização.

Reação	Conversões, X (%)				
	0	30'	60'	120'	300'
RHA1	-	-	-	-	-
RHA2	-	32,64	56,49	74,78	87,86
RHA3	-	45,26	72,41	91,81	96,12
RHA4	-	39,41	66,94	88,39	94,15
RHA5	-	78,64	94,76	-	-

A Figura 3-4 apresenta a curva de conversão em função do tempo para as reações de homopolimerização do AA.

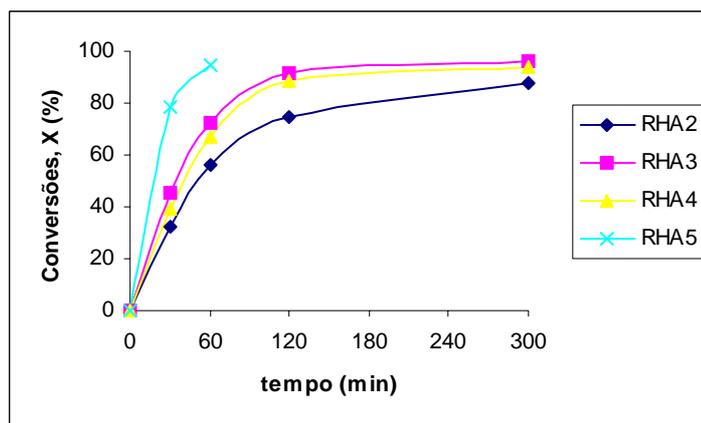


Figura 3-4 Curva de conversão do AA em PAA em função do tempo nas homopolimerizações.

Pode-se verificar que nestas homopolimerizações, altas conversões também foram obtidas em intervalos pequenos de tempo, destacando-se a reação RHA5, onde com apenas uma hora de reação, mais de 90% do monômero já havia sido consumido.

3.2.2. Determinação da LCST da PNVCL

A Poli(N-vinilcaprolactama) é um exemplo de polímero termosensível, ou seja, apresenta LCST em soluções aquosas. A Figura 3-5 mostra a variação da transmitância (%) a 570nm versus a temperatura (°C), dos produtos das reações RHN2 e RHN5. Segundo a literatura, a LCST da NVCL está entre 30-40°C (VERBRUGGHE et al, 2003). Pode-se observar, nesta figura, queda acentuada na curva de transmitância, na temperatura equivalente a 35°C para ambas as amostras (RHN2 e RHN5), indicando esta ser a temperatura de transição de fase da PNVCL. Variando o teor de sólidos, 26,5% (RHN2) e 20% (RHN5), pôde-se verificar que a LCST da PNVCL não é dependente deste parâmetro.

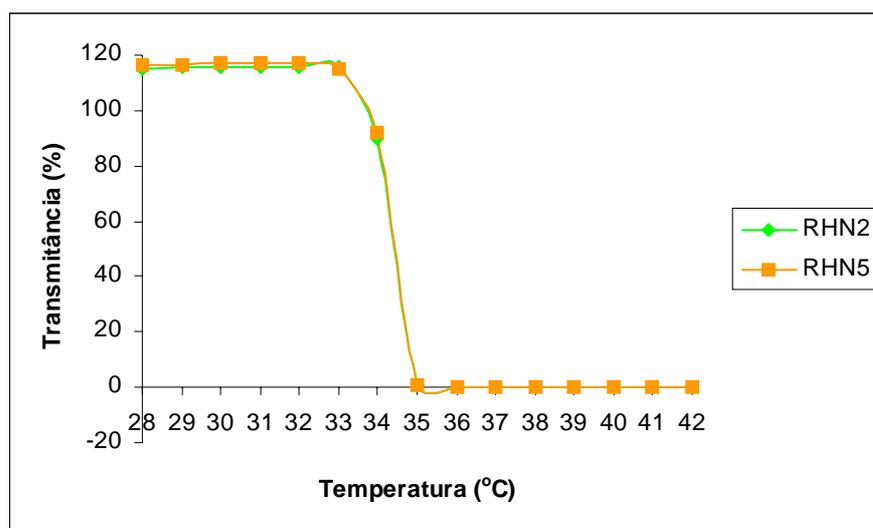


Figura 3-5 Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) determinada por transmitância a 570nm, $[PNVCL] = 5g/L$.

3.3. Síntese do copolímero Poli(NVCL-co-AA)

Foram realizadas oito reações de síntese do copolímero Poli(NVCL-co-AA), variando-se a composição monomérica, com o objetivo de estudar a influência da proporção do comonômero hidrofílico na LCST do copolímero. O solvente também foi variado. Todas as reações de copolimerização também foram realizadas em duplicata. A Tabela 3-5 apresenta os dados experimentais das copolimerizações.

Tabela 3-5 *Dados experimentais das copolimerizações realizadas variando-se a composição monomérica.*

Reação	Razão NVCL/AA (m/m)	Formulação (g)					Solv. (mL)	Tempo (min)	Conversões Individuais (%)	
		NVCL	AA	Trioxano	CTA*	AIBN			NVCL	AA
RCC1	80/20	2,3056	0,2987	0,3110	0,0879	0,0508	10 ^a	300	97,16	~100
RCC2	70/30	2,0173	0,4480	0,3108	0,0884	0,0509	10 ^a	240	99,69	~100
RCC3	60/40	1,7192	0,5968	0,3110	0,0846	0,0511	10 ^a	240	87,11	~100
RCC4	80/20	2,3061	0,2985	0,3109	0,0879	0,0513	10 ^b	300	72,28	~100
RCC5	70/30	2,0174	0,4476	0,3107	0,0878	0,0511	10 ^b	300	95,81	~100
RCC6	60/40	1,7294	0,5970	0,3109	0,0878	0,0509	10 ^b	90	80,13	~100
RCC7	85/15	42,4990	7,5048	3,4876	0,9880	0,3813	250 ^a	240	~100	~100
RCC8	80/20	40,0078	10,0088	3,4876	0,9874	0,3817	250 ^a	240	~100	~100

Temperatura = 70°C

*ácido 3-mercaptopropiônico.

Nas reações RCC7 e RCC8, aumentou-se as quantidades de reagentes para ter maior quantidade de produto para os testes de microencapsulação.

^aisopropanol

^betanol.

Todas as reações foram realizadas na presença do CTA, ácido 3-mercaptopropiônico.

Algumas copolimerizações foram realizadas utilizando-se 1,4-dioxano como solvente, no entanto, o meio se tornou turvo logo no início da reação, permanecendo assim durante todo o processo. Este fato pode ter comprometido os resultados das análises de RMN ¹H, levando à resultados falsos de rendimento e, por isso, estes foram desprezados. Pode-se observar que para ambos os solventes estudados, etanol e isopropanol, altas conversões foram obtidas em poucas horas de reação. Estes resultados indicam que ambos solventes são apropriados para a copolimerização da NVCL com o AA.

Em geral, para todas as reações, após 30 minutos de reação não foi possível a visualização do sinal referente ao próton da dupla ligação do ácido acrílico nas análises de RMN ¹H. Considerou-se, portanto, que aproximadamente todo este monômero já havia sido consumido nas copolimerizações, levando a ~ 100% de conversão, após 30 minutos de reação.

Também as reações de copolimerização mostraram altas conversões, destacando-se a reação RCC2, onde após 4 horas de reação, a análise por RMN ^1H mostrou que cerca de 99,69% da NVCL foi consumida.

3.3.1. Estudo Cinético da Copolimerização

Este estudo foi feito utilizando-se Ressonância Magnética Nuclear de Próton, RMN ^1H e foi adotado o mesmo procedimento das copolimerizações.

As Tabelas 3-6 e 3-7 apresentam os resultados do estudo cinético das reações de copolimerização de NVCL com o AA. Estes foram obtidos a partir da diferença entre a área da integral do sinal referente a um próton da dupla ligação do monômero e do sinal referente ao trioxano (padrão interno) no tempo zero e no tempo de retirada da amostra seguinte (Figuras 1 a 7 - Anexo III, reação RCC1), de acordo com a Equação 2-2.

Tabela 3-6 *Conversões parciais da NVCL em função do tempo nas copolimerizações.*

Reação	Conversões, x (%)							
	0	15'	30'	60'	90'	120'	240'	300'
RCC1	-	30,50	46,81	67,38	-	87,94	95,04	97,16
RCC2	-	54,39	58,58	59,10	67,47	81,95	99,69	-
RCC3	-	21,04	34,65	57,46	61,08	74,96	87,11	-
RCC4	-	29,15	33,78	47,74	52,87	67,43	70,97	72,28
RCC5	-	24,98	26,02	45,15	53,67	61,61	87,45	95,81
RCC6	-	35,80	71,40	77,93	80,13	-	-	-
RCC7	-	43,91	51,72	66,79	74,12	94,66	100	-
RCC8	-	38,54	45,39	59,46	76,41	91,12	100	-

Tabela 3-7 *Conversões parciais do AA em função do tempo nas copolimerizações.*

Reação	Conversões, x (%)		
	0	15'	30'
RCC1	-	100	100
RCC2	-	100	100
RCC3	-	20,58	100
RCC4	-	33,78	100
RCC5	-	26,02	100
RCC6	-	95,76	100
RCC7	-	100	100
RCC8	-	100	100

De acordo com estes resultados verifica-se que a reação é rápida. As análises de RMN ^1H mostraram que, em geral, com 30 minutos de reação, não havia presença do sinal referente ao AA, indicando, provavelmente, que foi totalmente consumido na reação e, com relação à NVCL, uma conversão de quase 100% deste monômero foi verificada, após 300 minutos e, com 2 horas, em geral, conversões superiores a 60% foram observadas.

A Figura 3-6 apresenta a curva de conversão de NVCL nas reações de copolimerização.

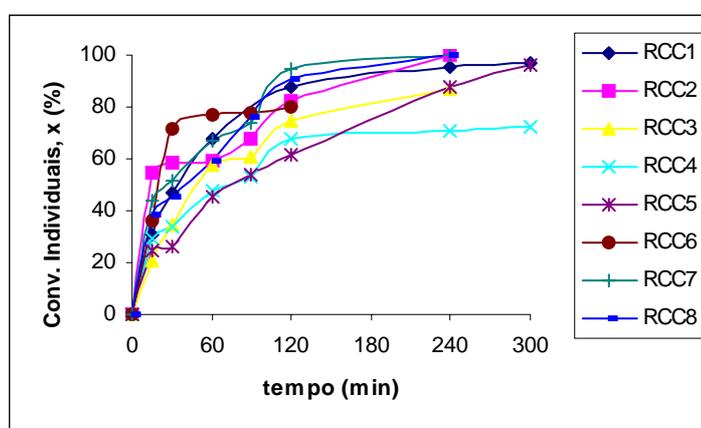


Figura 3-6 Curva de conversão de NVCL em função do tempo nas reações de copolimerização.

A Figura 3-7 apresenta a curva de conversão do AA nas reações de copolimerização.

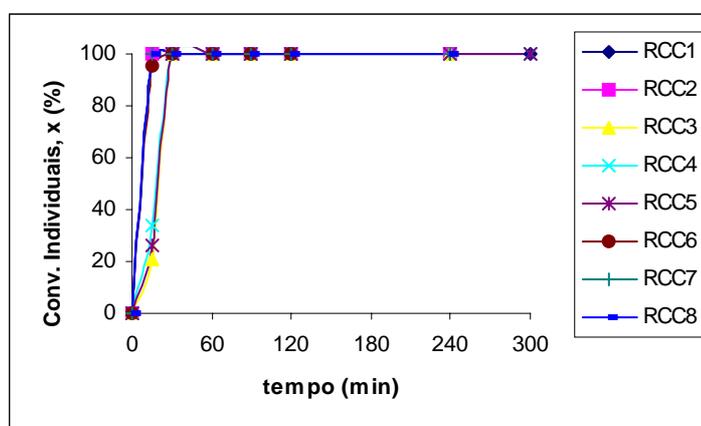


Figura 3-7 Curva de conversão do AA em função do tempo nas reações de copolimerização.

De acordo com as Tabelas 3-6 e 3-7 e Figuras 3-6 e 3-7, verifica-se que o AA, em quantidade inferior, reage rapidamente. Em geral, após 30 minutos de reação não é observada a presença do sinal referente ao próton vinílico deste monômero, indicando que ele foi consumido rapidamente. Este fato se deve à razão de reatividade entre os monômeros, uma vez que nas reações de homopolimerização do AA, o consumo deste monômero foi gradativo (300 minutos).

3.3.2. Determinação da LCST do Poli(NVCL-co-AA)

Como mencionado anteriormente, a LCST de polímeros termosensíveis, como a PNVCL, é fortemente influenciada pela natureza dos comonômeros utilizados nas copolimerizações e compostos hidrofílicos promovem aumento da LCST, devido à formação de pontes de hidrogênio entre as macromoléculas hidrofílicas e a água. Portanto, a copolimerização de monômeros que dão origem a polímeros termosensíveis com monômeros que possuem um grupo carboxílico, como é o caso do AA, torna possível a mudança da hidrofilicidade do polímero pela alteração do valor do pH, resultando, em mudança na LCST (SCHILD e TÍRREL, 1990; SCHILD e TÍRREL, 1991).

Assim, propriedades de homopolímeros termosensíveis, como a LCST da Poli(N-vinilcaprolactama) e da Poli(N-isopropilacrilamida), podem ser modificadas pela adição de comonômeros que apresentem sensibilidade ao pH, como o ácido acrílico (OPHAPKIN et al, 2003).

A incorporação de comonômeros hidrofílicos na síntese de polímeros termosensíveis, além de lhes conferir sensibilidade ao pH, promove aumento das interações físicas entre as macrocadeias poliméricas e as moléculas de água. Assim, maior energia é requerida para a ruptura dessas interações e, conseqüentemente, para a liberação das moléculas de água. Desta forma, o fenômeno de transição é retardado, aumentando a solubilidade da PNVCL, devido ao fortalecimento das interações físicas entre as cadeias poliméricas e a água.

Com o objetivo de verificar a alteração da LCST da NVCL pela incorporação de unidades de AA nas cadeias poliméricas, os copolímeros foram purificados, utilizando-se o método descrito no item 2.2.7.2 do capítulo anterior. Em seguida os polímeros foram dissolvidos em solução tampão pH 9,0, pois a baixos valores de pH

os copolímeros são insolúveis em água, devido à formação de pontes de hidrogênio entre as unidades de AA e os grupos amida da NVCL, como descrito por Shtanko et al (2003). A LCST das soluções poliméricas (5g/L) foi novamente estabelecida como sendo o valor correspondente a um decréscimo superior a 50% da transmitância óptica inicial das soluções (CHUNG et al, 1999). As transmitâncias ópticas das soluções aquosas dos copolímeros foram medidas no comprimento de onda de 540nm, no intervalo de temperatura entre 28 e 42°C. A Figura 3-8 apresenta a variação da transmitância (%) a 540nm versus a temperatura (°C), das reações RCC2, RCC3, RCC7 e RCC8.

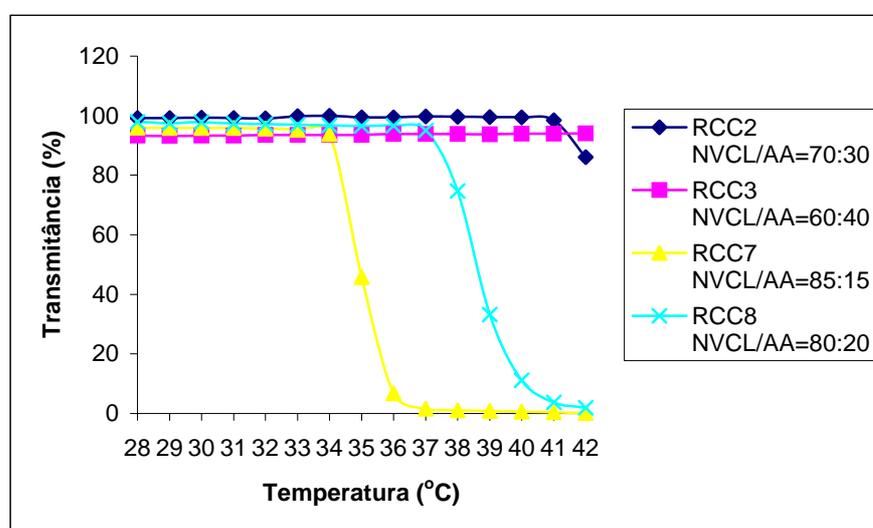


Figura 3-8 Temperatura Crítica Inferior de Solubilização (LCST) do Poli(NVCL-co-AA) determinada por transmitância a 540nm, [Poli(NVCL-co-AA)] = 5g/L.

A Tabela 3-8 apresenta os valores de LCST obtidos por UV/visível para os produtos das reações com diferentes composições monoméricas.

Tabela 3-8 LCST obtidas para os produtos das reações com diferentes composições monoméricas.

Reação	NVCL/AA (m/m)	LCST (°C)
RCC2	70:30	>42
RCC3	60:40	>42
RCC7	85:15	36
RCC8	80:20	39

Através da Figura 3-8 e da Tabela 3-8, pode-se perceber que o aumento da quantidade de ácido acrílico acarreta diferença significativa nas leituras de transmitância, obtidas nas análises de UV/visível. Utilizando composição

monomérica de NVCL/AA de 85/15 (RCC7) a temperatura de transição quase não modificou em comparação à obtida para a PNVCCL pura. Alterando esta composição para 80/20 (RCC8), a temperatura de transição aumentou para cerca de 39°C. Ao alterar, novamente, esta composição para 70/30 (RCC2) e 60/40 (RCC3), respectivamente, até a temperatura de 42°C, o copolímero não sofreu transição de fases.

Dessa forma, através da Figura 3-8 e da Tabela 3-8 é possível confirmar que a presença de um comonômero ácido promove aumento da LCST, quando comparada à da PNVCCL pura e quanto maior a quantidade deste comonômero no copolímero, mais pronunciado é este aumento. Assim, é possível atingir a temperatura de transição desejada controlando-se a quantidade de ácido acrílico no meio reacional.

Outra importante observação com relação à proporção de AA consiste em que quanto maior a quantidade de unidades de AA no copolímero, maior é a continuidade da curva da temperatura de transição X tempo. Este resultado era esperado, pois há um aumento nas interações entre as unidades do ácido e as moléculas de água, requerendo maior energia para retirada destas. Dessa forma, ocorre não somente aumento da LCST, como também mais gradativa se torna a transição de fases.

3.3.3. Microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) por “spray-dryer”

Para a realização da microencapsulação do Cetoprofeno no Poli(NVCL-co-AA), utilizou-se o copolímero obtido na reação RCC8. A escolha deste produto se deve à sua LCST, de 39°C. Este valor está acima da temperatura fisiológica e promove maior estabilidade do sistema para aplicação “*in vivo*”.

As micropartículas de Cetoprofeno encapsulado em Poli(NVCL-co-AA) foram submetidas a análises de espalhamento de luz para determinação do diâmetro médio de partículas e polidispersidade do diâmetro de partículas, análises em microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Tabela 3-9 apresenta as massas obtidas dos produtos, recuperados após secagem no “spray-dryer”, das amostras com diferentes composições polímero/droga, assim como os resultados das análises de espalhamento de luz.

Tabela 3-9 Massas, diâmetro de partícula e polidispersidade de diâmetro de partículas, das amostras com diferentes composições polímero/droga.

Amostra	Massa (g)	Diâmetro médio de partículas (μm)	Polidispersidade
1:1	1	127	1,000
2:1	0,3	69	1,000

As Figuras 3-8 e 3-9 apresentam, respectivamente, as imagens obtidas dos produtos, após secagem por "spray-dryer", oriundos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1.



Figura 3-9 Imagem obtida por microscopia ótica, com ampliação de 40X do produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.

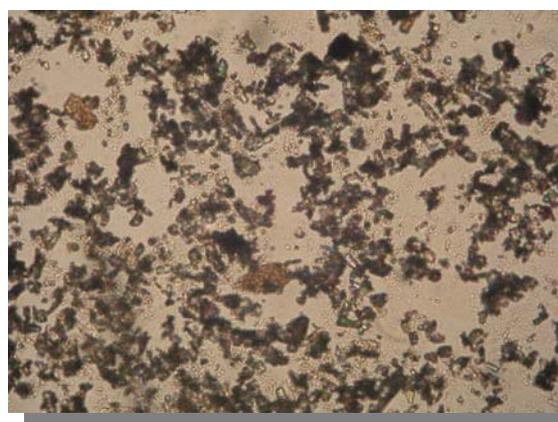


Figura 3-10 Imagem obtida por microscopia ótica, com ampliação de 40X, produto seco da amostra com composição polímero/droga 2:1.

As Figuras 3-11, 3-12 e 3-13 apresentam, respectivamente, as micrografias obtidas, com ampliação de 50X, 10000X e 20000X, por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do produto da amostra com composição polímero/ droga 1:1, seco por "spray-dryer",

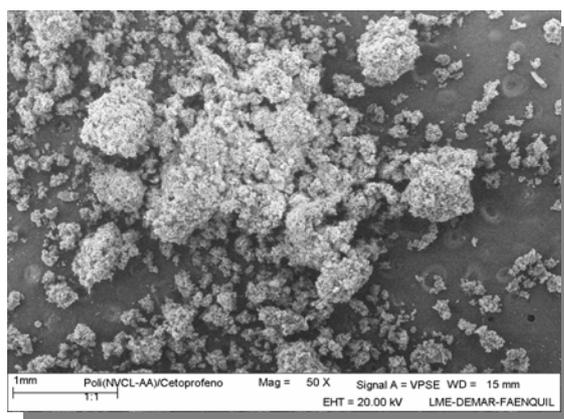


Figura 3-11 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 50X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.

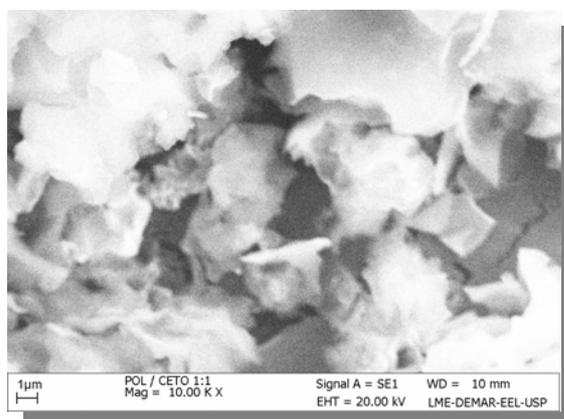


Figura 3-12 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 10000X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.

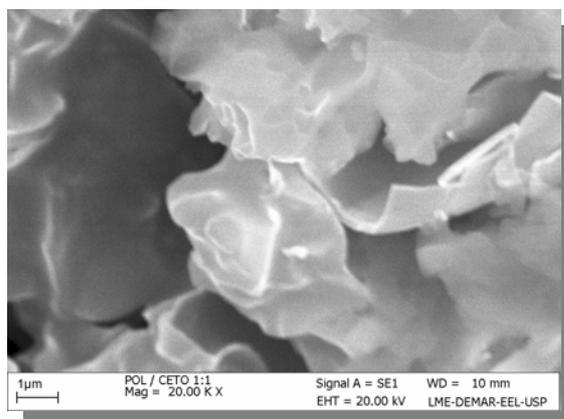


Figura 3-13 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 20000X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 1:1.

As Figuras 3-14, 3-15 e 3-16 apresentam, respectivamente, as micrografias obtidas, com ampliação de 200X e 20000X, por MEV do produto da amostra com composição polímero/ droga 2:1, seco por "spray-dryer".

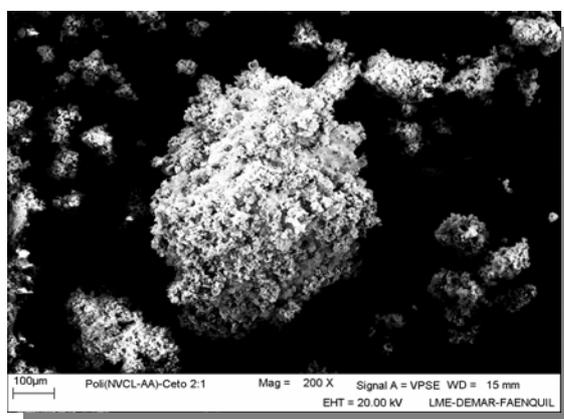


Figura 3-14 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 200X, para o produto seco da amostra com composição polímero/droga 2:1.

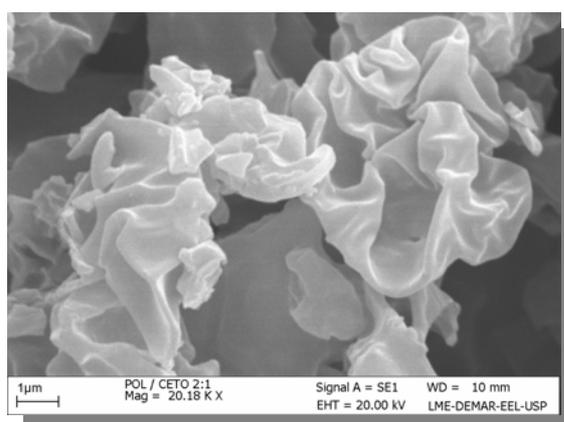


Figura 3-15 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 20000X.

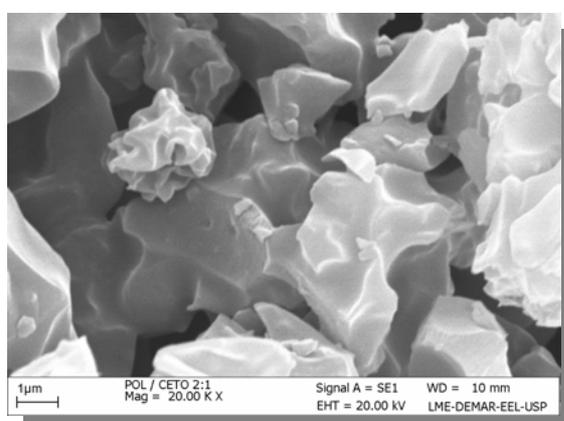


Figura 3-16 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 20000.

Através das imagens das Figuras 3-11 a 3-16, obtidas por MEV, das micropartículas secas por "spray-dryer", a partir das amostras de Poli(NVCL-co-AA)/Cetoprofeno com composição polímero/droga tanto 1:1 quanto 2:1, é possível observar que estas micropartículas não possuem formato esférico, apresentando-se com estrutura de aglomerados. Este fato se deve à ocorrência, através da evaporação da solução aquosa de polímero contendo a droga dispersa, de um revestimento da droga pela estrutura polimérica. Este revestimento é confirmado pela aparência lisa das micropartículas revestidas observadas nas Figuras 3-12 a 3-16, o que não é observado na Figura 3-17, onde é apresentada a micrografia dos cristais de Cetoprofeno puro.

Para comparação, a Figura 3-17 apresenta a micrografia, obtida por MEV, de uma amostra de Cetoprofeno puro.

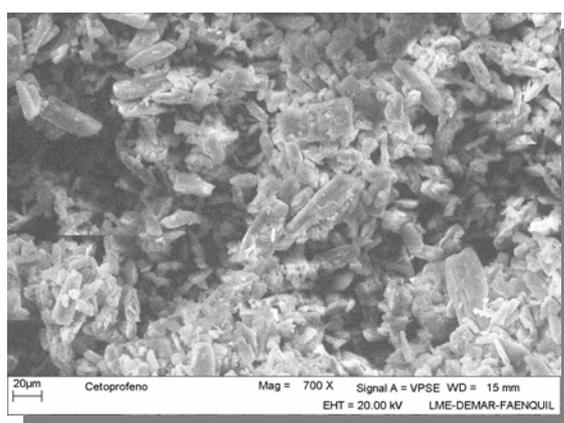


Figura 3-17 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 700X, para a amostra de Cetoprofeno puro.

3.3.4. Microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA) utilizando o método de difusão do solvente em pseudo-emulsão

A análise realizada por espalhamento de luz do produto obtido da microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA), com composição polímero/droga 1:20, utilizando o método de difusão em pseudo-emulsão forneceu valor de diâmetro médio de partículas de 11µm.

A Figura 3-18 apresenta as imagens obtidas por microscopia ótica, com ampliação de 40X (a) e (b) e com ampliação de 100X (c) e (d), do meio no tempo

zero, ou seja, logo que adicionou-se a solução contendo o sistema polímero/droga em DMF, à solução aquosa.



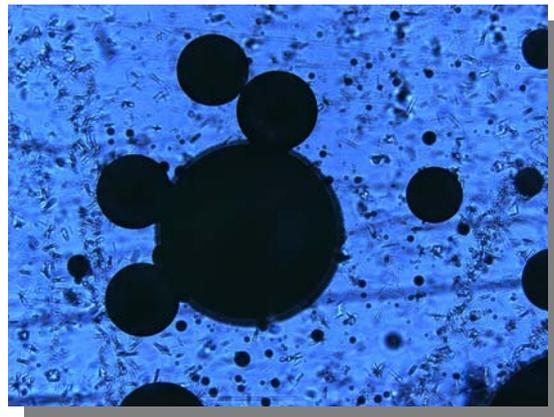
a



b



c



d

Figura 3-18 *Imagens obtidas por microscopia ótica do meio, com ampliação de 40X (a) e (b) e de 100X (c) e (d), no instante da adição da solução contendo o sistema polímero/droga em DMF, à solução aquosa.*

A Figura 3-19 apresenta as imagens obtidas por microscopia ótica, com ampliação de 40X (a), (b), (c) e (d), do meio após 17 horas, sob agitação mecânica.

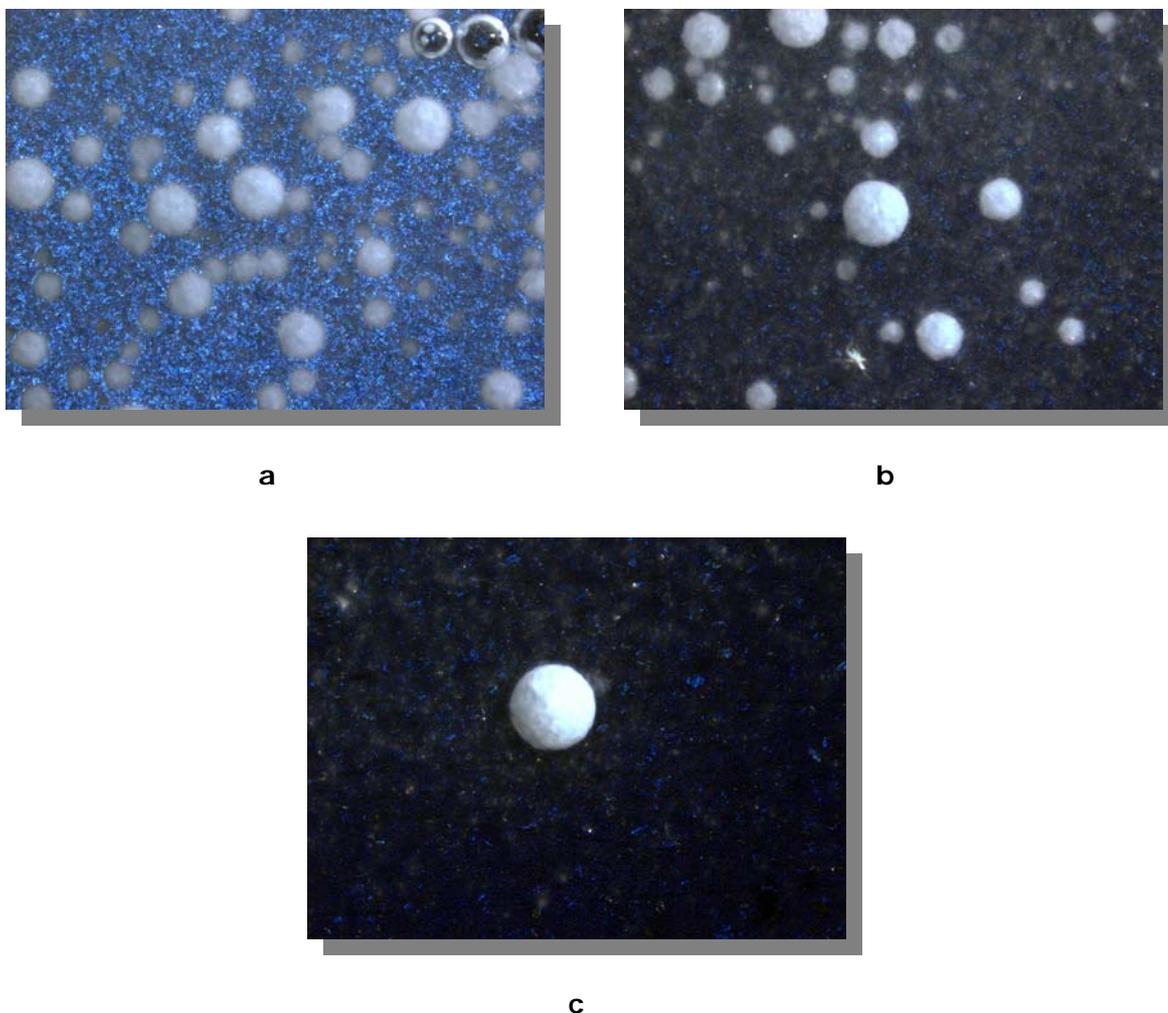
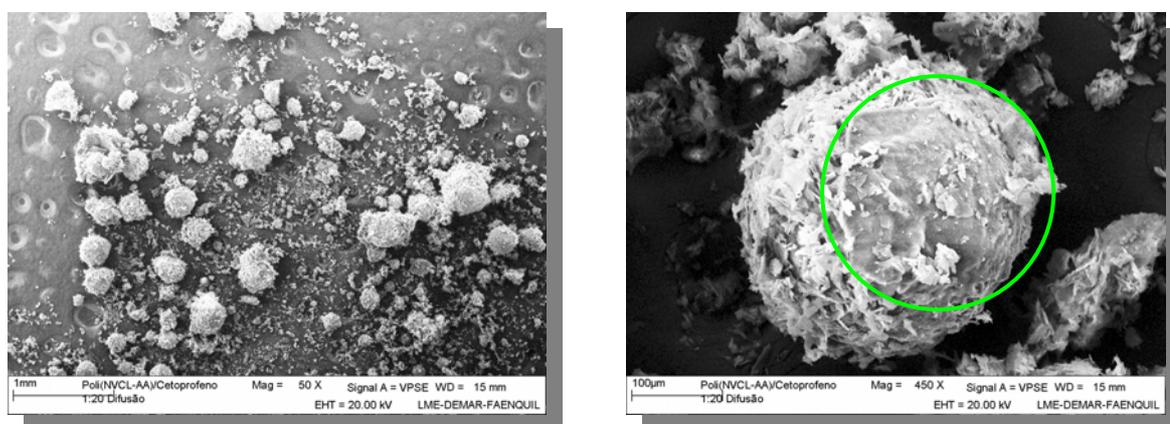


Figura 3-19 *Imagens obtidas por microscopia ótica, com ampliação de 40X (a), (b) e (c), do meio após 17 horas, sob agitação mecânica.*

A Figura 3-20 apresenta as micrografias obtidas por MEV, com ampliação de 50X(a) e 450X(b), para o produto seco, obtido pela microencapsulação de Cetoprofeno em Poli(NVCL-co-AA), com composição polímero/droga 1:20, utilizando o método de difusão do solvente em pseudo-emulsão.

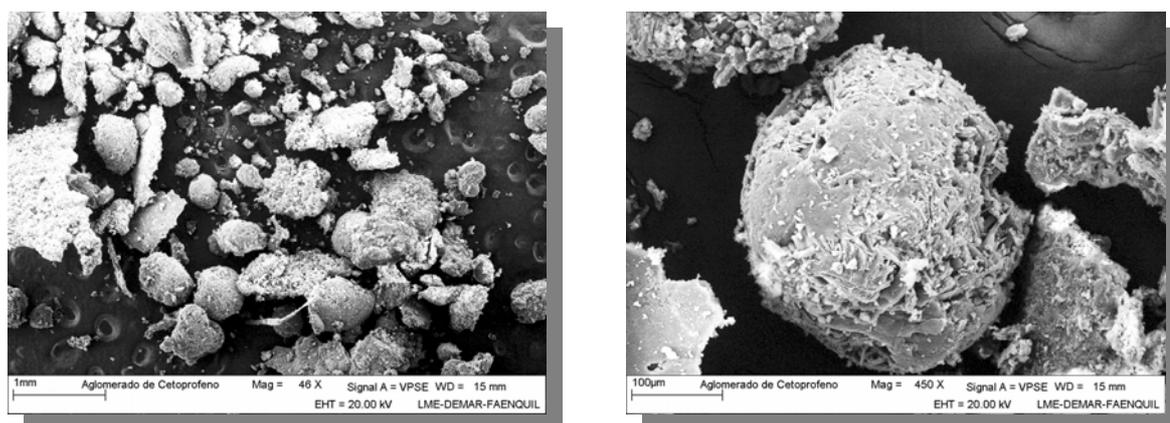


a

b

Figura 3-20 Micrografia obtida por MEV do produto da microencapsulação de Cetoprofeno utilizando o método de difusão do solvente em pseudo-emulsão, com ampliação de 50X(a) e 450X(b).

A Figura 3-21 apresenta as micrografias, obtidas por MEV, com ampliação de 46X(a) e 450X(b), do aglomerado de Cetoprofeno. Este aglomerado foi obtido sob as mesmas condições empregadas para a encapsulação da droga no Poli(NVCL-co-AA), no entanto, sem a adição de polímero.



a

b

Figura 3-21 Micrografia obtida por MEV, com ampliação de 46X(a) e 450X(b), do aglomerado de Cetoprofeno.

Na Figura 3-17, pode-se perceber o formato irregular dos cristais de Cetoprofeno puro. Estes, tanto podem apresentar-se sob a forma de um

aglomerado esférico (Figura 3-21) através do processo de difusão do solvente em pseudo-emulsão quanto serem microencapsulados pelo Poli(NVCL-co-AA) (Figura 3-20) utilizando-se o mesmo método.

Na Figura 3-20, pode-se observar uma superfície mais lisa, quando comparada à Figura 3-21, a qual se deve ao revestimento do Poli(NVCL-co-AA) ao aglomerado esférico de Cetoprofeno. No entanto, cristais de droga podem ser observados na superfície polimérica. Esta aderência é atribuída à presença de alta concentração da droga no meio e à rápida difusão de dimetilformamida durante a formação inicial do filme polimérico sobre a droga dissolvida, a qual cristaliza instantaneamente quando em contato com o meio aquoso.

3.3.5. Liberação “*in vitro*” de Cetoprofeno das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA)

As Figuras 3-22 e 3-23, apresentam, respectivamente, as curvas de liberação de Cetoprofeno das micropartículas em pH 1,2 e 7,4, para os produtos secos por “spray-dryer” das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, nas temperaturas de 37°C e 38°C. Estas curvas de porcentagem de Cetoprofeno no meio de dissolução foram obtidas através do cálculo das concentrações em diferentes tempos de ensaio. Estes cálculos foram feitos a partir das leituras de Absorbâncias por UV/visível no comprimento de onda de 260nm. Este estudo, variando-se os valores de pH do meio de dissolução, foi realizado para simular o fluido gastrointestinal, uma vez que o pH do estômago é de $\sim 1,2$, enquanto o pH do intestino é de $\sim 7,4$.

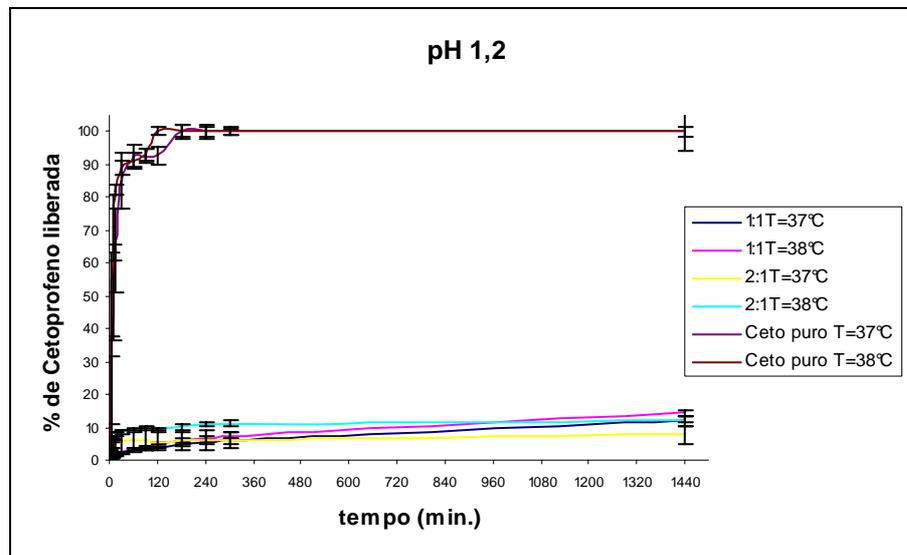


Figura 3-22 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, nas temperaturas de 37 e 38°C, em pH 1,2.

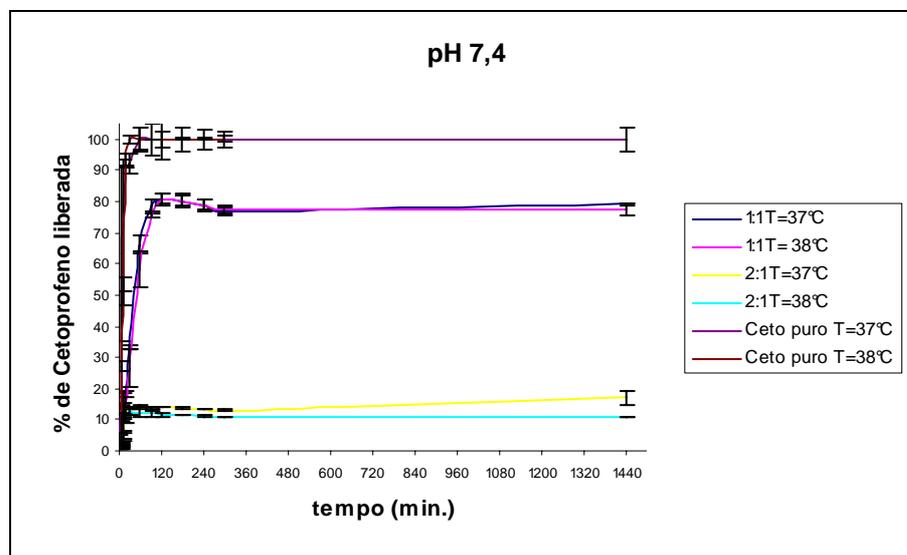


Figura 3-23 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, nas temperaturas de 37 e 38°C, em pH 7,4.

Nestas figuras também estão apresentadas as curvas de porcentagem de Cetoprofeno puro não encapsulado. Estas curvas foram construídas com o objetivo de comparar a concentração da droga pura não encapsulada e da droga

encapsulada sendo liberada das micropartículas no meio de dissolução, em diferentes tempos de ensaio. Comparando-se as figuras 3-22 e 3-23 pode-se perceber a influência do pH na liberação de Cetoprofeno do Poli(NVCL-co-AA). Em pH 1,2, o grau de inchamento das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA) é baixo, devido às forças de atração entre as unidades de AA e NVCL e das unidades de AA entre si. Dessa forma, a droga permanece retida no interior das micropartículas. Pode-se observar, através da Figura 3-21, que em pH 1,2, mesmo após 24 horas de ensaio menos de 15% da droga foi liberada tanto das micropartículas com composição polímero/droga 2:1 quanto das micropartículas com composição polímero/droga 1:1. No entanto, ao observar a Figura 3-23, percebe-se que em pH 7,4, a liberação de Cetoprofeno das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA) com composição polímero droga 1:1 foi muito mais rápida (com ~ 120 minutos de ensaio cerca de 80% da droga já havia sido liberada para ambas as temperaturas, 37 e 38°C), enquanto que a liberação de Cetoprofeno das micropartículas com composição polímero/droga 2:1 foi mais lenta (mesmo depois de decorridas 24 horas de ensaio menos de 20% da droga foi liberada em ambas as temperaturas, 37 e 38°C). Estes resultados mostram a influência tanto do pH quanto da composição polímero/droga na velocidade de liberação de Cetoprofeno.

Verificou-se que no baixo pH do estômago, com a utilização deste sistema, a maior parte da droga permanece retida, no entanto simulando-se o fluido intestinal, observou-se, neste, maior rapidez na liberação do Cetoprofeno. Este fato é atribuído ao alto grau de inchamento das micropartículas em pH 7,4. Neste valor de pH as moléculas ionizadas de AA fazem com que ocorra repulsão entre as cadeias, o que origina o inchamento das partículas.

Nota-se, também, que a velocidade de liberação do agente ativo pode ser controlada através de modificações na composição polímero/droga. Dessa forma, verifica-se que tanto o pH quanto a composição polímero/droga são fatores cruciais na liberação de Cetoprofeno das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA).

Com o objetivo de estudar também o comportamento termosensível da estrutura polimérica através da liberação de Cetoprofeno e para melhor visualização e compreensão deste fator, fixou-se, desta vez a temperatura. Inicialmente, estudou-se a variação do pH e da composição polímero/droga na temperatura de 37°C. Em seguida, a temperatura foi fixada em 38°C e novamente variou-se o pH e a composição polímero/droga. As Figuras 3-24 e 3-25

apresentam, respectivamente, as curvas de liberação da droga em 37°C e em 38°C.

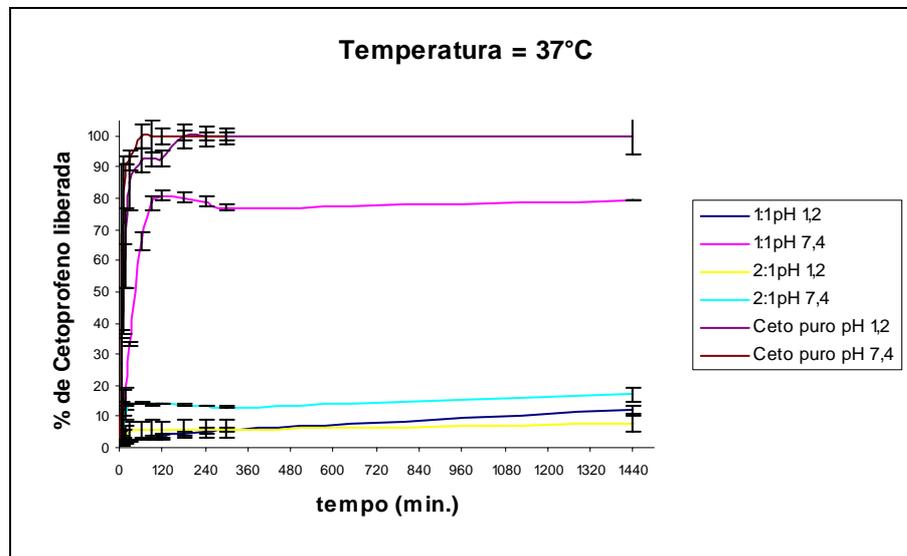


Figura 3-24 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro, não encapsulado, para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, em pH 1,2 e pH 7,4, na temperatura de 37°C.

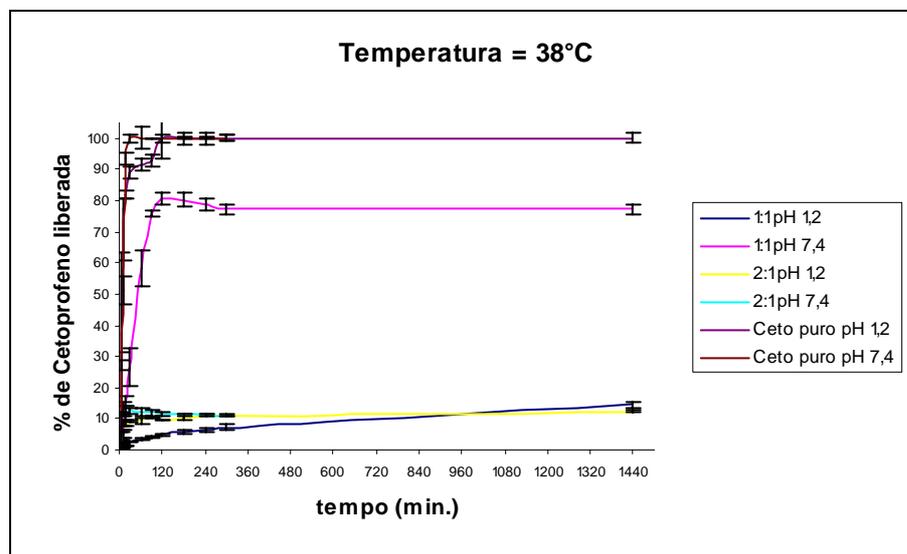


Figura 3-25 Curva de liberação de Cetoprofeno das micropartículas e de Cetoprofeno puro, não encapsulado, para os produtos secos das amostras com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, em pH 1,2 e pH 7,4, na temperatura de 38°C.

Apesar da pequena diferença entre as temperaturas estudadas, foi possível verificar a influência deste fator na velocidade de liberação. Por exemplo, na temperatura de 37°C (Figura 3-24), após 24 horas (1440 minutos) de ensaio, cerca de 7% de Cetoprofeno foi liberado das micropartículas com composição polímero/droga de 2:1 em pH 1,2 e cerca de 15% em pH 7,4. No entanto, a 38°C (Figura 3-25), cerca de 14% de Cetoprofeno foi liberado das micropartículas com composição polímero/droga 2:1 em pH 1,2 e manteve-se liberação de cerca de 15% em pH 7,4, podendo este fato ser atribuído à maior velocidade de liberação geral em pH 7,4, onde o pH exerce maior influência do que a temperatura. A liberação de Cetoprofeno das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA), com composição polímero/droga 1:1, após 24 horas de ensaio, a 37°C, foi de cerca de 10% em pH 1,2, e de cerca de 78% em pH 7,4. A 38°C, em pH 1,2, a porcentagem de liberação da droga foi de ~ 16%, enquanto que para pH 7,4, a liberação novamente manteve-se em ~ 78%. Mais uma vez, ressalta-se a maior influência do pH no meio de liberação.

A Figura 3-26 apresenta as micrografias obtidas por MEV da amostra com composição polímero/droga 1:1 após 24h de ensaio de liberação em pH 1,2 e nas temperaturas de 37°C(a) e 38°C(b).

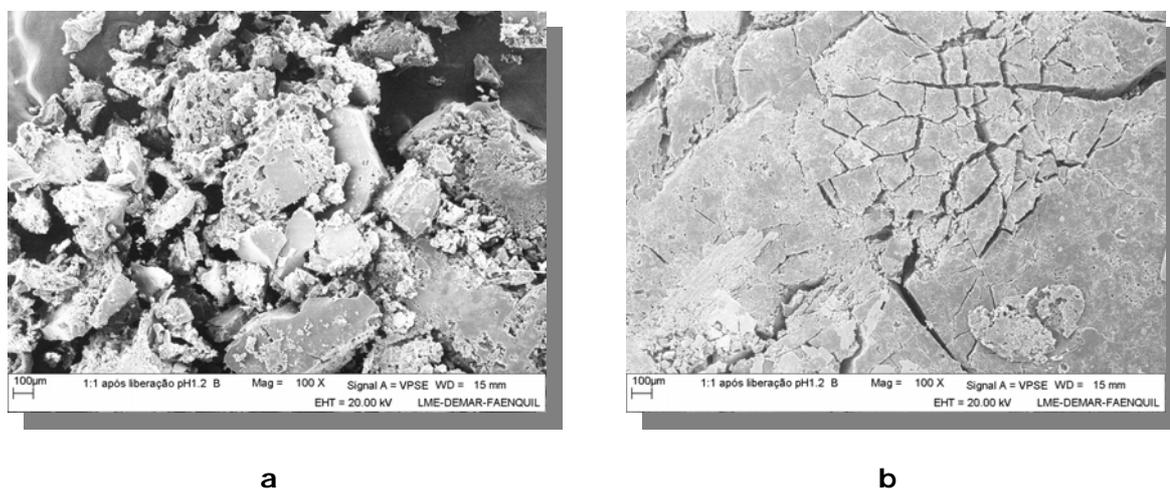


Figura 3-26 Micrografia obtida por MEV da amostra com composição polímero/droga 1:1 após decorridas 24h de ensaio de liberação em pH 1,2 e nas temperaturas de 37°C(a) e 38°C(b).

A Figura 3-27 apresenta a micrografia obtida por MEV da amostra com composição polímero/droga 2:1 após 24h de ensaio de liberação em pH 1,2 e nas temperaturas de 37°C(a) e 38°C(b).

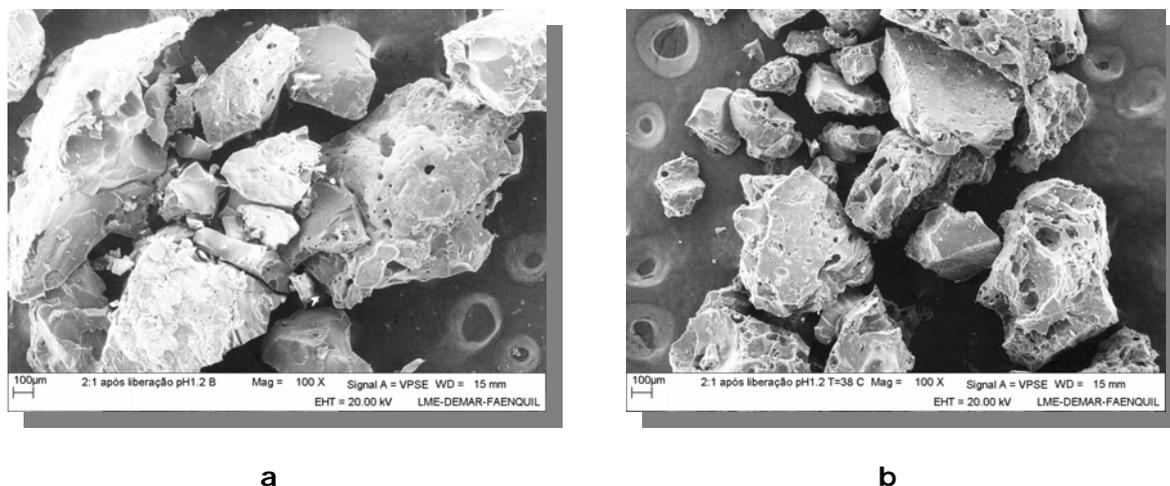


Figura 3-27 Micrografia obtida por MEV da amostra com composição polímero/droga 2:1 após decorridas 24h de ensaio de liberação em pH 1,2 e nas temperaturas de 37°C(a) e 38°C(b).

As Figuras 3-26 e 3-27 mostram, através das micrografias, obtidas por MEV, o formato bastante irregular dos sistemas polímero/droga, com superfície predominantemente lisa. Dessa forma, verifica-se que não há presença dos cristais de Cetoprofeno na superfície das micropartículas. No entanto, como a porcentagem da droga liberada, em todos os ensaios de liberação realizados em pH 1,2, foi baixa, isto significa que houve retenção da droga no interior destas micropartículas. Isto se deve, provavelmente, ao fato de que, em pH baixo, ocorre forte interação entre as unidades de NVCL e AA, ocasionando aproximação entre as macrocadeias, retendo, assim, os cristais de Cetoprofeno contidos entre as cadeias poliméricas, o que confirma a formação de um revestimento da droga pelo Poli(NVCL-co-AA). Este comportamento foi observado para todos os ensaios realizados em pH 1,2, em ambas as temperaturas (37 e 38°C), para as partículas com composições polímero/droga 1:1 e 2:1.

3.3.6. Medidas de difração de Raios X

Amostras de Cetoprofeno puro (não encapsulado) e das partículas compostas de Poli(NVCL-co-AA)/droga, obtidas através de secagem por "spray-dryer" com composição polímero/droga de 1:1 e 2:1, respectivamente, foram submetidas a Difratometria de Raios X (DRX). As Figuras 3-28 e 3-29 apresentam,

respectivamente, os difratogramas da amostra de Cetoprofeno puro e das amostras das micropartículas com composição polímero/droga 1:1(a) e 2:1(b).

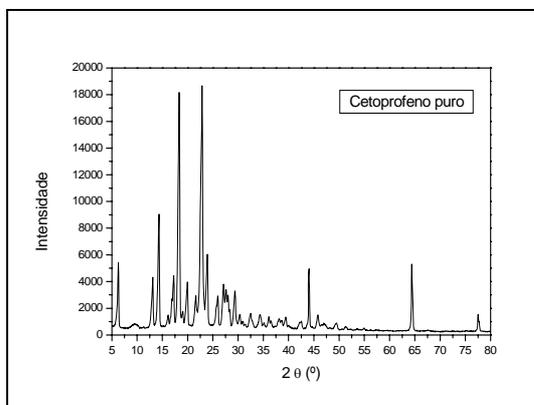


Figura 3-28 Difratograma de Raios X da amostra de Cetoprofeno puro.

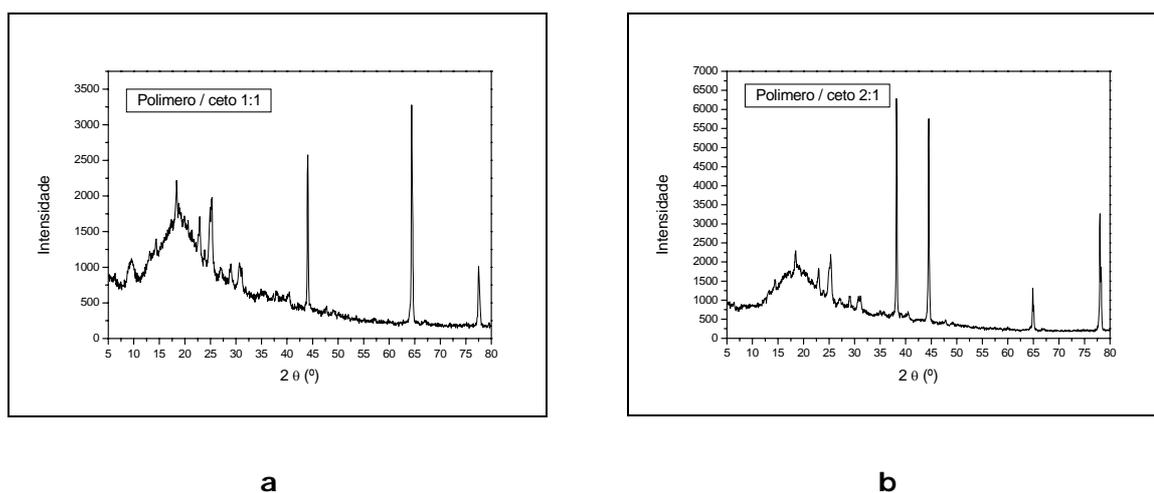


Figura 3-29 Difratograma de Raios X da amostra das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA/Cetoprofeno) com composição polímero/droga 1:1(a) e 2:1(b).

Cetoprofeno possui forma cristalina, ao contrário do Poli(NVCL-co-AA). Dessa forma, torna-se simples avaliar o efeito da encapsulação através de medidas de propriedades cristalinas por DRX. No espectro DRX dos cristais de Cetoprofeno observam-se picos intensos e estreitos entre 5 e 78°, identificando as características cristalinas da droga. Nos espectros das micropartículas de Poli(NVCL-co-AA)/droga com composição polímero/droga 1:1 e 2:1, houve aparecimento de uma banda larga entre 5 e 45°, no lugar dos picos. A diminuição dos picos estreitos e intensos dos cristais de Cetoprofeno, dando lugar à banda

larga indica a perda da cristalinidade confirmando que a droga foi encapsulada na estrutura polimérica.

Capítulo 4

4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos, observa-se altas conversões, em poucas horas de reação, tanto nas reações de homopolimerização da NVCL e do AA, quanto nas copolimerizações destes monômeros e que, parâmetros como teor de sólidos, concentração de iniciador e tipo de solvente utilizado, são de fundamental importância na obtenção de bons resultados nas reações via radical livre. Também, a pureza dos reagentes mostrou ser um fator importante na obtenção de altas conversões

A Ressonância magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H) consiste em uma eficiente técnica para realizar estudos da cinética das polimerizações.

Através das análises por UV/visível foi possível verificar a influência da quantidade de ácido acrílico na LCST da N-vinilcaprolactama. Quanto mais unidades de AA no copolímero de NVCL e AA, maiores temperaturas de transição são obtidas. Dessa forma, através da quantidade de AA na composição monomérica é possível conferir maior ou menor sensibilidade ao pH, como também controlar a temperatura de transição do copolímero, de forma a conseguir a LCST ideal para aplicação "*in vivo*" que dará maior estabilidade ao sistema polímero-droga na corrente sanguínea fazendo com que o agente ativo seja liberado somente na região com temperatura superior à temperatura de transição do copolímero.

Dessa forma, a utilização do copolímero Poli(NVCL-co-AA) representa uma solução para encapsular drogas hidrofóbicas, como é o caso do Cetoprofeno, facilitando sua administração, aumentando seu tempo de ação no organismo e promovendo liberação controlada somente nas células onde há necessidade de tratamento através da diferença de temperatura e de pH. Estes fatores, além da composição polímero/droga, são de fundamental importância para a eficiência do sistema.

Devido à presença de Ácido Acrílico no copolímero, a diferença de pH mostrou-se bastante significativa para a liberação do agente ativo.

Finalmente, foi possível, utilizando-se o Poli(NVCL-co-AA), através dos métodos de difusão em sistema de pseudo-emulsão e "spray-drying", encapsular um princípio ativo anti-inflamatório, hidrofóbico, genericamente conhecido como Cetoprofeno, e verificar a influência da variação de parâmetros como temperatura, pH e composição polímero/droga na velocidade de liberação da droga. A variação destes parâmetros pode fornecer informações que permitam encontrar as melhores condições para determinada aplicação.

Este trabalho é de fundamental importância para futuros estudos de encapsulação e liberação, utilizando este sistema.

Sugestões para futuros trabalhos

Vários estudos podem ser realizados, com o objetivo de complementar este trabalho de Dissertação de Mestrado. Dentre eles, primeiramente, uma interessante alternativa consiste em variar o método de obtenção de Poli(NVCL-co-AA).

Outra possibilidade seria o estudo de outros métodos para a formação de micro e nanopartículas de Poli(NVCL-co-AA), assim como a utilização deste copolímero como agente de encapsulação para outros tipos de drogas, estudando-se as concentrações de polímero e droga.

Finalmente, nos ensaios de liberação da droga, é possível realizar estudos em várias temperaturas, podendo, assim, definir qual é a ideal para cada aplicação. Este estudo também pode ser feito com relação ao pH.

Referências

- ARSHADY, R. "Microspheres, Microcapsules & Liposomes". Medical & Biotechnology Applications, 2, p.259-261, 1999.
- BANERJEE A., SENGUPTA B., CHAUDHURI S., BASU K. e SENGUPTA P. "Encapsulation of Prodan in Beta-ciclodextrin Environments: A Critical Study via Eletronic Spectroscopy and Molecular Mechanics". Journal of Molecular Structure, p.1-9, 2006.
- BASAN H., GÜMÜSDERELIOGLU, M. and ORBEY, T. "Diclofenac sodium Releasing pH-Sensitive Monolithic Devices". International Journal of Pharmaceutics, 245, p.191-198, 2002.
- BECK R. C. R., POHLMANN A. R., BENVENUTTI E. V., COSTA T. D., GUTERRES S. S. "Nanostruture-Coated Diclofenac-Loaded Microparticles: Preparation, Morphological Characterization, In vitro Release and In vivo Gastrointestinal Tolerance". J. Braz. Chem. Soc, 16, p.1233-1240, 2005.
- BEKTUROV, E. A. and BIMENDINA, L. A. "Interpolymer Complexes Advances in Polymer Science". Adv. Polym. Sci., 41, p.99, 1981.
- CHEE, C. K., RIMMER S., SOUTAR I., SWANSON L. "Fluorescence Investigation of the Conformational Behaviour of Poly(N-vinylcaprolctam)". Reactive and Functional Polymers, 66, p.1-11, 2006.
- CHILKOTI A., DREHER M. R., MEYER D. E., RAUCHER D. "Targeted Drug Delivery by Thermally Responsive Polymers". Adv. Drug Delivery, 54, p.613-630, 2002.
- CHUNG, J.E., YOKOYAMA, M., YAMATO, M., AOYAGI, T., SAKURAI, T. and OKANO, T. "Thermo-responsive Drug Delivery from Polymeric Micelles Constructed Using Block Copolymers of Poly(N-isopropylacrylamide) and Poly(butylmethacrylate)". Journal of Controlled Release, 62, p.115-127, 1999.
- D'AGOSTO, F., CHARREYRE, M. T., DELOLME, F., DESSACES, G., CRAMAIL, H., DEFFIEUX, A. and PICHOT, C. "Kinetic Study of Living Cationic Polymerization of a

Galactose Carrying Vinyl Ether. MALDI-TOF MS Analysis of the Resulting Glycopolymers. *Macromolecules*, 35, p.7911-7918, 2002.

D'AGOSTO F., HUGHES R., CHARREYRE M. T., PICHOT C, GILBERT R. G. " *Molecular Weight and Functional End Group Control by RAFT Polymerization of a Bisubstitued Acrylamide Derivate*". *Macromolecules*, 36, p.621-629 (2003).

DAVIDENKO, T. I., BONDARENKO, G. I. and PASHKIN, I. I. " *Poly(N-vinylcaprolactam) Stabilized With 2-Bromo-2-Nitropropane-1,3-Diol*". *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 36, p.454-457, 2002.

DIMITRIU, S. " *Polymeric Biomaterials*", Cap. 14. Institute of Jassy. Jassy, Romania, 1993.

FORREST M. L., WON C. Y., MALICK A. W. and KWON G. S. " *In vitro Release of the mTOR Inhibitor Rapamycin from Poly(Ethylene Glycol)-b-Poly(ϵ -Caporlactone) Micelles*". *Journal of Controlled Release*, 110, p. 370-377, 2006.

FOSS, A. C., GOTO, T., MORISHITA, M. and PEPPAS, N. A. " *Development of Acrylic-Baseb Copolymers for Oral Insulin Delivery*". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57, p.163-169, 2004.

INOUE T., CHEN G., NAKAMAE K. and HOFFMAN A. S. " *Temperature Sensitivity of a Hydrogel Network Containing Different LCST Oligomers Grafted to the Hydrogel Backbone*". *Polymer Gels nad Networks*, 5, p.561-575 (1997).

JACKSON, J. K., ZHANG, X., LLEWELLEN, S., HUNTER, W. L. and BURT, H. M. " *The Characterization of Novel Polymeric Paste Formulations for Intratumoral Delivery*". *International Journal of Pharmaceutics*, 270, p.185-198, 2004.

JEONG, B. and GUTOWSKA, A. " *Lessons from Nature: Stimuli-responsive Polymers and their Biomedical Applications*". *Biotechnology*, 20, p.305-311, 2002.

KIRSH, Y. E., YANUL, N. A. and POPKOV, Y. M. " *Temperature Behavior of Thermo-Responsive Poly-N-vinylcaprolactam and Poly-N-isopropylmethacrylamide in Aqueous Solutions Involving Organic Solutes*". *European Polymer Journal*, 38, p.403-406, 2002.

-
- KUCKLING, D., ADLER, H-J. P., ARND, T K-F., LING, L. and HABICHER, W. D. "Temperature and pH Dependent Solubility of Novel Poly(N-isopropylacrylamide) Copolymers". *Macromol. Chem. Phys.*, 201, p.273-280, 2000.
- KURKURI, M. D. and AMINABHAVI, T. M. "Poly(vinyl alcohol) and Poly(acrylic acid) Sequential Interpenetrating Network pH-Sensitive Microspheres for the Delivery of Diclofenac Sodium to the Intestine". *Journal of Controlled Release*, 96, p.9-20, 2004.
- LAI M. K., CHANG C. Y., LIEN Y. W. and TSIANG R. C. C. "Application of Gold Nanoparticles to Microencapsulation of Thioridazine". *Journal of Controlled Release*, 111, 352-361, 2006.
- LAU, A. C. W. and WU, C. "Thermally Sensitive and Biocompatible Poly(N-vinylcaprolactam): Synthesis and Characterization of High Mass Linear Chains". *Macromolecules*, 32, p.581-584, 1999.
- LAUKKANEN A., VALTOLA L., WINNIK F. M., TENHU H. "Formation of Colloidally Stable Phase Separated Poly(N-vinylcaprolactam) in Water. A Study by Dynamic Light Scattering, Microcalorimetry and Pressure Perturbation Calorimetry". *Macromolecules*, 37, p.2268-2274, 2004.
- LAUKKANEN A., VALTOLA L., WINNIK F. M., TENHU H. "Thermosensitive Graft Copolymers of an Amphiphilic Macromonomer and N-vinylcaprolactam: Synthesis and Solution Properties in Dilute Aqueous Solutions Below and Above the LCST". *Macromolecules*, 46, p.7055-7065, 2005.
- LEBEDEV, V. T., TÖRÖK, G., CSER, L., KALI, Y. E., SIBILEV, A. I. and ORLOVA, D. N. "NSE- Study of Poly(N-vinylcaprolactam) by Coil-Globule Transition". *Physica B*, 297, p.50-54, 2001.
- LEQUIEU W., SHTANKO N. I., DU PREZ F. E. "Track Etched Membranes with Thermo-adjustable Porosity and Separation Properties by Surface Immobilization of Poly(N-vinylcaprolactam)". *Journal of Membrane Science*, 256, 64-71, 2005.
- LOOS, W., VERBRUGGHE, S., GOETHALS, E. J., DU PREZ, F. E., BAKEEVA, I. V. and ZUBOV, V. P. "Thermo-Responsive Organic/Inorganic Hybrid Hydrogels based on Poly(N-vinylcaprolactam)". *Macromol. Chem. Phys.*, 204, p.98-103, 2003.

-
- LOZINSKY, V. I., SIMENEL, I. A., KURSKAYA, E. A., KULAKOVA, V. K., GALAEV, I. Y., MATTIASSON, B., GRINBERG, V. Y., GRINBERG, N. V. and KHOKHLOV, A. R. "Synthesis of *N*-vinylcaprolactam Polymers in Water-Containing Media". *Polymer*, 41, p.6507-6518, 2000.
- MAKHAEVA, E. E., TENHU, H. and KHOKHLOV, A. R. "Behaviour of Poly(*N*-vinylcaprolactam-co-methacrylic acid) Macromolecules in Aqueous Solution: Interplay between Coulombic and Hydrophobic Interaction". *Macromolecules*, 35, p.1870-1876, 2003.
- MEYER D. E., SHIN C. C., KONG G. A., DEWHIRST M. W., CHILKOTI A. "Drug Targeting Using Thermally Responsive Polymers and Local Hyperthermia". *J. Control. Release*, 74, p.213-224, 2001.
- MOSES, M. A., BREM, H. and LANGER, R. "Advancing the Field of Drug Delivery: Taking Aim at Cancer". *Cancer Cell*, 4, p.337-341, 2003.
- MÜLLER-SCHULTE D. and SCHIMITZ-RODE T. "Thermosensitive Magnetic Polymer Particles as Contactless Controllable Drug Carriers". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 302, p.267-271, 2006.
- OKHAPKIN, I. M., NASIMOVA, I. R., MAKHAEVA, E. E. and KHOKHLOV, A. R. "Effect of Complexation of Monomer Units on pH and Temperature-Sensitive Properties of Poly(*N*-vinylcaprolactam-co-methacrylic acid)". *Macromolecules*, 36, p.8130-8138, 2003.
- PEN, S. and WU, C. "Surfactant Effect on pH and Temperature Sensitivities of Poly(*N*-vinylcaprolactam-co-sodium acrylate) Microgels". *Macromolecules*, 34, p.568-571, 2001.
- PICH, A., BOYKO, V., LU, Y., RICHTER, S., ADLER, H.-J. and ARNDT, K.-F. "Preparation of PEGMA-Functionalized Latex Particles. 2. System Styrene/*N*-vinylcaprolactam". *Colloid. Polym. Sci.*, 281, p.916-920, 2003.
- RAVICHANDRAN, P., SHANTHA, K. L. and RAO, K. P. "Preparation, Swelling Characteristics and Evaluation of Hydrogels for Stomach Specific Drug Delivery". *International Journal of Pharmaceutics*, 154, p.89-94, 1997.

- RÉ, M. I. and BISCANS, B. "Preparation of microspheres of ketoprofen with acrylic polymers by a quasi-emulsion solvent diffusion method". Powder Technology, 101, p. 120-133, 1999.
- SCHILD, H. G. and TIRREL, D. A. "Interaction of Poly(N-isopropylacrilamide) with Sodium N-alkyl Sulfates in Aqueous Solution". Langmuir, 7, p.7665-671, 1991.
- SCHILD, H. G. and TIRREL, D. A. "Microcalorimetric Detection of Lower Critical Solution Temperatures in Aqueous Polymer Solutions". J. Phys. Chem., 94, p.4352-4356, 1990.
- SHTANKO N. I., LEQUIEU W., GOETHALS E. J. and DU PREZ F. E. "pH-and Thermo-responsive Properties of Poly(N-vinylcaprolactam-co-Acrylic acid) Copolymers". Polym. Int., 52, p.1605-1610, 2003.
- SINGH, P., CLEARY, G. W., MUDUMBA, S., FELDSTEIN, M. M. and BAIRAMOV, D. R. "Hydrogel composition for tooth whitening", US Patent, n.20030152528, 2003.
- SHU B., YU W. Y. e LIU X. " Study on Microencapsulation of Lycopene by Spray-drying". Journal of Food Engineering, 76, p. 664-669, 2006.
- TSUCHIDA, E. and ABE, K. "Interactions Between Macromolecules in Solution and Intermacromolecular Complexes". Adv. Polym. Sci., 45, p.1-119, 1982.
- ULBRICH, K. and SUBR, V. "Polymeric Anticancer Drugs With pH-Controlled Activation". Advanced Drug Delivery Reviews, .56, p.1023-1050, 2004.
- VERBRUGGHE, S., BERNAERTS, K. and DU PREZ, F. E. "Thermo-responsive and Emulsifying Properties of Poly(N-vinylcaprolactam) Based Graft Copolymers". Macromol. Chem. Phys., 204, p.1217-1225, 2003.
- VIHOLA, H., LAUKKANEN, A., HIRVONEN, J. and TENHU, H. "Binding and Release of Drugs into and from Thermosensitive Poly(N-vinylcaprolactam) Nanoparticles". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 16, p.69-74, 2002.
- VIHOLA H., LAUKKANEN A., VALTOLA L., TENHU H., HIRVONEN J. "Cytotoxicity of Thermosensitive Polymers Poly(N-isopropylacrylamida), Poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified Poly(N-vinylcaprolactam)". Biomaterials, 26, p.3055-3064, 2005.

WALLACE, D. G., CRUISE, G. M., RHEE, W. M., SCHROEDER, J. A., COKER, G. T.III, MARONEY, M. M. and TROLLSAS, O. M. "*Rapid-gelling biocompatible polymer composition and associated methods of preparation and use*", US Patent, n.20020165337, 2002.

WANG Y., WANG Y., YANG J., PFEFFER R., DAVE R. and MICHNIAK B. "*The Application of a Supercritical Antisolvent Process for Sustained Drug Delivery*". Powder Technology, 164, p.94-102, 2006.

YANUL N. A., KIRSH, Y. E., VERBRUGGHE, S., GOETHALS, E. J. and DU PREZ, F. E. "*Thermoresponsive Properties of Poly(N-vinylcaprolactam)-Poly(ethylene oxide) Aqueous Systems: Solutions and Block Copolymer Networks*". Macromol. Chem. Phys, 202, p.1700-1709, 2001.

YOO, M. K., SUNG, Y. K., CHO, C. S. and LEE, Y. M. "*Effect of Polymer Complex Formation on the Cloud-point of Poly(N-isopropyl acrylamide) (PNIPAAm) in the Poly(NIPAAm-co- acrylic acid): Polyelectrolyte Complex between Poly(acrylic acid) and Poly(allylamine)*". Polymer, 38, p.2759-2765, 1997.

Anexo I

I. Anexo I - Estudo da cinética da homopolimerização da NVCL

As figuras 1 a 9, a seguir, apresentam os espectros de RMN ^1H dos picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano durante a reação de polimerização da NVCL, a partir das amostras retiradas no tempo zero (Figura 1) e em tempos regulares durante a reação (Figuras 2 a 9), utilizados para a realização do estudo da cinética da homopolimerização.

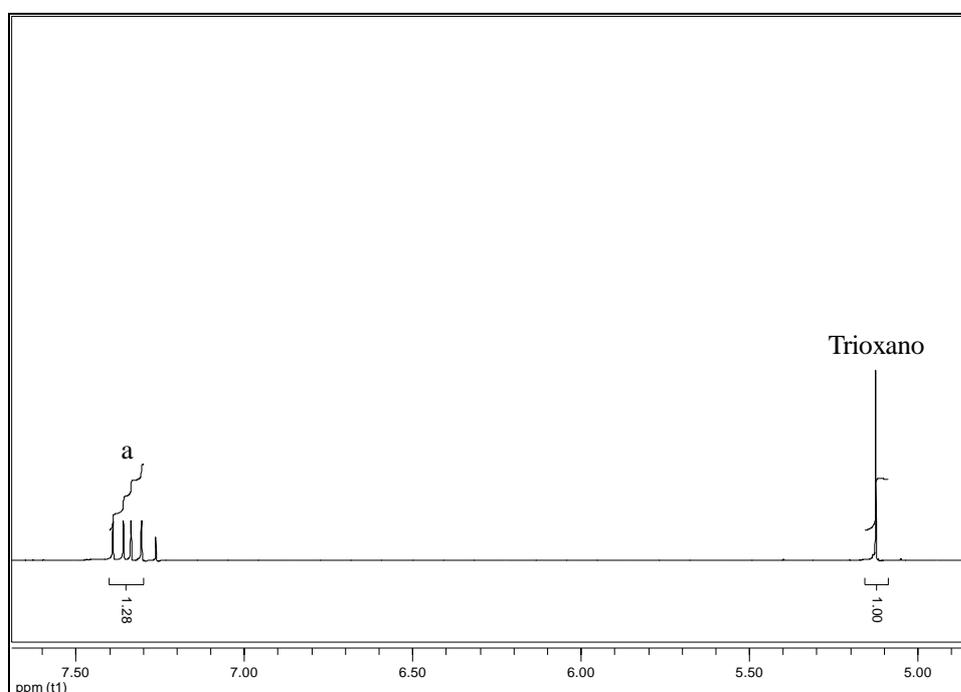


Figura I - 1 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano no tempo zero.

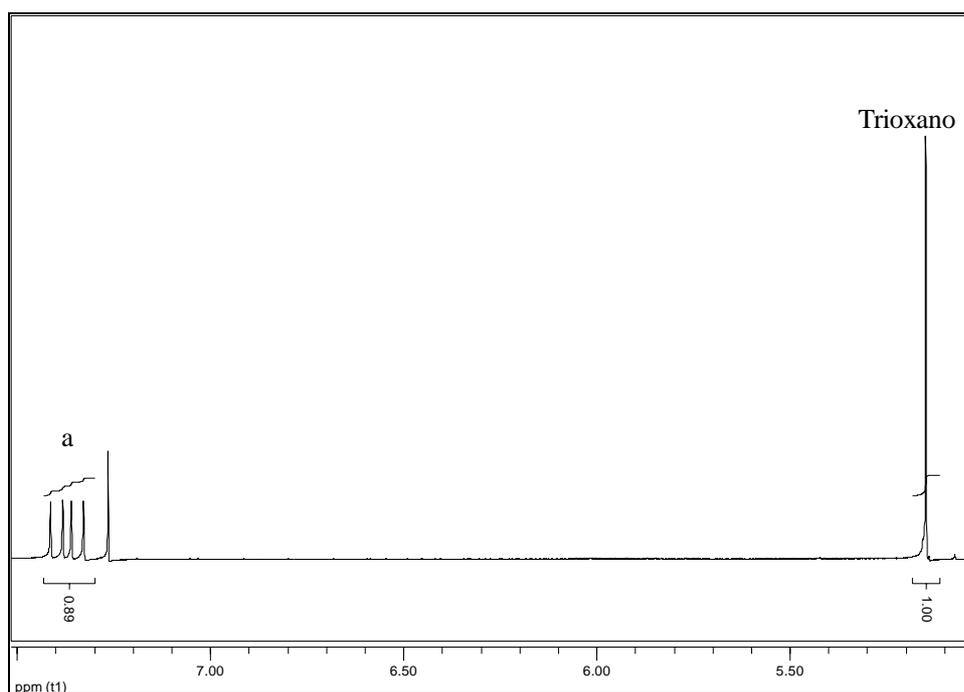


Figura I - 2 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 15 minutos de reação.

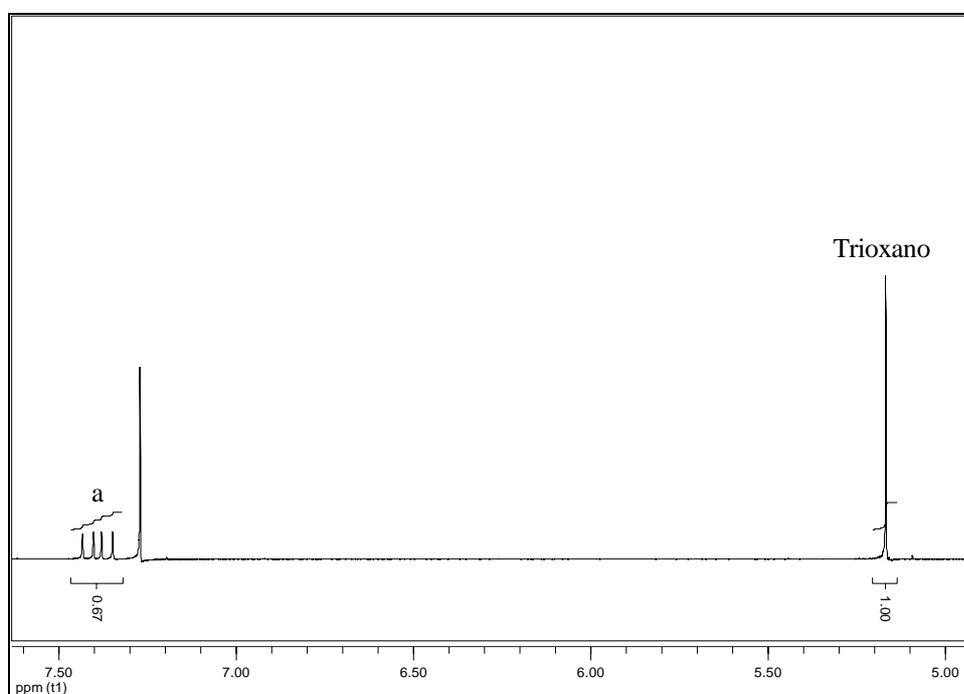


Figura I - 3 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 30 minutos de reação.

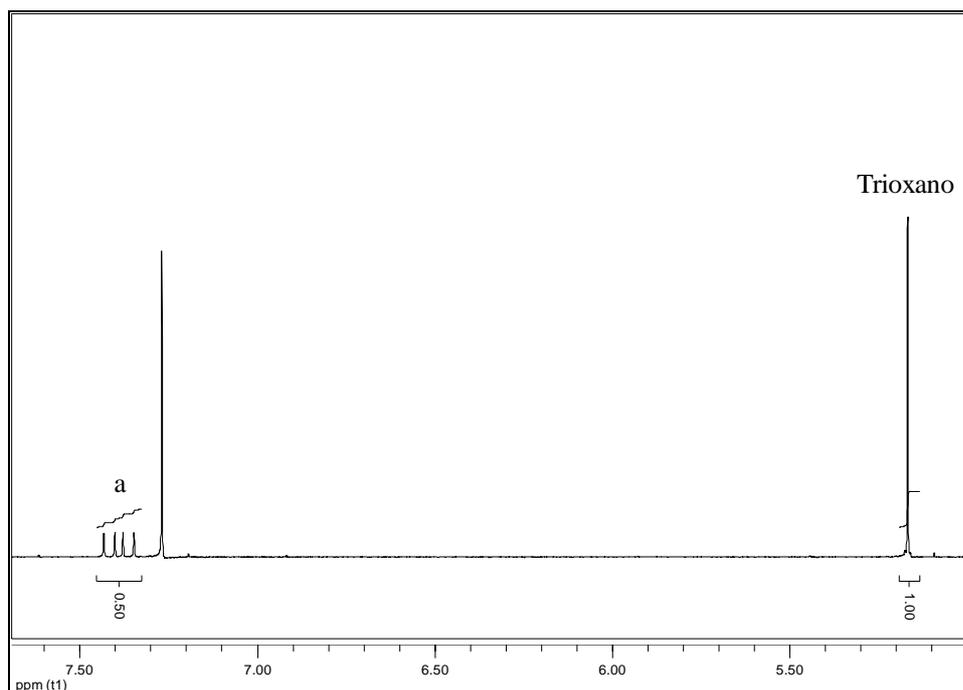


Figura I - 4 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 45 minutos de reação.

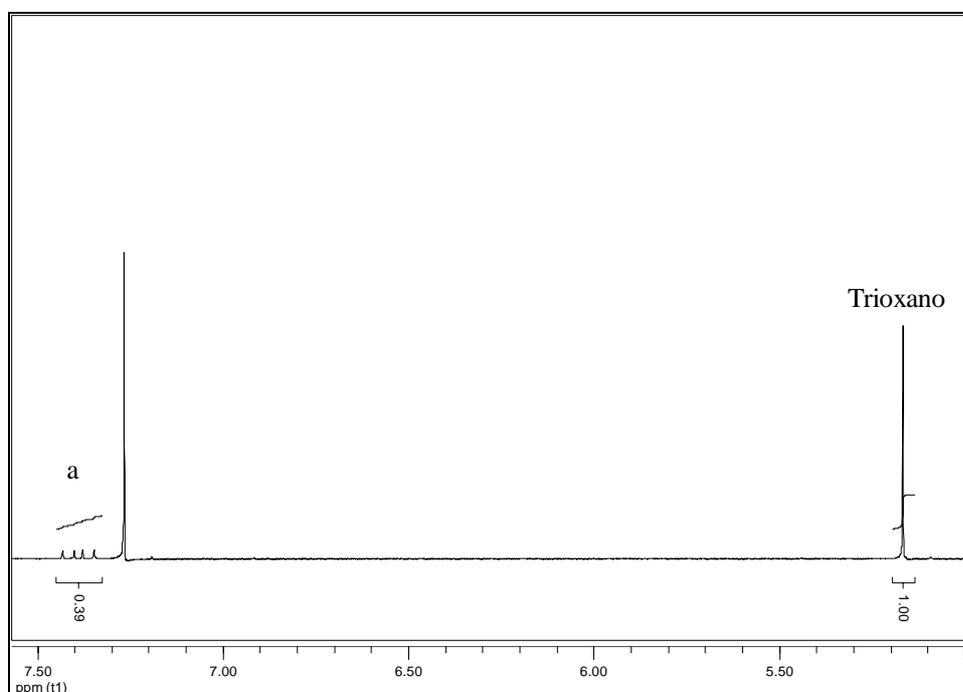


Figura I - 5 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 60 minutos de reação.

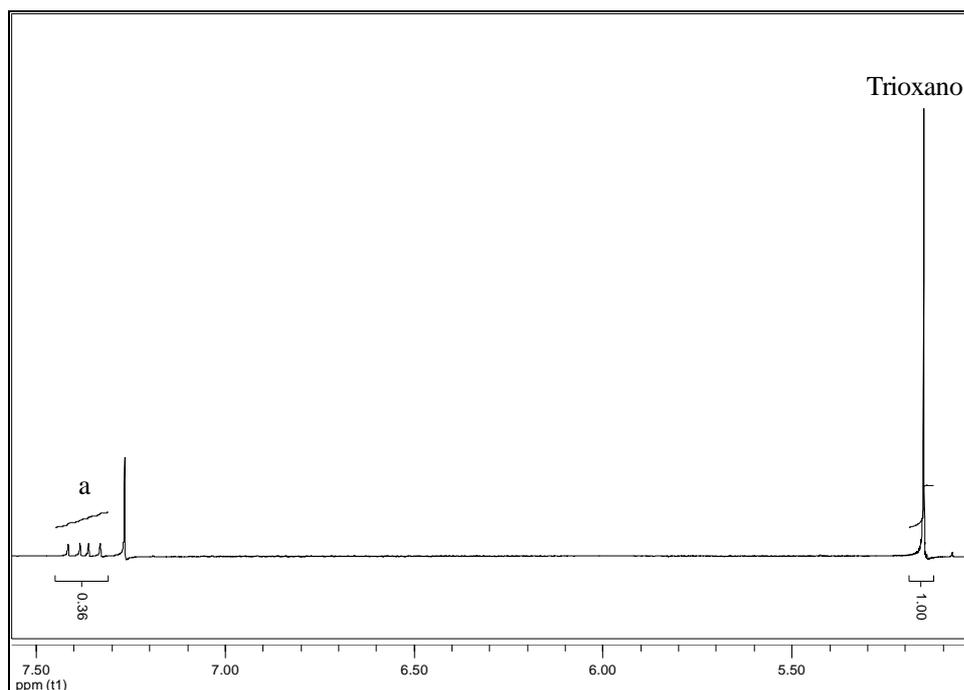


Figura I - 6 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 75 minutos de reação.

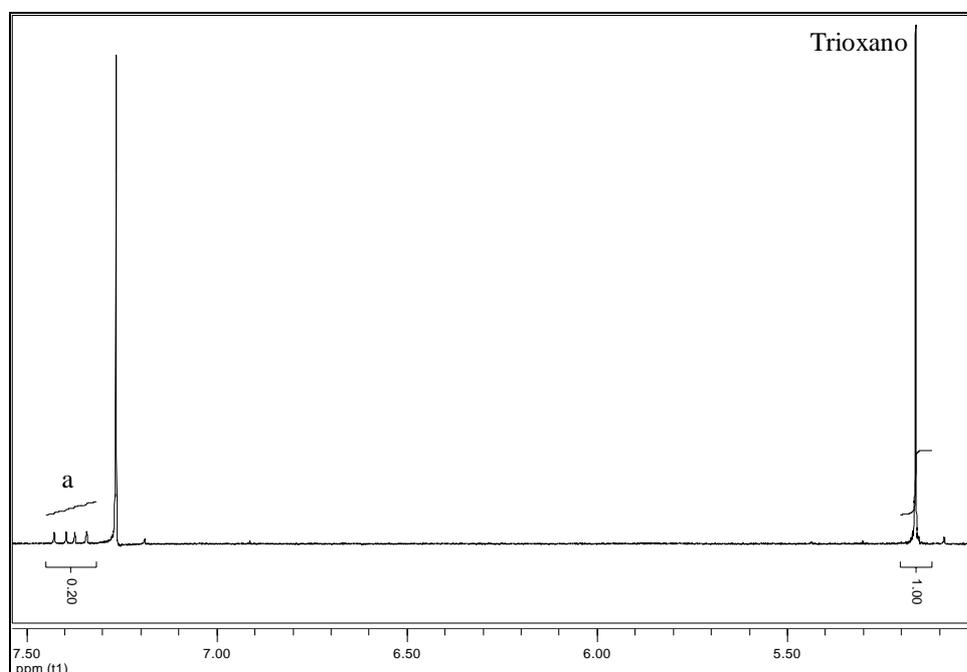


Figura I - 7 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 105 minutos de reação.

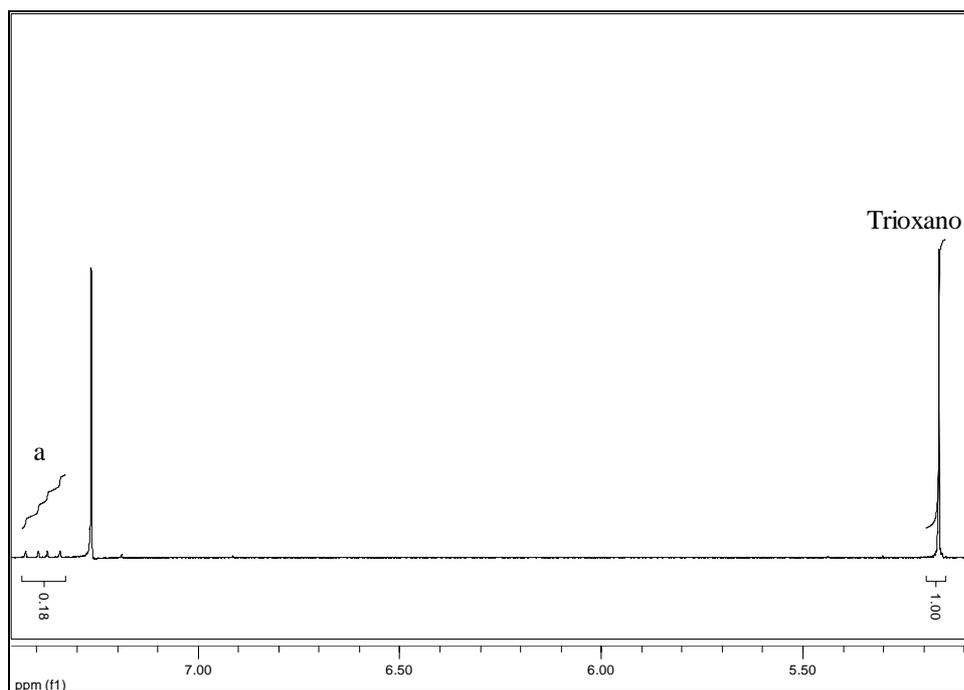


Figura I - 8 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 120 minutos de reação.

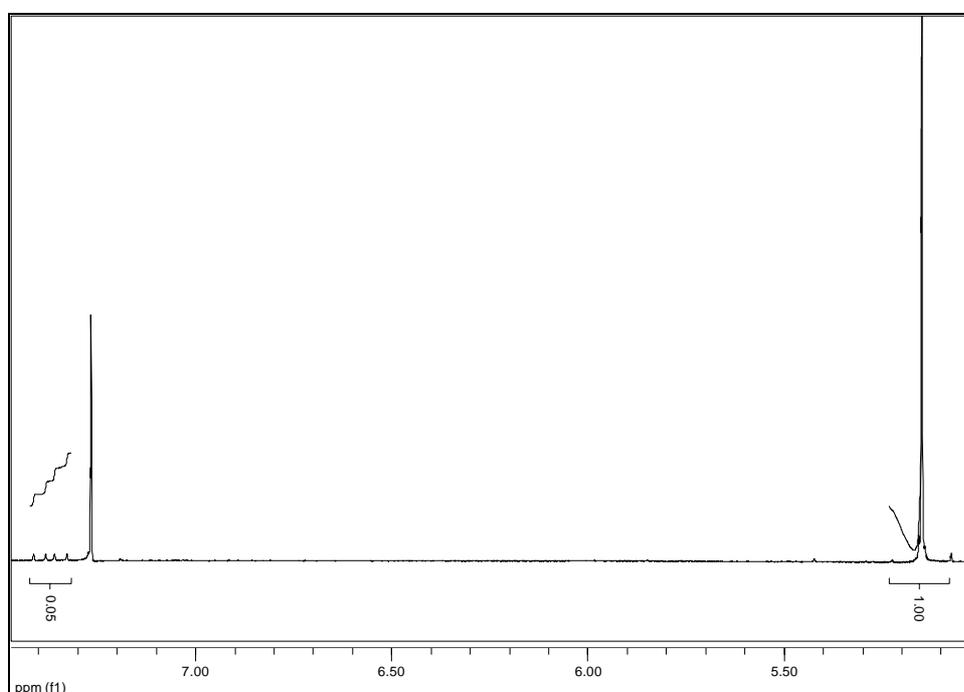


Figura I - 9 Estudo Cinético da polimerização da NVCL. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 240 minutos de reação.

Anexo II

II. Anexo II - Estudo da cinética da homopolimerização do AA.

As figuras 1 a 5, a seguir, apresentam os espectros de RMN ^1H dos picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano durante a reação de polimerização do AA, a partir das amostras retiradas no tempo zero (Figura 1) e em tempos regulares durante a reação (Figuras 2 a 5), utilizados para a realização do estudo da cinética da homopolimerização.

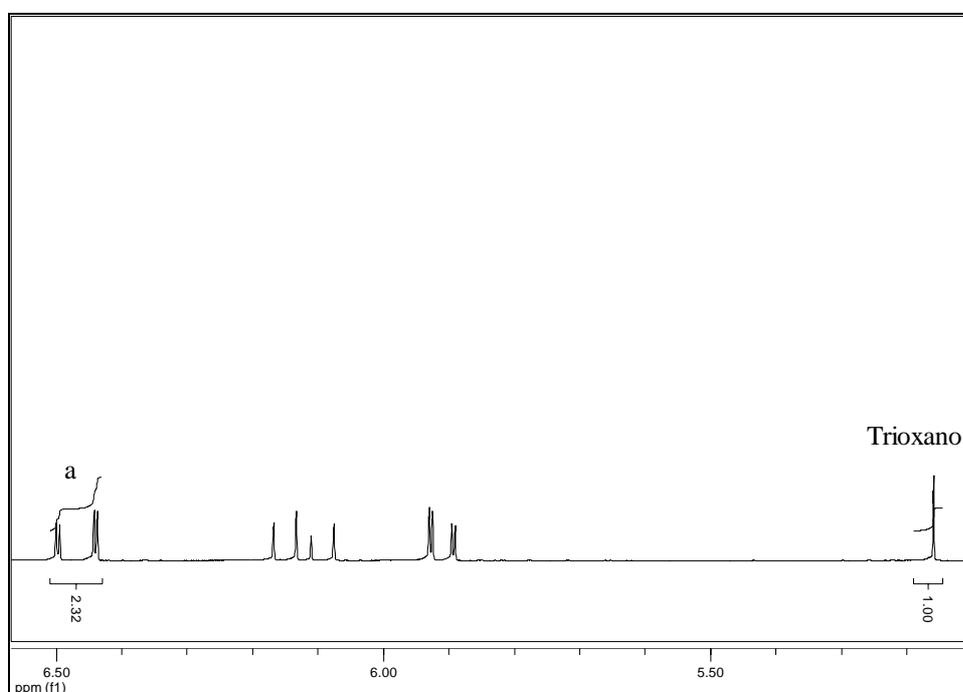


Figura II - 1 Estudo Cinético da polimerização do AA. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano no tempo zero.

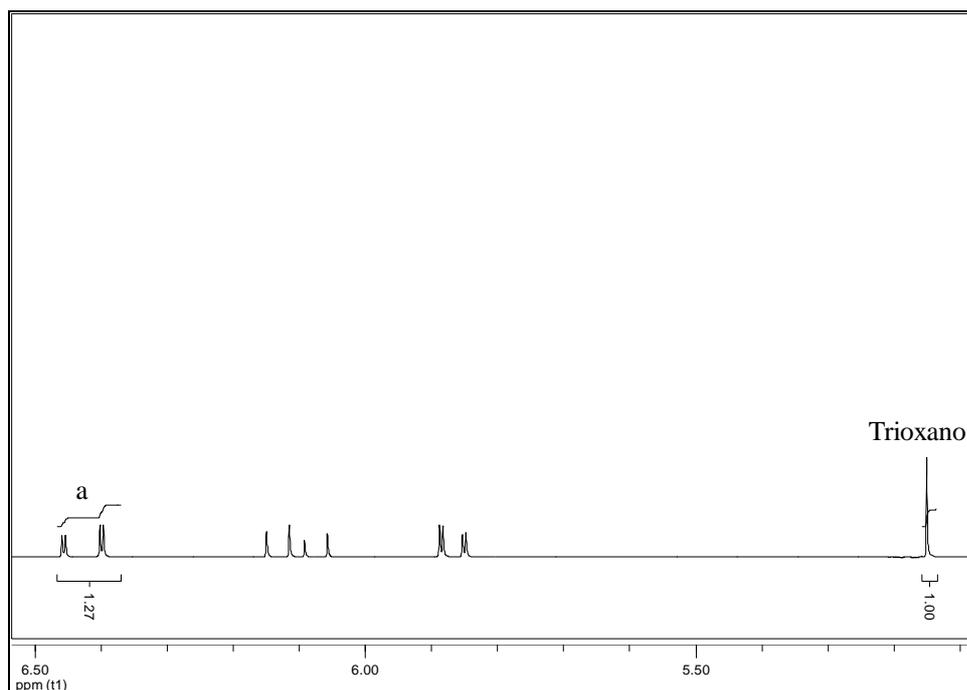


Figura II - 2 Estudo Cinético da polimerização do AA. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 30 minutos de reação.

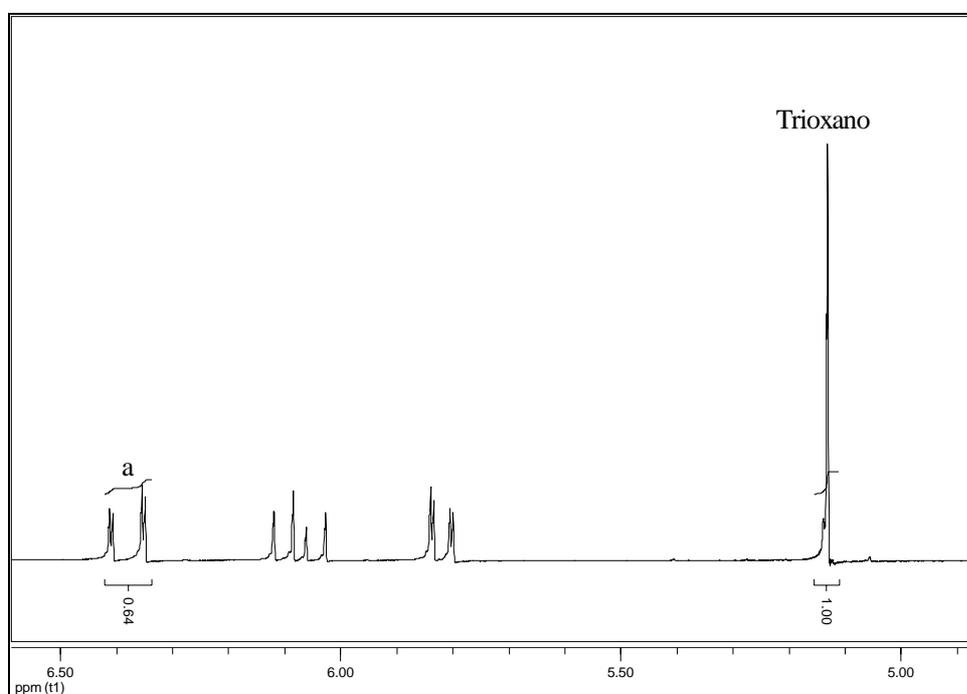


Figura II - 3 Estudo Cinético da polimerização do AA. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 60 minutos de reação.

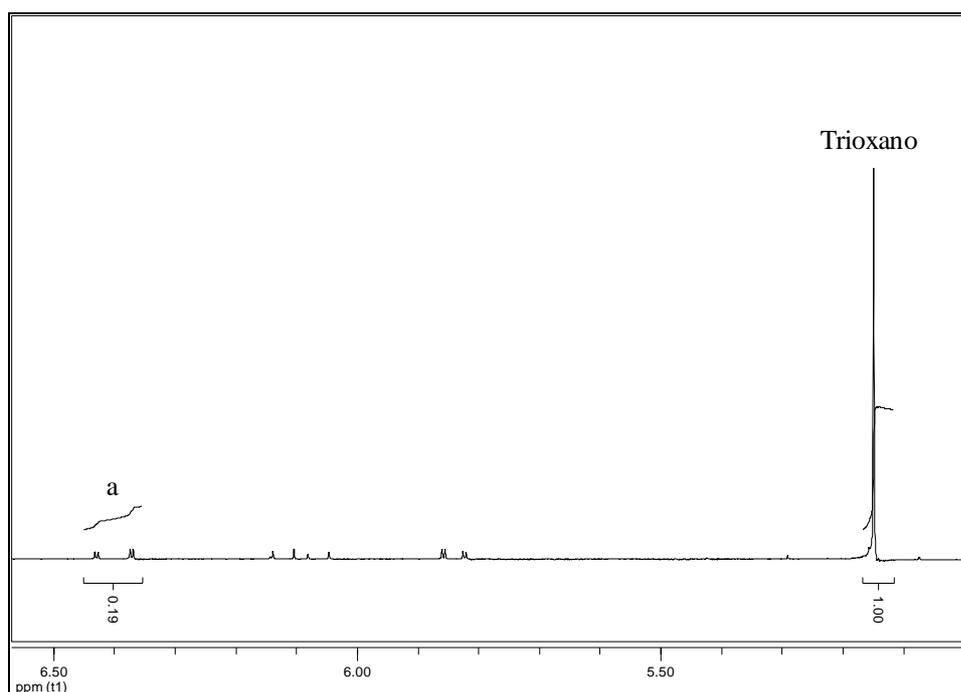


Figura II - 4 Estudo Cinético da polimerização do AA. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 120 minutos de reação.

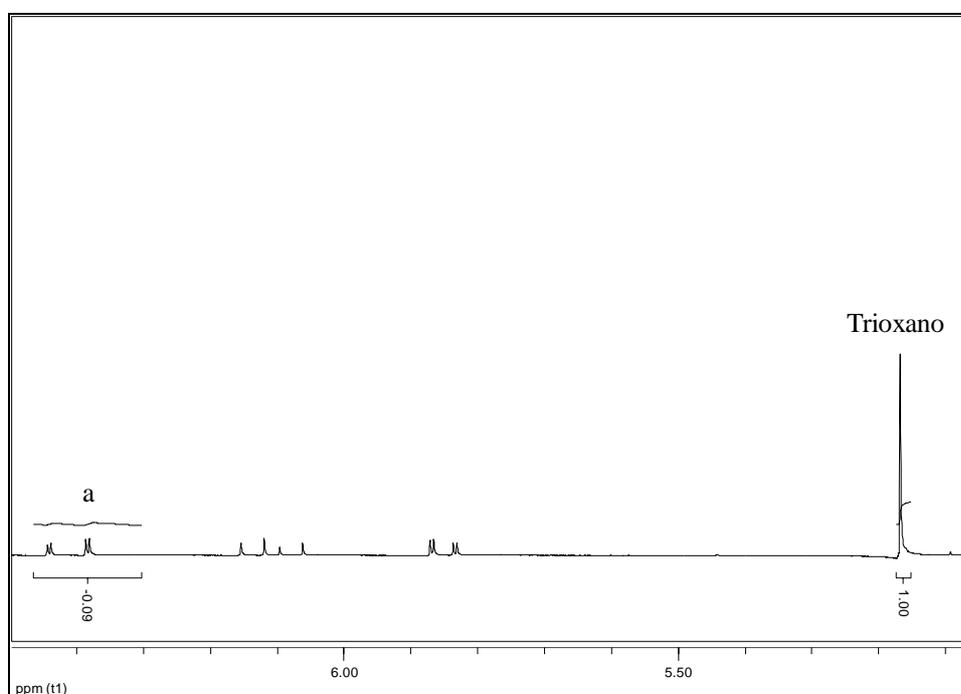


Figura II - 5 Estudo Cinético da polimerização do AA. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 300 minutos de reação.

Anexo III

III. Anexo III - Estudo da cinética da copolimerização da NVCL e AA.

As figuras 1 a 7, a seguir, apresentam os espectros de RMN ^1H dos picos referentes aos prótons da dupla ligação dos monômeros e do Trioxano durante a reação de copolimerização da NVCL e AA, a partir das amostras retiradas no tempo zero (Figura 1) e em tempos regulares durante a reação (Figuras 2 a 7), utilizados para a realização do estudo da cinética da copolimerização.

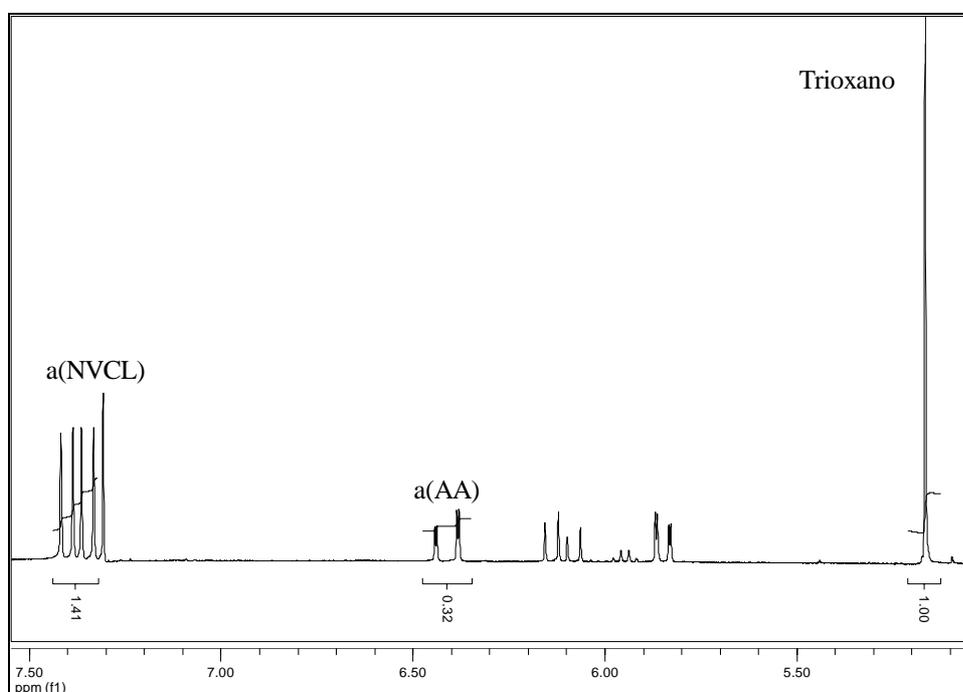


Figura III - 1 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ^1H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação dos monômeros e do Trioxano no tempo zero.

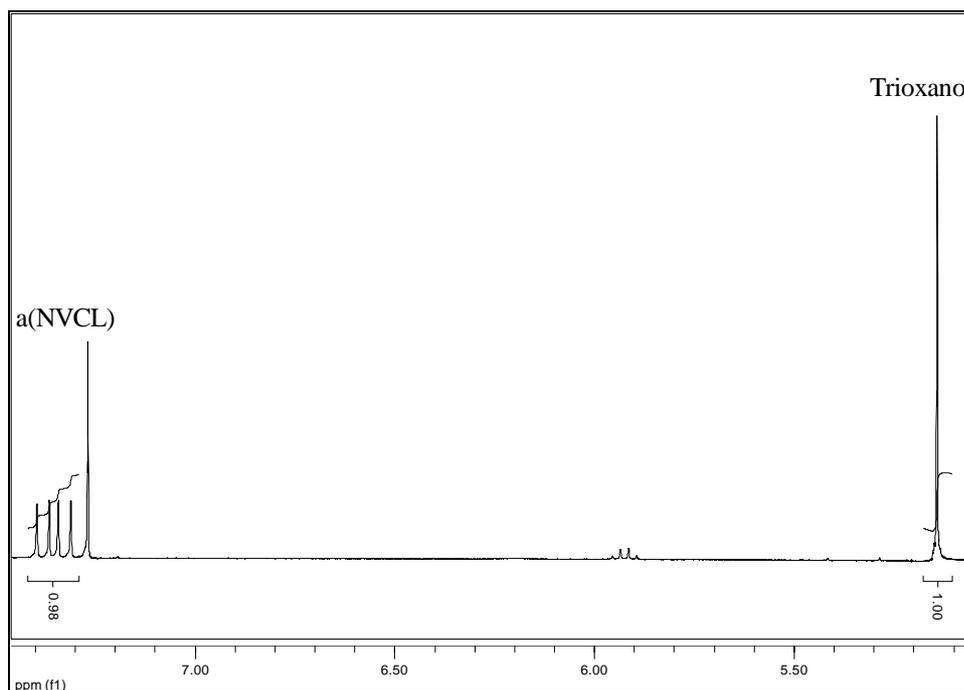


Figura III - 2 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 15 minutos de reação.

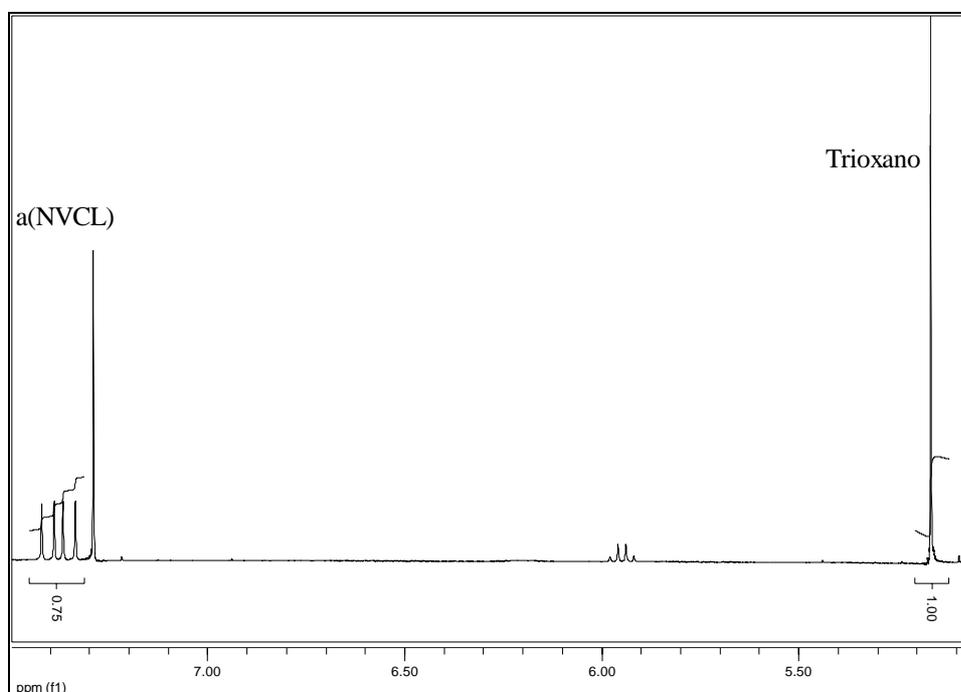


Figura III - 3 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 30 minutos de reação.

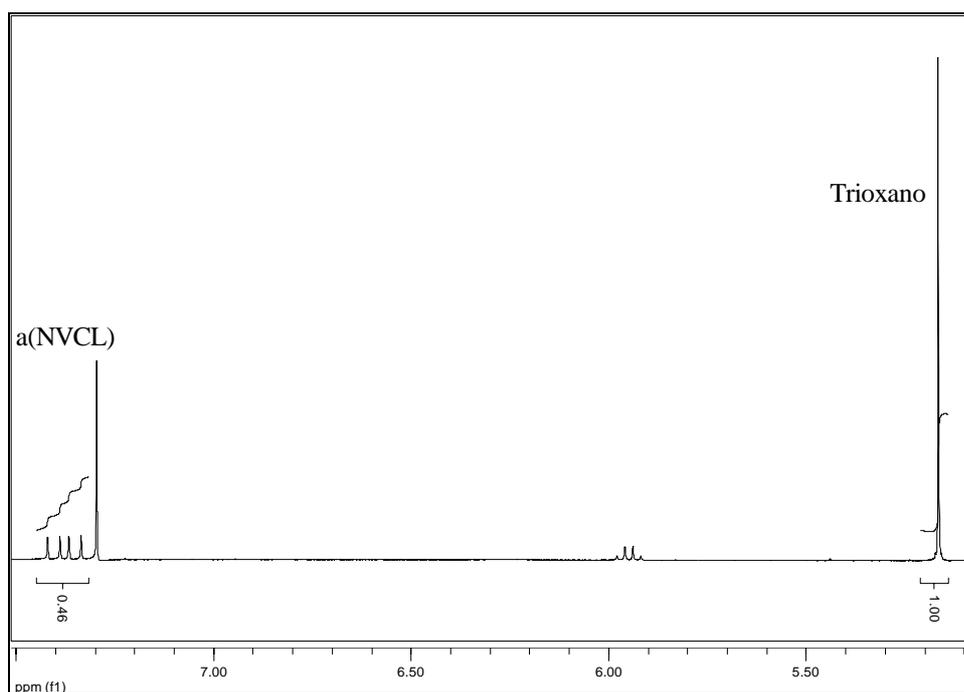


Figura III - 4 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 60 minutos de reação.

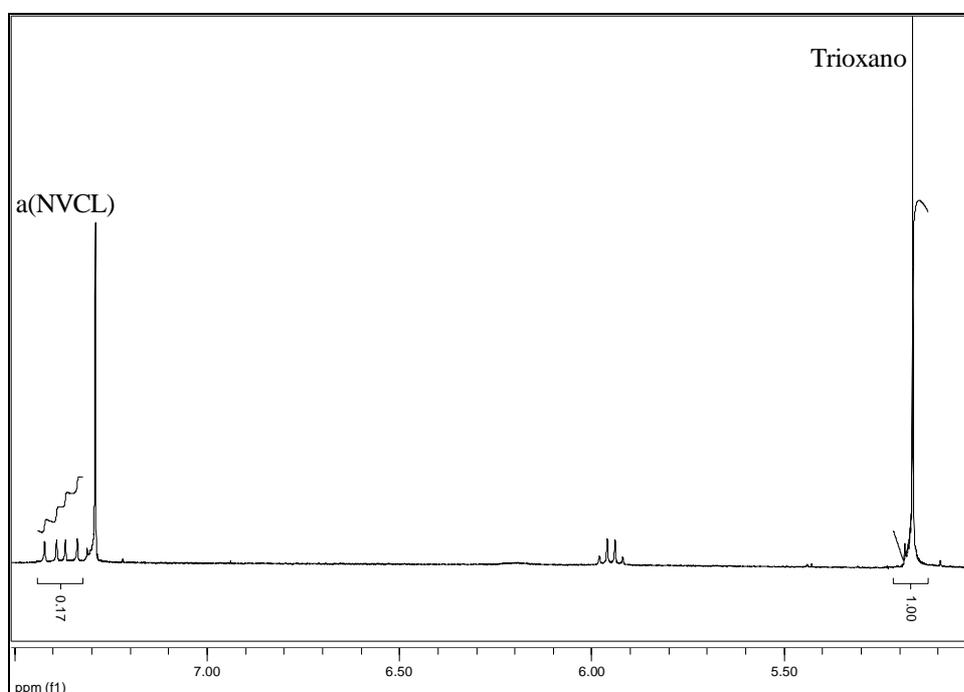


Figura III - 5 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 120 minutos de reação.

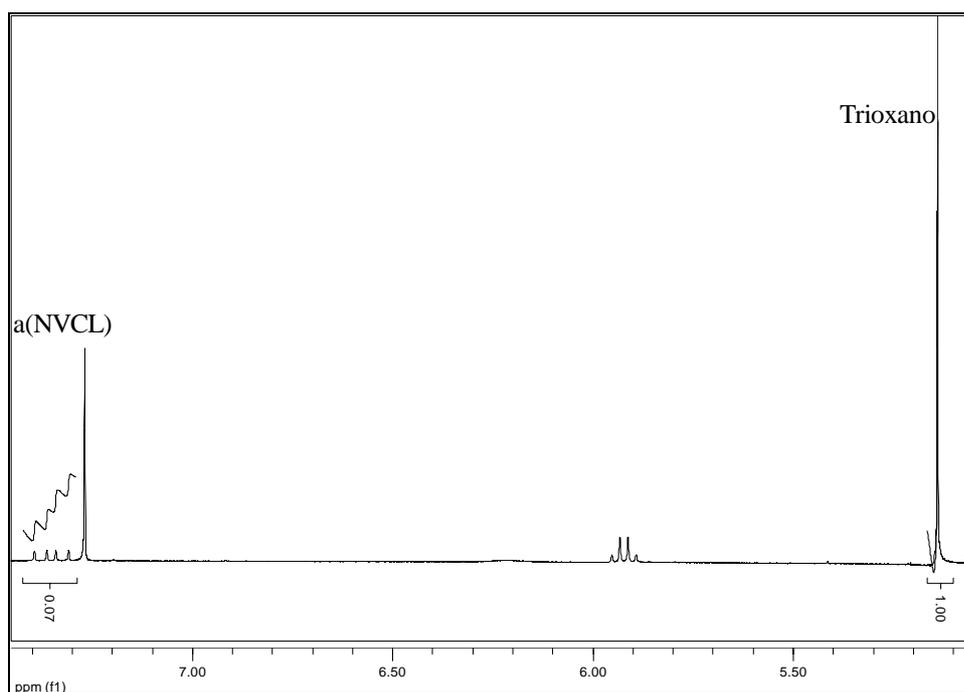


Figura III - 6 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 240 minutos de reação.

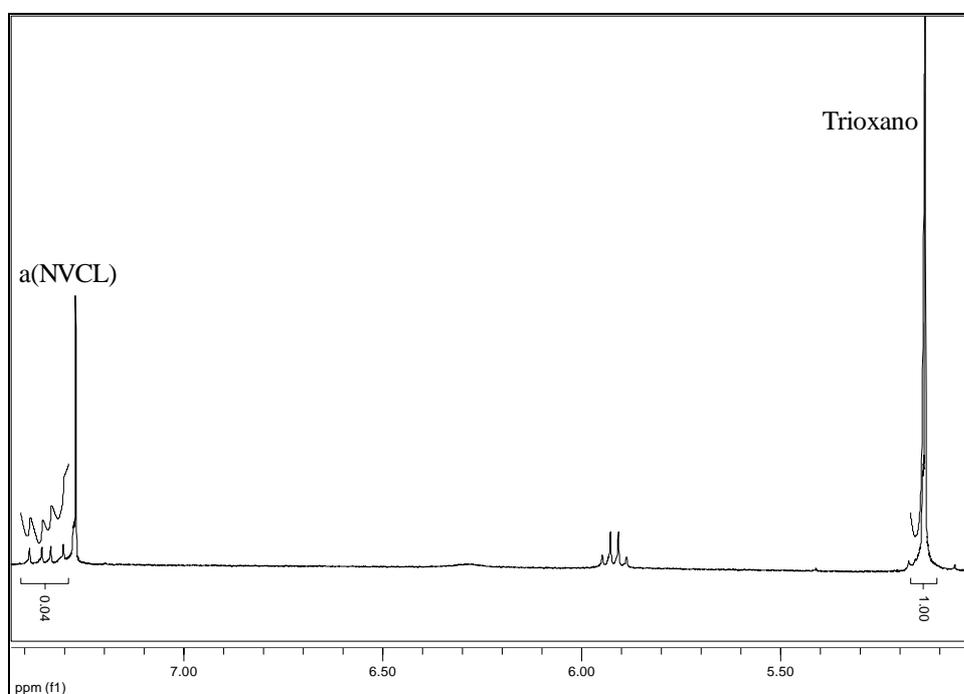


Figura III - 7 Estudo Cinético da copolimerização de NVCL e AA. Espectro de RMN ¹H mostrando os picos referentes aos prótons da dupla ligação do monômero e do Trioxano após 300 minutos de reação.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)